

201423029A

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26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 満屋 裕明

平成27(2015)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	19
満屋 裕明	
2. PK/PDの解析と毒性評価に関する研究	24
小田切 優樹	
3. 臨床試験データマネージメント	39
田中 康博	
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	42
榎本 信幸	
5. HBVの逆転写酵素の阻害作用を有するヌクレオシドの設計と合成に 関する研究	45
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	55
児玉 栄一	
7. 新規抗HBV薬の1次・2次評価に関する研究	60
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～	63
伊藤 俊之	
9. 創薬化合物の新規性についての研究・解析及び前臨床試験移行 諸条件の検討・解析及びマーケットリサーチに関する研究	67
助永 義和	
10. 肝炎ウイルスのポリメラーゼの結晶構造解析	68
尾曲 克己	
11. HBV逆転写酵素の構造学的研究	72
安武 義晃	
12. 核酸アナログの合成	78
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	82
青木 学	
14. HBVの逆転写酵素の阻害作用を有するヌクレオシドの 設計と合成に関する研究	85
向後 悟	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	89
IV. 研究成果の刊行物・別刷	93

I . 総括研究報告

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
総括研究報告書

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：我が国においてB型肝炎ウイルス（HBV）による慢性B型肝炎の治療法の確立は急務であり、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（NRTI）であるentecavir（ETV）等より強力、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新規薬剤のデザイン・合成・同定から臨床開発へと進めようとするものである。本年度までに新規に合成した化合物を含む100以上の薬剤活性の測定を終了、その結果、ほぼ半数の化合物がHIV、HBVもしくはその両方に対して活性を持つことが分かった。その中で、我々が同定・開発に成功、米国メルク社に導出して臨床開発途上にある、次世代型抗HIV逆転写酵素阻害剤：EFdAの構造を改変した新規のRT阻害剤：CAAdAおよびCdGはHBVに対してETVと同等の活性（IC₅₀: 0.4 nM）を有するとともにHIVに対してもIC₅₀: 0.4 nMと強力な活性を維持していた。その他にも4'位にアジド基を有する新規ヌクレオシド等、今後、最適化（optimization）の価値があると考えられる複数のリード化合物が見出すことに成功した。これらの有望な薬物については細胞毒性、ミトコンドリア障害の評価なども随時、平行して評価するシステムの構築を完了している。特にマウスモデルに関しては肝障害などの毒性評価や薬物動態のみならず、薬剤耐性HBVに対する活性を評価する上でも重要となるが、本研究班では既に薬剤耐性HBV感染キメラマウスの作成を終え、CAAdAおよびCdGが感染マウスモデルでもETV耐性HBVに対して良好な活性を持つことを明らかにした（投稿中）。一方で、より強力な薬剤の設計にはHBV-RTの結晶構造などの構造学的データが不可欠であるが、これまではタンパク質が不溶性画分に移行し結晶化が困難であった。本年度はHIV-RTにHBV-RT型変異を導入した変異体の結晶化、あるいは今までとは異なる発現系を用いた可溶性タンパクの精製などの研究に進展が見られた。更に有望な薬物については小動物を用い、新規化合物の薬物動態特性をLC-MS/MS等を駆使し詳細に明らかにすると同時に、臨床試験実施体制・実施支援体制や臨床試験データマネージメントの確立・整備を行い、前臨床試験・臨床試験へ向けたシステムの構築も進めた。以上の様に、本年度は薬剤耐性HBVに対しても強力な活性を有する薬剤の同定、それらの前臨床試験へ向けた各種評価系を駆使した実験データの集積で大きな進展が見られた。これらの成果が日本発の新規薬剤の開発・臨床応用に繋がれば、HBV感染症の診療領域にもたらされるインパクトは極めて高いと期待される

研究分担者

小田切 優樹・崇城大学薬学部・教授
田中 康博・国立国際医療研究センター・
臨床研究センター・データセン
ター長
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・日本薬科大学薬学部・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
助永 義和・国立国際医療研究センター・
臨床研究センター・知財開発室
長
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・准教授
青木 学・熊本保健科学大学・講師

研究協力者

向後 悟・国立国際医療研究センター・臨
床研究センター・特任研究員

A. 研究目的

全世界で B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染者は推定 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) に加えて 2014 年よりテノフォビル

の計 4 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の出現、治療効果の減弱の可能性と共に、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。

HBV と同じく慢性肝炎、肝硬変の原因となる C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) においては、近年、その治療法に大きな進展が見られた。従来のインターフェロンを中心とした治療法ではウイルスの血清型によりその治療効果に大きな差が見られたが、レプリコンアッセイ法の確立により、テラプレビル、ソフォスブビルなどの直接作用型抗ウイルス薬が開発、臨床応用され、インターフェロンを含まない治療法でも高い著効率をもたらすことに成功している。human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) 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、1987 年に初めて AZT が臨床に導入されて以来、5 つのクラス、計 20 種類を優に越える薬剤がこれまでに開発されている。

その一方で、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 2.2.15 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的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、向後)

本年度は以下に示すテーマに従い各種の化合物の合成を行った。

- 1) 3'-ハロゲン置換型 BCA の合成 (原口)、
- 2) 7'-フルオロエンテカビル (7'-F-ENT) (原

口)、3) 4'-アジド-2'-デオキシ-4'-チオヌクレオシド (原口)、4) 二重結合を有するアシクロ型核酸誘導体の合成 (井本)、5) 4'位にアジド基を有するヌクレオシドの合成 (井本)、6) 4'-置換-2'-デオキシプリンヌクレオシド誘導体の合成 (向後)、7) 4'-置換-2'-デオキシピリミジンヌクレオシド誘導体の合成 (向後)、8) 炭素環ヌクレオシド誘導体の合成 (向後)

