

エイズおよび抗 HIV 薬開発研究について

中島 秀喜

鹿児島大学歯学部口腔細菌学講座

AIDS and the Development of Anti-human Immunodeficiency Virus (HIV) Drugs

Hideki Nakashima

Department of Microbiology and Immunology
Kagoshima University Dental School
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544

Abstract

The unprecedented speed with which the etiologic agent of AIDS, human immunodeficiency virus (HIV), was isolated and characterized, and then effective drugs were discovered remarkably. Discovery of some anti-HIV compounds suggested that the antiviral chemotherapy of AIDS was feasible, and opened the search for more potent and more selective anti-HIV agents. In the past two years, HIV-infected patients have been treated with combinations of drugs which inhibit enzymes present in HIV but not in human. Most have thereupon become able to forestall or even overcome opportunistic infections, and have exhibited decreased quantities of viral load and increased numbers of CD4 lymphocytes. In addition, HIV coreceptors, CXCR4 and CCR5, were identified and their important roles for virus entry would be disclosing. This review will focus on the latest basic research of AIDS and anti-HIV drug development.

Key words

AIDS, HIV infection, anti-HIV drug, CXCR4, CCR5

I. はじめに

病原体を選択的に殺消するには、その宿主細胞と病原体との生化学機構の違いに注目して、病原体に特有な部分を攻撃するのがよい。細菌性感染症に有効な多くの抗生物質は、この戦略に基づいて開発されてきた。ウイルスに関しても同じ戦略が有効なはずであるが、2, 30年前までは有効な抗ウイルス薬というものは知られていなかった。ウイルスは、電子顕微鏡的にしか存在を見いだすことができないほど極微小であるということだけではなく、生物とはいいがたい構造、すなわち物質の交換、輸送の働きをする細胞膜に相当する構造や自身の増殖に携わるエネルギーの貯蔵や代謝に関する小器官をいっさい持っていない。それゆえ、ウイルスは周囲の環境から栄養分を摂取することができず、その増殖は感染した細胞の生化学的機構に依存する細胞内寄生体として存在する。ウイルスの増殖が感染した細胞のそれと密接に関係することが、ウイルス感染症の治療に困難をきたすだけでなく、細胞の機能異常や免疫系におよぼす影響も無視できない。しかし、近年の分子生物学の進歩に伴ってウイルスの増殖に特異的な機構を阻害する可能性のある物質が発見されてきた。さらに、その患者数の爆発的な増加と高い致死性のために重大な社会問題となっているエイズ(AIDS, 後天性免疫不全症候群)が発見され、その原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス(HIV, human immunodeficiency virus)に関する分子機構の解明や抗ウイルス薬の研究が世界中の研究施設で勢力的に行われた結果、数種類の治療薬が開発され、実用化されている。本稿ではエイズ治療薬としての抗ウイルス薬に関する研究の現状について解説してみる。

II. エイズの発見とその蔓延状況

1981年にアメリカ合衆国のニューヨークとロサンゼルスで、それまで健康であった成人男性からカポジ肉腫やカリニ肺炎があいついで見つかり、これらの患者に日和見感染症などを起こす基礎疾患が知られなかったことから、後天性免疫不全症候群(エイズ)として報告された^{1,2)}。エイズとは Acquired Immunodeficiency Syndrome の頭文字 AIDS である。エイズの原因は不明であったが、当初発見されたエイズ患者が男性同性愛者であったため社会的な反響が大きく、背徳行為に対する神の罰などと考えられることもあった。その後、静脈注射による麻薬常習者やハイチからの難民などにもエイズ患者が見つかり、栄養状態とともに何らかの感染微生物が原因となってい

るのではないかと考えられた。1983年になってフランスのパスツール研究所の L. Montagnier らが、エイズの症状の一つであるリンパ節腫大症の患者から新しいヒトのレトロウイルスを発見し LAV (lymphadenopathy associated virus) と名付けて報告した³⁾。さらに翌年、アメリカ国立ガン研究所の R.C. Gallo ら、カリフォルニア大学サンフランシスコの J. Levy らがエイズ患者から同様のウイルスを分離し、それぞれ HTLV-III (human T-lymphotropic virus III)⁴⁾、ARV (AIDS related virus)⁵⁾ と名付けた。その後、それらのウイルスの塩基配列が調べられた結果同一ウイルスと考えられ、現在は HIV と呼ばれている。

HIV の発見以来、ヒト血清中にウイルスに対する抗体の存在を調べることで感染の有無を知ることができることから、免疫学的手法を利用した ELISA や粒子凝集法、さらに蛍光抗体法やウエスタンブロット法などを用いて HIV 感染の診断法が確立された。そして、その感染者は決して男性同性者に限らず、一般の人たちでも男女を問わず感染者との性行為があれば感染することが判明した。また、HIV に汚染した血液や血液製剤を使用した場合にも感染が成立する。加えて、女性感染者からの出生児は高率に感染して、新生児エイズとなりやすいことも分かった。1995年になってそれまで知られていた HIV とは明らかに異なるウイルスが西アフリカのエイズ患者から分離され⁶⁾、これまでの全世界に広く蔓延しているものを HIV-1 と、西アフリカを中心に局在しているものを HIV-2 と呼んで区別している。

1997年6月末の時点で、WHO には164万4183人のエイズ患者が197カ国から報告されているが、1973年の時点でそれが71万8894人であったことを考えると、この四年間で2倍以上の患者数の増加がみられたことになる。それに加えて公式報告以外にも多くの患者が存在し、世界の患者実数は成人と小児の合計で500万人に達するものと推測される。また HIV 感染者についても、その総数はすでに成人1800万人、小児150万人に達したと推定され、過去1年間で成人感染者400万人、小児感染者50万人の増加があったことを意味する。すなわち7秒ごとに1人の割合で新しい感染者が世界のどこかで発生していることになる。WHO が行った発生累積数の長期的な予想によると、西暦2000年までの HIV 感染者累計は3000万~4000万と推測され、感染者の増加は今世紀中は続くものと考えられる。地域別に HIV 感染者の分布をみると、サハラ砂漠以南

のアフリカ大陸に750万人以上、南北アメリカ大陸にそれぞれ100万人以上、西ヨーロッパに50万人となっている。問題なのは、地域的にもまた経済的にも日本と関係深いタイ、インドを中心とした東南アジアに150万人以上の感染者がみられ、この数はさらに上昇中ということである⁷⁾。この近隣外国での流行および海外旅行が日常的になったこと、さらに異性間性行動の変容などがあいまって、日本でも感染者数は急激に増加している。実際、1997年10月末までに厚生省エイズ動向委員会によって報告されたエイズ患者および HIV 感染者はそれぞれ1705人と4232人であるが(表1)、実際の数はその5倍とも10倍とも考えられている。加えて問題とされる点は、これまで外国人患者・感染者、特に風俗産業に従事する東南アジア女性の占める割合が高かったのが、1993年頃より日本人男性患者・感染者が多くなってきたこと、また日本人女性感染者も増加してきていることである。つまり、海外で感染した男性や外国人からの二次感染により国内感染例が増加し始め、ついに一般家庭の女性にまで感染が認められるようになったと考えられる。

日本のエイズ患者の届出状況

| | 男性 | 女性 | 合計 |
|-------------|-------------|----------|-------------|
| 異性間の性的接触 | 366 (72) | 77 (38) | 443 (110) |
| 同性間の性的接触 *1 | 260 (37) | 0 (0) | 260 (37) |
| 静注薬物濫用 | 11 (7) | 0 (0) | 11 (7) |
| 母子感染 | 6 (1) | 3 (1) | 9 (2) |
| 凝固因子製剤 *2 | 682 (…) | 7 (…) | 689 (…) |
| その他 | 16 (5) | 8 (2) | 24 (7) |
| 不明 | 222 (87) | 47 (33) | 269 (120) |
| 合計 | 1,563 (209) | 142 (74) | 1,705 (283) |