2. 新規化合物の抗 HBV 活性、抗 HIV-1 活性、細胞毒性の評価および測定系の改善、新規測定系の開発検討

(満屋、田中靖人、児玉、青木)

- 1) *In vitro* における新規化合物の抗 HBV 活性の評価：96-well plate にて新規化合物を 10%FCS+ DMEM の培地にて 1 μ M から段階希釈、HBV を持続的に産生する HepG2 2.2.15.7 細胞もしくは HepG2 2.2.15 細胞を 4×10^3 個ずつ 96 穴プレートに播き、day3 で化合物を含む液体培地と上清を交換、day7 で各 well の培養上清をそれぞれ回収し、viral DNA を QIAGEN 社の抽出キット及びキアキューブにて抽出した後、real time PCR 法 (Primerdesign 社の qPCR detection kit および ABi 社の 7500 Fast を使用) にて細胞内および上清中の DNA 量の定量を行い、IC₅₀ 値を算出した。
- 2) 化合物の細胞毒性の検討：細胞はヒト CD4⁺T 細胞である MT2 細胞もしくは MT4 を用い、MTT assay にて評価を行なった。化合物非存在下で培養した細胞数と比較し CC₅₀ 値を算出した。
- 3) *In vitro* における新規化合物の抗 HIV-1 活性の評価：逆転写酵素阻害剤の一部は HIV にも活性を有する事が知られているため、本研究で合成・評価される化合物は

抗 HBV 活性と平行して抗 HIV 活性の評価も行った。MT2 細胞もしくは MT4 細胞と実験室野生 HIV-1 株である HIV-1_{LAI} もしくは HIV-1_{NL4-3} を用い、MTT assay にて評価を行なった。化合物非存在下で培養した細胞のウェルをコントロールとし、IC₅₀ 値を算出した。

4) *In vitro* における新規化合物の entecavir (ETV) 耐性 HBV に対する活性の評価：スクリーニングにおいて強力な抗 HBV 活性を認めた化合物について、1.24 倍長 HBV 複製モデルの野生株と ETV 耐性株 (genotype Ce 由来: HBV_{ETV-R}^{L180M/S202G/M204V}) をトランスフェクトした HuH-7 細胞に化合物を添加し、細胞内のウイルス複製に与える影響を Southern blotting で確認した。

5) 細胞内リン酸化効率や HBV 受容体発現を向上させた細胞を用いた新規スクリーニング法の開発：細胞内での化合物のリン酸化効率を改善するために、HepG2 2.2.15.7 細胞にヘルペスウイルスリン酸化酵素 (herpes simplex virus type 1 thymidine kinase: HSV-TK) を導入した。これにより 1 リン酸化されないと効果を示さないテノフォビルのような薬剤であってもリン酸化体を合成することなく活性の検討が可能であり、スクリーニングにおけるヒット薬剤の検出向上が期待できる。また最近 HBV の受容体として報告された NTCP を強制発現させた細胞株の樹立も行った。

3. 野生株および薬剤耐性 HBV 感染キメラマウスの作製とキメラマウスを用いた抗 HBV 活性等の評価 (田中靖人)

1.24 倍長 HBV 複製モデルの野生株 (genotype Ce) および ETV 耐性変異株

(HBV_{ETV-R}^{L180M/S202G/M204V}) を含む各種の薬剤耐性 HBV を感染させたキメラマウスの系の作成を昨年度までに完了しており、本年度はこれらを用いて複数の候補薬に対するアッセイを行った。EFdA 類似体である CAdA, CdG を始め、新たに合成された核酸アナログ候補化合物のマウスモデルでの活性評価、および肝障害の有無の検討を行った。

4. HBV 逆転写酵素の構造生物学的解析 (尾曲、安武)

1) 昨年度までに昆虫細胞発現系と小麦無細胞蛋白質発現系の基礎的検討を行い、本年度は小麦無細胞蛋白質発現系を利用して結晶解析に供することのできる蛋白発現系への改良を行った。小麦無細胞蛋白質発現系では GST と His タグを付加したベクターに RT 領域全長、RT の N 末端と C 末端を切断したもの (RT Δ NC) を導入し、目的タンパク質の発現を確認した。

2) 断片化した HBV pol をグアニジン塩酸塩や尿素で完全に変性溶解させたのち、正しい構造へとリフォールディングできるかの条件検討や、ヒト HBV pol および Duck HBV pol 以外の HBV pol (アミノ酸相同性 26-86%) の発現テストなども行った。

3) HIV-1-RT は可溶性で安定して取得でき、結晶構造解析の実績もある。HIV-1-RT と HBV pol のポリメラーゼ活性部位は類似していると考えられるため、HIV-1-RT の活性部位近傍に HBV pol 型変異を導入することで、間接的に HBV pol の活性部位ポケットの構造情報を得るための実験も行った。

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、榎本、田中康博)

1) 薬物の体内動態解析: 定量用質量分析計 Xevo G2 TOF システム (Waters) を用い、B 型肝炎治療薬として新規に合成された 4'-置換核酸誘導体の解析を行った。

2) 本プロジェクトにおいて開発予定の新規抗 HBV 治療薬候補を用いた臨床試験実施体制並びに実施支援体制の確立・整備: リード化合物獲得後の前臨床試験並びに第 I/II a 相臨床試験などの臨床開発の円滑な実施に備えるため、臨床試験プロトコール作成支援体制の確立、多施設共同試験実施体制の構築並びに Phase I 実施体制の整備を行なった。

3) 臨床試験データマネジメント: 最近国内では臨床試験などに関わるデータの捏造や改竄の問題が報告されており、その中で利益相反の管理や臨床試験のデータの品質管理の在り方が問題とされている。本研究班ではデータマネジメント業務の標準化のために、Standard Operating Procedure やマニュアルの整備を行った。また品質管理体制の強化のために、品質保証部門の設置等を行った。