HIV 感染者の届出状況

| | 男性 | 女性 | 合計 |
|-------------|-------------|-------------|---------------|
| 異性間の性的接触 | 543 (122) | 642 (463) | 1,185 (585) |
| 同性間の性的接触 *1 | 550 (76) | 0 (0) | 550 (76) |
| 静注薬物濫用 | 14 (10) | 0 (0) | 14 (10) |
| 母子感染 | 8 (1) | 11 (6) | 19 (7) |
| 凝固因子製剤 *2 | 1,791 (…) | 17 (…) | 1,808 (…)*3 |
| その他 | 26 (10) | 22 (4) | 48 (14) |
| 不明 | 234 (121) | 374 (355) | 608 (476) |
| 合計 | 3,166 (340) | 1,066 (828) | 4,232 (1,168) |

() 内は外国人再掲載

(平成9年10月末)

表1 日本のエイズ患者と HIV 感染者の届出状況

III. HIV とは

HIV はレトロウイルスと呼ばれる RNA 型ウイルスに属する。レトロウイルスとは逆転写酵素 (Reverse Transcriptase) をもつ癌ウイルス (Oncogenic virus) の斜体部をつなぎ合わせた呼び名で、古くは1910年代にニワトリに肉腫をつくるウイルスとしてロックフェラー研究所の F.P. Rous と京都大学の藤波鑑によって独立して発見された。さらに1930年代に入ってマウスの乳癌ウイルス、50年代にマウス白血病ウイルスが次々に発見され、後にこれらはレトロウイルスに属することがわかった。1970年代になるとこうしたウイルスは多くの脊椎動物、さらに霊長類からも発見され、1980年には成人T細胞白血病 (ATL) の原因である HTLV が発見されている。レトロウイルスに特徴的な逆転写酵素というものは、1970年になって D. Baltimore と H.M. Temin らによってマウス白血病ウイルスおよび Rous 肉腫ウイルスから発見された酵素である。我々の遺伝情報は DNA に保持されており、この情報が RNA に転写され、さらにメッセンジャー RNA 上の情報に基づいて翻訳すなわちタンパクの合成へと進んでいく。この遺伝情報の伝達は、1953年に J. D. Watson と F. Crick が DNA の二重らせんモデルを発表して以来、セントラルドグマとして全ての生物で普遍的なものと考えられてきた。このセントラルドグマの修正が逆転写酵素の発見によってなされることになったのである。逆転写というのは逆に転写するという意味で、RNA の情報をもとに DNA をつくることをいう。そしてこの反応を触媒する酵素が逆転写酵素である。

HIV は直径約100nmの球形で、他のレトロウイルスと同様のウイルス学的性状、すなわち RNA 遺伝子と逆転写酵素を含むヌクレオカプシドを中心に、その周囲に感染細胞膜由来の脂質膜と糖蛋白質からなるエンベロープをもっている。ヌクレオカプシドは p24 と呼ばれる蛋白質 (p は protein の略、数字はその分子量[キログルトン]を示す) からなり、円柱状または円錐状を呈している。エンベロープの内側は p17 からなるマトリクスで裏打ちされている。エンベロープの糖蛋白質は、脂質膜を貫通している gp41 と、膜から突き出した gp120 と呼ばれる部分がある (gp は glycoprotein の略) (図1)。

HIV の遺伝子構造は、5'末端から3'末端の方向へ gag (ウイルス粒子の内部構造をコードする遺伝子)、pol (逆転写酵素およびプロテアーゼの遺伝子)、env (エンベロープの糖蛋白質の遺伝子) が並び、その両端

複製後期段階、すなわち感染細胞からウイルスが産生される過程では、LTR をプロモーターとして RNA の転写が始まるが、このプロモーター活性をさまざまな細胞性の転写調節因子が修飾しており、感染細胞の増殖や活性化状態に応じたウイルスの発現を行っている¹¹⁾。さらに注目すべき点は、HIV 遺伝子産物のすべてが同時に発現するのではなく、最初は調節遺伝子の *tat* および *rev* によってコードされている調節蛋白質が産成され⁹⁾、これが自身の RNA に働きかけて転写や翻訳の効率を上げたり、ウイルス粒子の形成に必要なコアやエンベロープなどの構造蛋白質の産生を促したりすることで、ウイルス粒子の放出が起きてくる¹²⁾ (図 4)。このあたりの複雑な発現調節が HIV の増殖の大きな特色で、HIV が宿主の免疫系から逃れるための潜伏化や、エイズに見られる長い無症候性キャリア (AC) に重要な役割を果たしている可能性がある。