4) HBV 治療の現状と HBV 変異体の動態解析: HBV 治療の現状とその予後についての情報収集と解析を行うことにより、新規薬剤の治療対象・治療目標を明らかとし、一方で大量に存在する臨床情報とリンクした血液検体を用いた HBV ゲノムを次世代シーケンサーにて解析することにより HBV 変異体の臨床的意義や新規薬剤に対する HBV 変異体の動態解析を行った。

6. 創薬化合物の新規性についての検討(助永)

新規性調査については、アメリカ化学会の CAS が提供する電子情報サービス SciFinder 解析ソフトを使用して、構造より検索を行う。特許出願の条件検討については医薬品候補として特許出願に選定する方法として、探索的 ADMET を疾患標的分子・リード化合物に合わせた選択法で行う。核酸アナログは宿主・ミトコンドリアポリメラーゼとの選択性 (基質レジスタント) を優先する。

(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) 本研究では、まず抗 HIV 活性と抗 HBV 活性の両方を高感度で検出するアッセイ系を確立、この系を用いて既存の抗 HIV/抗 HBV 逆転写酵素阻害剤の活性を検討した。その結果、lamivudine (3TC)、tenofovir (TDF) など両方に適応のある薬剤は当然 HIV と HBV の両方で活性を認めたが、その一方で B 型慢性肝炎にのみ適応のある

ETV でもわずかながら HIV に関して活性を有することが分かった。

次に我々が有する、あるいは前項 (B. 研究方法) に示した新規に合成した 100 以上の薬剤の活性を測定した。その結果、8 化合物が HIV に対して、13 種類が HBV に対して活性を有していたのに加えて、29 種類の薬剤が HIV と HBV の両方に活性を持つことが分かった。その中で、我々が同定して初期開発に成功、米国メルク社に導出して臨床開発途上にある、次世代型抗 HIV 逆転写酵素阻害剤 4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) については非常に強力な抗 HIV 活性 (IC_{50} : 0.3 nM) に対し、その抗 HBV 活性は軽微 (IC_{50} : 200 nM) であることが分かった。

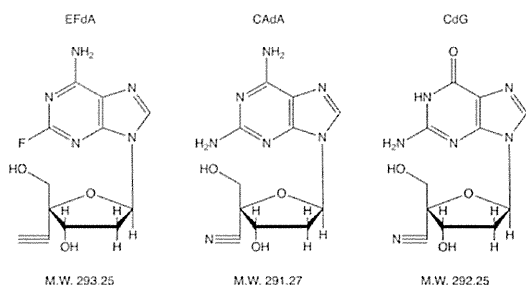


図1. EFdA と新規抗HBV薬の構造

以上の結果から、HIV の RT の活性部位の構造はHBVのRTの構造とかなり異なることが推察されたが、その一方で、非常に優秀な HIV-RT に対する阻害剤である EFdA の構造を改変し、そのプロファイルを変えることにより、その優れた薬物動態などのプロファイルは維持しながら、抗 HBV 活性を増強させることが可能ではないか、という着想を得た。そしてこの仮定の元に、我々は EFdA と共通の基本骨格を有しながらその 4' 位の側鎖などを置換した各種の

類似体についてより詳細な検討を行い、EFdA の類似体であるが、その 4' 位の構造が異なる (シアノ基) 化合物: CAAdA (4'-cyano-2-amino- 2'-deoxyadenosine)、および CdG (4'-cyano- 2'-deoxyguanosine) を同定した。これらの化合物は親化合物である EFdA と同等の抗 HIV 活性 (IC_{50} : 0.4 nM) を維持しながら、その抗 HBV 活性は極めて強力になり、 IC_{50} 値で ETV と同等 (IC_{50} : 0.4 nM) の活性を有することが明らかとなった。さらに本化合物は ETV 耐性 HBV 株 ($HBV_{ETV-R}^{L180M/S202G/M204V}$) に対しても強力な抗 HBV 活性を発揮することが明らかとなった。

その他、二重結合を有するアシクロ型核酸誘導体および、4'位にアジド基を有する新規ヌクレオシド 11 種類については、抗 HBV 活性が IC_{50} 値が 0.04 から $>1 \mu M$ (ETV は $0.00038 \mu M$)、抗 HIV-1 活性は 0.079 から $>1 \mu M$ (AZT は $0.033 \mu M$)、細胞毒性は 39 から $100 \mu M$ 以上であった。本検討において ETV および AZT はそれぞれ標的とするウイルスにのみ活性が見られたが、活性を検討した化合物の中には両ウイルスに対して活性を有するものが見られた。

一部の逆転写酵素阻害剤ではミトコンドリア障害に伴う乳酸アシドーシス、肝機能障害、ミオパチーなどきわめて重篤な副作用をきたす事が報告されているため、本プロジェクトでは良好な活性を持つ候補薬に関してはすべて、*in vitro* での細胞毒性の評価に加えて real-time PCR 法を用いたミトコンドリア障害の評価を平行して行った。その結果、ミトコンドリア障害を来すことで知られている ddC では $100 \mu M$ まです細胞毒性は認められないにも関わらず、

1 μM の濃度でミトコンドリア DNA の合成阻害が認められたのに対し、CA_δA や CdG では細胞毒性 (CC₅₀ 値) とミトコンドリア阻害能に明らかな解離を認めず、ミトコンドリア特異的な毒性を有さないことが示唆された。

2) 細胞内リン酸化効率や HBV 受容体 (NTCP) 発現を向上させた細胞を用いた新規スクリーニング法の開発について、NTCP 発現ベクターを MT-2 細胞および複数の細胞株に遺伝子導入し G418 でセレクションした。最初に樹立できた MT-2/NTCP 細胞を用いて HBV 感染実験を行い感染が成立していることが確認された。現在、より感染効率の高いウイルスを用いて高い感染効率を得る試みを進めている。今後はここで得られた感染系をスクリーニングに応用することを計画している。

2. 野生株および薬剤耐性 HBV 感染キメラマウスの作製とキメラマウスを用いた抗 HBV 活性の評価およびマウスモデルでの薬物毒性の評価

1) HBV 感染ヒト肝細胞移植キメラマウスへ各薬剤を 2 週間経口投与した。ETV は ETV 耐性 HBV に対して血清ウイルスの抑制を示さなかったが、CA_δA および CdG はウイルス血症を有意に減少させた。さらに 2 週間の CA_δA および CdG 投与は明らかな体重減少や血清ヒトアルブミン値の減少を起こさなかった (投稿中)。

2) 本年度に新規に合成された SK 14-276 は、Real-time PCR および Southern Blotting による解析で CA_δA や CdG に近い活性を有しながら *in vitro* での細胞毒性がより軽

減されていることが分かり、キメラマウスの系を用いた活性・毒性の検討を行った。

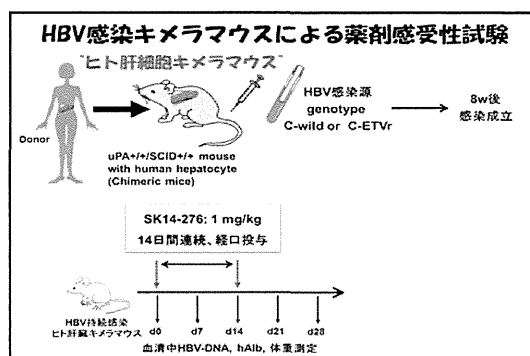


図2. マウスを用いた抗 HBV 活性の検討

HBV Genotype Ce 野生株と ETV 耐性株を感染させたキメラマウスに SK14-276 を 1 mg/kg/day で投与し、抗 HBV 作用を検討した。その結果、野生株感染群では血清中 HBV-DNA 量を抑制したものの、体重減少、ヒトアルブミン (hAlb) 量の低下、ALT 値の上昇がみられた。また、ETV 耐性株感染群についても同様であり、野生株、ETV 耐性株ともに、化合物投与から 14 日までに全個体が死亡した。以上の様に、*in vitro* では低い毒性が予想される場合にもマウスモデルでは異なる結果となる可能性があることが示唆された。原因は肝障害と考えられ、現在、キメラマウス由来の検体 (血液、肝臓) を用いて、化合物 SK14-276 による肝障害の要因を検討中である。

3. HBV 逆転写酵素の構造生物学的解析

1) 昨年度までの研究では小麦無細胞発現系にて蛋白質が 0.1-1mg/mL 以上発現できることが分かったものの、可溶性凝集体を形勢し、結晶構造解析に利用できなかった。本年度は発現条件の再検討を行い、可溶性蛋白質を大量に精製することに成功、NMR 解析の準備段階へと繋げた。また、哺乳類細胞発現系でも可溶性 HBV pol 蛋白質を得

ることができた。哺乳類細胞発現系から得た蛋白質は、HBV pol がもつプライミング活性を示していることが推測できた。現在、報告されている蛋白質は極端な不溶性蛋白質として得られており、今回小麦無細胞発現系および、哺乳類細胞発現で作製したHBV pol 蛋白質は構造解析に適した蛋白質であると考えている。今後これらの蛋白質を利用してHBV polの立体構造を明らかにする予定である。

2) HBV-RT の構造解析研究で重要な課題であるHBV polの不溶性の問題を解決するために全長および断片のリフォールディングを試みたが、いずれの断片でも正しく構造を形成して可溶性で取得することはできなかった。ヒトHBV polのホモログの発現テストを行ったが、ヒトHBV pol同様に非常に不溶性が高く、これはヒトHBV polだけではなく、広くHBV polに共通していると考えられる。安定した可溶性HBV polを取得するために、会合するホストファクターの探索、および溶解性向上変異体の取得に向けた進化工学的研究を今後計画している。一方、別のアプローチとしてHIV-1-RTの構造を用いたHBV pol活性部位構造の推定を行うため、HIV-1-RTにHBV pol型変異を導入した複数の変異体やキメラの設計および発現テストを行った。このうちの1つの変異体において酵素の取得および結晶構造解析に成功した。現在、座標の精密化中である。今後、さらに活性部位近傍をHBV pol型に徹底置換した変異体酵素を取得し、逆転写アッセイと共にHBV pol構造研究に役立てることができそうなものを選択、結晶化および構造決定を行う予定である。

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

1) 薬物の体内動態解析：今回、定量用質量分析計 Xevo G2 TOF システムにおける4'-置換核酸誘導体3種類の測定条件を設定することに成功した。さらに、そのうちの1種類については除タンパク条件を見出し、ラットにおける体内動態実験を行い、各速度論パラメータを算出した。今後は新規の候補化合物についても同様の体内動態実験を進める。

2) 臨床試験実施体制並びに実施支援体制の確立・整備：国立国際医療研究センター（NCGM）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、医師主導臨床治験、先進医療に加え、医師主導臨床研究などへのサポートを行っている。また多施設共同試験実施体制の構築のため、NCGM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。臨床試験に供される新規抗HBV治療薬の候補が得られるまでの期間、前臨床試験の実施に向けた各種調整や、臨床試験実施並びに実施支援体制の確立・整備等に努め、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の円滑な実施に備えることとする。

3) 臨床試験データマネジメント：国立国際医療研究センター（NCGM）JCRACデータセンターにおいて（1）データマネジメント業務の標準化、（2）品質管理体制の強化をはかった。これにより、本研究班

の出口段階において信頼性のある臨床試験が実施できることを目指した。またアカデミアで品質の高い臨床試験が実施できる基盤構築に寄与することを目指した。近年、国内では臨床試験データの品質管理の在り方が問題とされている。現在、疫学研究に関する倫理指針と臨床研究に関する倫理指針を統合した新たな倫理指針の改訂作業が行われているが、臨床研究においても品質に関する要求水準が高くなる可能性がある。アカデミアでのデータセンター機能を強化し、臨床医が主体となった信頼性のある臨床試験を実施できる体制を構築する必要がある。

4) HBV 治療の現状と HBV 変異体の動態解析：(1) 核酸アナログ投与経過 (N=192)、あるいは肝炎臨床病期（免疫寛容期、HBe 抗原陽性期、HBe 抗原陰性期、非活動キャリア、寛解期）(N=337) において、治療経過とともにあるいは臨床病期の進展とともに、HB s 抗原量と HB コア関連抗原量は低下した。(2) LC/HCC 症例では HBs 抗原は低値であるものの、HB コア関連抗原高値であった。(3) パイロシークエンスによる preS 領域変異の検討で HBs 抗原低値かつ HB コア関連抗原高値となる乖離症例では preS 変異や欠失が有意に多く認められ、肝病態進展に関わる HB s 抗原、HB コア関連抗原と preS 変異の密接かつ重要な関連が明らかとなった。

5. 創薬化合物の新規性についての検討(助永)

合成された化合物の特許を含めた新規性調査を行った結果、複数の新規性化合物が発見された。さらに新規性化合物の中で

ホスト・ミトコンドリアポリメラーゼを対象としたスクリーニングの結果、安全域の広い化合物が serendipity として得られたので、特許出願のための明細書作成に着手した。

E. 結論

本研究班では 100 個以上のヌクレオシド誘導体の HIV および HBV に対する抗ウイルス活性の評価を完了、複数の強力な抗 HBV 薬の開発に成功した。特に抗 HIV 薬として非常に強力な活性と優れた薬物動態を有する EFdA の類似体で抗 HBV 活性を大幅に改善させた薬剤：CAAdA および CdG については、ETV 耐性 HBV 感染マウスモデルでも良好な活性を示し、一部の RT 阻害剤で見られるミトコンドリア障害に対する *in vitro* での評価も終了している。

本研究代表者(満屋)は RT 阻害剤を含む各種の抗 HIV 薬開発をそのライフワークとして続けており、今回、そこで得られた経験を応用し、極めて短期間で非常に強力な活性を有する抗 HBV 逆転写酵素阻害剤の開発に成功したことは本プロジェクトの最終目標(B 型肝炎に対する治療薬の開発)に向けた大きな成果であるといえる。

今後は長期服薬における慢性の副作用の軽減の1つとして新規化合物のミトコンドリア DNA に対する作用の評価を随時行いながら、抗ウイルス活性の更なる改善に向け化合物の最適化を進めていく必要がある。また HBV-RT の微細構造や化合物との結合を解析するためのタンパク質発現系の構築では、より可溶性の高いタンパク質が得られるなど前進が見られている。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要な活性部位の微細構造を世界に先駆けて発信する。

また医薬品候補化合物獲得後の前臨床試験の評価法の確立並びに第 I/IIa 相臨床試験など臨床開発の実施に向けた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示さ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. Takamatsu, Y., Tanaka, Y., Kohgo, S., Murakami, S., Singh, K., Das, D., Venzon, DJ., Amano, M., Kuwata, N., Aoki, M., Delino, NS., Hayashi, S., Takahashi, S., Haraguchi, K., Sarafianos, SG, Maeda, K, and Mitsuya, H. 4'-Modified Nucleoside Analogs: Potent Inhibitors Active against Entecavir-resistant HBV. [*HEPATOLOGY, under revision*].

研究分担者

小田切 優樹 :

1. Taguchi K, Tokuno M, Yamasaki K, Kadowaki D, Seo H, Otagiri M. Establishment of a model of acetaminophen-induced hepatotoxicity in different weekly-aged ICR mice. *Lab Anim.* (2015) in press
2. Taguchi K, Chuang VT, Yamasaki K, Urata Y, Tanaka R, Anraku M, Seo H, Kawai K, Maruyama T, Komatsu T, Otagiri M. Cross-linked human serum albumin dimer has the potential for use as a plasma-retaining agent for the fatty acid-conjugated antidiabetic drugs. *J Pharm Pharmacol.* (2015) 67(2):255-63.
3. Ishima Y, Inoue A, Fang J, Kinoshita R, Ikeda M, Watanabe H, Maeda H, Otagiri M, Maruyama T. Poly-S-nitrosated human albumin enhances the antitumor and antimetastasis effect of bevacizumab, partly by inhibiting autophagy through the generation of nitric oxide. *Cancer Sci.* (2015) 106(2):194-200.
4. Maeda H, Hirata K, Watanabe H, Ishima Y, Chuang VT, Taguchi K, Inatsu A, Kinoshita M, Tanaka M, Sasaki Y, Otagiri M, Maruyama T. Polythiol-containing, recombinant mannosylated-albumin is a superior CD68+/CD206+ Kupffer cell-targeted nanoantioxidant for treatment of two acute hepatitis models. *J Pharmacol Exp Ther.* (2015) 352(2):244-57.

5. Ogaki S, Taguchi K, Watanabe H, Ishima Y, **Otagiri M**, Maruyama T. Carbon monoxide-bound red blood cell resuscitation ameliorates hepatic injury induced by massive hemorrhage and red blood cell resuscitation via hepatic cytochrome P450 protection in hemorrhagic shock rats. *J Pharm Sci.* (2014) 103(7):2199-206.
6. Taguchi K, Yamasaki K, Maesaki H, Tokuno M, Okazaki S, Moriuchi H, Takeshita K, **Otagiri M**, Seo H. An evaluation of novel biological activity in a crude extract from *Heme rocallis fulva* L. var. *sempervirens* M. Hotta. *Nat Prod Res.* (2014) 28(23):2211-3.
7. Ishima Y, Fang J, Kragh-Hansen U, Yin H, Liao L, Katayama N, Watanabe H, Kai T, Suenaga A, Maeda H, **Otagiri M**, Maruyama T. Tuning of poly-S-nitrosated human serum albumin as superior antitumor nanomedicine. *J Pharm Sci.* (2014) 103(7):2184-8.
8. Kouno Y, Anraku M, Yamasaki K, Okayama Y, Iohara D, Ishima Y, Maruyama T, Kragh-Hansen U, Hirayama F, **Otagiri M**. N-acetyl-L-methionine is a superior protectant of human serum albumin against photo-oxidation and reactive oxygen species compared to N-acetyl-L-tryptophan. *Biochim Biophys Acta.* (2014) 1840(9):2806-12.
9. Tanaka R, Ishima Y, Maeda H, Kodama A, Nagao S, Watanabe H, Chuang VT, **Otagiri M**, Maruyama T. Albumin fusion prolongs the antioxidant and anti-inflammatory activities of thioredoxin in mice with acetaminophen-induced hepatitis. *Mol Pharm.* (2014) 11(4):1228-38.
10. Sato H, Chuang VT, Yamasaki K, Yamaotsu N, Watanabe H, Nagumo K, Anraku M, Kadowaki D, Ishima Y, Hirono S, **Otagiri M**, Maruyama T. Differential effects of methoxy group on the interaction of curcuminoids with two major ligand binding sites of human serum albumin. *PLoS One.* (2014) 9(2):e87919.
11. Nagumo K, Tanaka M, Chuang VT, Setoyama H, Watanabe H, Yamada N, Kubota K, Tanaka M, Matsushita K, Yoshida A, Jinnouchi H, Anraku M, Kadowaki D, Ishima Y, Sasaki Y, **Otagiri M**, Maruyama T. Cys34-cysteinylated human serum albumin is a sensitive plasma marker in oxidative stress-related chronic diseases. *PLoS One.* (2014) 9(1):e85216.

榎本 信幸 :

1. Iio E, Matsuura K, Nishida N, Maekawa S, **Enomoto N**, Nakagawa M, Sakamoto N, Yatsushashi H, Kurosaki M, Izumi N, Hiasa Y, Masaki N, Ide T, Hino K, Tamori A, Honda M, Kaneko S, Mochida S, Nomura H, Nishiguchi S, Okuse C, Itoh Y, Yoshiji H, Sakaida I, Yamamoto K, Watanabe H, Hige S, Matsumoto A,

- Tanaka E, Tokunaga K, Tanaka Y. Genome-wide association study identifies a PSMD3 variant associated with neutropenia in interferon-based therapy for chronic hepatitis C. *Hum Genet.* 2015 Mar;134(3):279-89.
2. Tanaka T, Kasai H, Yamashita A, Okuyama-Dobashi K, Yasumoto J, Maekawa S, Enomoto N, Okamoto T, Matsuura Y, Morimatsu M, Manabe N, Ochiai K, Yamashita K, Moriishi K. Hallmarks of hepatitis C virus in equine hepatitis virus. *J Virol.* 2014 Nov 15;88(22):13352-66.
 3. Tatsumi A, Maekawa S, Sato M, Komatsu N, Miura M, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N. Liver stiffness measurement for risk assessment of hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2014 Jun 24. doi: 10.1111/hepr.12377. [Epub ahead of print]
 4. Miura M, Maekawa S, Sato M, Komatsu N, Tatsumi A, Takano S, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N. Deep sequencing analysis of variants resistant to the non-structural 5A inhibitor daclatasvir in patients with genotype 1b hepatitis C virus infection. *Hepatol Res.* 2014 Feb 25. doi: 10.1111/hepr.12316. [Epub ahead of print]
 5. Komatsu N, Motosugi U, Maekawa S, Shindo K, Sakamoto M, Sato M, Tatsumi A, Miura M, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Fukasawa M, Uetake T, Ohtaka M, Sato T, Asahina Y, Kurosaki M, Izumi N, Ichikawa T, Araki T, Enomoto N. Hepatocellular carcinoma risk assessment using gadoxetic acid-enhanced hepatocyte phase magnetic resonance imaging. *Hepatol Res.* 2014 Dec;44(13):1339-1346.
- 原口 一広 :
1. Imoto, S.; Kohgo, S.; Tokuda, R; Kumamoto, H.; Aoki, M.; Amano, M.; Kuwata-Higashi, N.; Mitsuya, H.; Haraguchi, K. “Design, Synthesis and Evaluation of Anti-HBV Activity of Hybrid Molecules of Entecavir and Adefovir: Exomethylene Acycloguanine Nucleosides and its Monophosphate Derivatives”, *Nucleosides, nucleotides & Nucleic Acids*, **2015**, *34*, in press.
- 児玉 栄一 :
1. Kenji Maeda, Darshan V Desai, Manabu Aoki, Hiroto Nakata, Eiji N Kodama, Hiroaki Mitsuya. Delayed emergence of HIV-1 variants resistant to 4'-ethynyl-2'-fluoro-2'- deoxyadenosine: comparative sequential passage study with lamivudine, tenofovir, emtricitabine and BMS-986001. *Antiviral Therapy* 19:179-189, 2014.
 2. Eleftherios Michailidis, Andrew D. Huber, Emily M. Ryan, Yee T. Ong, Maxwell D. Leslie, Kayla B. Matzek, Kamalendra Singh, Bruno Marchand, Ariel N.

Hagedorn, Karen A. Kirby, Lisa C. Rohan, Eiichi N. Kodama, Hiroaki Mitsuya, Michael A. Parniak, and Stefan G. Sarafianos. 4'-Ethyne-2'-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) inhibits HIV-1 reverse transcriptase with multiple mechanisms. *Journal of Biological Chemistry* 289:24533-24548, 2014.

3. Shigeyoshi Fujiwara, Hiroshi Kimura, Ken-ichi Imadome, Ayako Arai, Eiichi Kodama, Tomohiro Morio, Norio Shimizu, Hiroshi Wakiguchi. Current Studies on Chronic Active Epstein-Barr virus Infection in Japan. *Pediatrics International*, 54: 159-166, 2014.
4. Tetsuro Hisayoshi, Mayu Shinomura, Kanta Yokokawa, Ikumi Kuze, Atsushi Konishi, Kumi Kawaji, Eiichi N. Kodama, Keishi Hata, Saori Takahashi, Satoru Nirasawa, Kiyoshi Yasukawa. Inhibition of the DNA polymerase and RNase H activities of HIV-1 reverse transcriptase and HIV-1 replication by *Brasenia schreberi* (Junsai) and *Petasites japonicus* (Fuki) components. *Journal of Natural Medicines*, in printing 2015.

田中 靖人 :

1. Wong DK, Kopaniszen M, Omagari K, Tanaka Y, Fong DY, Seto WK, Fung J, Huang FY, Zhang AY, Hung IF, Lai CL, Yuen MF. Effect of hepatitis B virus reverse transcriptase variations on entecavir treatment response. *J Infect*

Dis. 2014;210(5):701-7.

2. Isogawa M, Tanaka Y. Immunobiology of hepatitis B virus infection. *Hepatology Res.* 2015;45(2):179-89.
3. Watanabe T, Hamada-Tsutsumi S, Yokomaku Y, Imamura J, Sugiura W, Tanaka Y. Postexposure Prophylactic Effect of Hepatitis B Virus (HBV)-Active Antiretroviral Therapy against HBV Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(2): 1292-8.
4. Matsumoto A, Yatsunami H, Nagaoka S, Suzuki Y, Hosaka T, Tsuge M, Chayama K, Kanda T, Yokosuka O, Nishiguchi S, Saito M, Miyase S, Kang JH, Shinkai N, Tanaka Y, Umemura T, Tanaka E. Factors associated with the effect of interferon- α sequential therapy in order to discontinue nucleoside/nucleotide analog treatment in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology Res.* 2015 in press.

尾曲 克己 :

1. Wong DK, Kopaniszen M, Omagari K, Tanaka Y, Fong DY, Seto WK, Fung J, Huang FY, Zhang AY, Hung IF, Lai CL, Yuen MF. "Effect of hepatitis B virus reverse transcriptase variations on entecavir treatment response." *J Infect Dis.* 2014 Mar 8. [Epub ahead of print]

青木 学 :

1. Hayashi H, Takamune N, Nirasawa T, Aoki M, Morishita Y, Das D, Koh Y, Ghosh AK, Misumi S, Mitsuya H. Dimerization of HIV-1 protease occurs through two steps relating to the mechanism of protease dimerization inhibition by darunavir. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Aug 19;111(33):12234-9.

2) 学会発表 (国際学会のみ記載)

研究代表者

満屋 裕明 :

1. Maeda, K., Takamatsu, Y., Kohgo, S., Delino, NS., Chang. SB., Haraguchi, K., and Mitsuya, H. 4'-Ethylnyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) has an extremely high genetic barrier, persistently exerting highly potent activity against a variety of HIV-1 isolates including EFdA-selected HIV-1 variants. The annual Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). Feb 23-26, 2015. Seattle, WA.
2. Takamatsu, Y., Tanaka, Y., Amano, M., Kuwata, N., Aoki, M., Delino, NS., Murakami, S., Hayashi, S., Kohgo, S., Haraguchi, K., Sarafianos, SG., Maeda, K., and Mitsuya, H. 4'- Modified Nucleoside Analogs: Potent Inhibitors Active against Entecavir-Resistant HBV and Their Structure-Activity Relationship. The 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agent and Chemotherapy (ICAAC). Abstract H996. Sept. 5-9, 2014. Washington D.C.

研究分担者

小田切 優樹 :

1. Watanabe H, Tanaka R, Maeda H, Kodama A, Taguchi K, Ishima Y, Otagiri M, Maruyama T. Therapeutic impact of human serum albumin-thioredoxin fusion protein, long-acting anti-oxidative and anti-inflammatory modulator, against acetaminophen-induced acute hepatopathy. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
2. Taguchi K, Ujihira H, Ogaki S, Watanabe H, Takeoka S, Ikeda Y, Handa M, Otagiri M, Maruyama T. Pharmacokinetic study of enclosed adenosine diphosphate and outer lipid component after the administration of H12-(ADP)-liposome as a synthetic platelet substitute. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
3. Taguchi K, Nagao S, Jono H, Yamasaki K, Mizuguchi M, Maruyama T, Ando Y, Otagiri M. Effect of albumin on transthyretin disposition and tissue deposition in vivo. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
4. Kadowaki D, Sakaguchi S, Miyamoto Y, Muraya N, Narita Y, Sato K, Ishima Y, Chuang VTG, Maruyama T, Otagiri M, Hirata S. Radical scavenging activity of

- benzbromarone as a novel property in vitro. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
5. Maruyama T, Ogaki S, Taguchi K, Maeda H, Ishima Y, Watanabe H, **Otagiri M**. Carbon monoxide bound red blood cells protect the expression of hepatic cytochrome P450 after resuscitation from hemorrhagic shock via inactivation of Kupffer cells. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
 6. Taguchi K, Sakai H, Maruyama T, **Otagiri M**. Safety and pharmacokinetic studies of hepatically-metabolized and -excreted artificial oxygen carrier, hemoglobin-vesicles, in chronic hepatic cirrhosis. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
 7. Yamasaki K, Okamoto Y, Enokida T, Maeda T, Taguchi K, Seo H, **Otagiri M**. Study on protein binding of sodium phenylbutyrate. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014/4/13-16 (Melbourne, Australia)
 8. **Otagiri M**, Maruyama T. Pharmacokinetics of serum albumin variants. Innovation workshop on Albumin: The next generation protein therapeutics 2014/7/12 (Chicago, USA)
 9. **Otagiri M**, Ishima Y, Maruyama T. Therapeutic Applications of Albumin-Thioredoxin Fusion Protein. 10th European Symposium on Biochemical Engineering Sciences and 6th International Forum on Industrial Bioprocesses Lille, 2014/9/7-10 (France, LILLE GRAND PALAIS)
 10. Nagao S, Taguchi K, Tanaka R, Sakai H, Watanabe H, **Otagiri M**, Maruyama T. Development of a nanotechnology-based carbon monoxide donor and its therapeutic impact on idiopathic pulmonary fibrosis. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 11. Kodama A, Watanabe H, Tanaka R, Ishima Y, Fukagawa M, **Otagiri M**, Maruyama T. Albumin fusion renders thioredoxin an effective anti-oxidative and anti-inflammatory agent for preventing acute kidney injury. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 12. Maeda H, Ichimizu S, Watanabe H, Ishima Y, Suenaga A, **Otagiri M**, Maruyama T. Polythiolated- and recombinant mannosylated-albumin as a novel CD68+/CD206+ Kupffer cell-targeted mono-antioxidant for the treatment of acute and chronic hepatitis models. 19th North American ISSX

- Meeting/29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
13. Watanabe H, Miyamoto Y, Enoki Y, Ishima Y, Fukagawa M, **Otagiri M**, Maruyama T. OAT-dependent cellular accumulation of p-cresyl sulfate, a uremic toxin, causes vascular endothelial and smooth muscle cell damages by inducing oxidative stress. 19th North American ISSX Meeting/29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 14. Ogaki S, Maeda H, Taguchi K, Ishima Y, Watanabe H, **Otagiri M**, Maruyama T. Carbon monoxide bound red blood cells protect the function of hepatic Cytochrome P450 after resuscitation from hemorrhagic shock via suppression of Toll-like receptor-4 expression on the Kupffer cells. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 15. Taguchi K, Chuang VTG, Yamasaki K, Kawai K, Maruyama T, Komatsu T, **Otagiri M**. The potential of a cross-linked human serum albumin dimer in diabetic rats as an augmenting agent for antidiabetic drugs. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 16. Maruyama T, Tanaka R, Watanabe H, Kodama A, Ishima Y, **Otagiri M**. Genetically engineered Albumin-Thioredoxin fusion protein, long-acting anti-oxidant, ameliorates acute lung injury associated with influenza virus infection. 19th North American ISSX Meeting/29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
 17. Anraku M, Iohara D, Uekama K, Hirayama F, **Otagiri M**. Antioxidant and renoprotective activity of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin in nephrectomized rats. 19th North American ISSX Meeting / 29th JSSX Meeting, 2014/10/19-23 (California, USA)
- 児玉 栄一 :
1. Zhe Li, Karen Kirby, Bruno Marchand, Michailidis Eleftherios, Eiichi Kodama, Hiroaki Mitsuya, Michael Parniak, Stefan Sarafianos. Structural Basis of Inhibition and Resistance Mechanism to EFdA, a Highly Potent NRTI. The annual Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Seattle, Washington, Feb. 23-26, 2015
- 田中 靖人 :
1. Tsutsumi S, Watanabe T, Murakami S, Iijima S, Hayashi S, Omagari K, Isogawa M, **Tanaka Y**. Evaluating hepatitis B virus lifecycle and screening anti-viral drugs using primary human hepatocytes isolated from chimeric mice. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sep.3-6, 2014. Los Angeles.

D.C.

2. Matsui T, Kang JH, Tanaka K, Nagai K, Tomonari A, Maguchi H, **Tanaka Y.** Quantified HBV ccc DNA in liver predicts changes in HBV markers during pegylated interferon α 2a treatment for chronic hepatitis B. The 11th JSH Single Topic Conference. Nov.20-21, 2014. Hiroshima.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1) 特許取得

名称「抗ウイルス活性を示すヌクレオシド誘導体」として平成27年5月出願予定

2) 実用新案登録

該当なし

原口 一広 :

1. Maeda, K., Takamatsu, Y., Kohgo, S., Delino, NS., Chang. SB., Haraguchi, K., and Mitsuya, H. 4'-Ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) has an extremely high genetic barrier, persistently exerting highly potent activity against a variety of HIV-1 isolates including EFdA-selected HIV-1 variants. The annual Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). Feb 23-26, 2015. Seattle, WA.
2. Takamatsu, Y., Tanaka, Y., Amano, M., Kuwata, N., Aoki, M., Delino, NS., Murakami, S., Hayashi, S., Kohgo, S., Haraguchi, K., Sarafianos, SG., Maeda, K., and Mitsuya, H. 4'- Modified Nucleoside Analogs: Potent Inhibitors Active against Entecavir-Resistant HBV and Their Structure-Activity Relationship. The 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agent and Chemotherapy (ICAAC). Abstract H996. Sept. 5-9, 2014. Washington