V. エイズの発症機構

エイズとは、HIV 感染による宿主の免疫力低下に起因して日和見感染症や悪性腫瘍などの種々の特徴的な症状が合併した状態である¹³⁾。またエイズが進行してくると、HIV 感染が脳神経細胞におよび、脳炎を誘発することも知られており、これをエイズ脳症 (エイズ痴呆症) と呼ぶ。では、どうして HIV 感染がこうした免疫不全状態や神経障害を引き起こすのかというと、実際のところ明確にはされていない。これには、ヒトの免疫系が複雑に入り組んでおり、それ自身の調節機構が解明されていないことがあげられる。さらに、エイズの発症機構を実験的に調べられる適当な動物モデル系が存在しないことも理由の一つであろう。しかしながら、免疫学、ウイルス学などの連携で、ある程度は HIV による免疫異常の原因は分かってきた。エイズ患者に見られる異常で特徴的なことは、末梢血液中の CD4 細胞数の減少、CD4/CD8 比の減少や逆転などである。この CD4 細胞は主にヘルパー・インデューサー T 細胞に、CD8 は主にキラー・サプレッサー T 細胞に多く発現している膜分子である。エイズの症状が進行してくると T リンパ球の総数も減少してくるが、特にその中でも免疫系の中心的な役割を担うヘルパー・インデューサー T 細胞が減少してくるわけである¹⁴⁻¹⁶⁾。感染当初には一過性にウイルス抗原が出現して、それに相まって CD4 陽性細胞の減少が見られるが、抗体の出現とともにウイルス抗原量は減少し、数カ月から数年にもおよぶ無症候性キャリア (AC) の時期とな

る。しかしこの間にも感染者の体内では、1日あたり平均約100億個のウイルスが作られており、同量のウイルスが除去されながら、最終的には約40億個の HIV が常在する定常状態に落ちついている。また、CD4 陽性細胞は1日あたり約20億個作られる一方、やはりほぼ同数の細胞が破壊されていき、最終的に約4億個の CD4 陽性細胞が存在する。すなわち、AC の時期でも、HIV も CD4 陽性細胞も盛んに作られ、作られると同時に殺されるというバランスの上にあるということである¹⁷⁾。このように、HIV と感染者の免疫機構との戦いは、最初は平衡状態を維持しているが、何らかの理由で体内のウイルスが活性化され、または複製の最中に生じたエラーの結果で抗原性が変わった変異株を生じたりして、再びウイルス量が増大し、抗体で抑えが効かなくなってくるようになる。症状的には体重減少や持続性全身性リンパ節腫脹などが見られるようになり、この時期をエイズ関連症候 (ARC, AIDS related complex) と呼ぶ。さらに病状が進むと、カリニ肺炎、カンジダ症などの日和見感染症やカポジ肉腫、リンパ腫などの悪性腫瘍を見るエイズへと増悪していく。

HIV の感染標的となる CD4 陽性ヘルパー・インデューサー T 細胞は、体内に侵入してきた異物 (細菌やウイルスなど) を認識してキラー・サプレッサー T 細胞の活性化・増殖を促し、また B リンパ細胞の機能を補助して、それらの異物に対する抗体産生を促す。すなわち、キラー T 細胞の作用を主とする細胞性免疫と B リンパ細胞からの抗体を介する液性免疫の両方を指揮する司令官のような役割を持つヘルパー・インデューサー T 細胞が HIV の感染によって障害を受けるため、個体の免疫力が落ちていくのである。HIV は、HTLV-I など腫瘍の原因となるレトロウイルスとは異なって、感染した細胞を殺傷する機能を持っているらしい。この細胞殺傷機構はまだよく分かっていないが、HIV のエンベロープ糖蛋白質の膜貫通部分 (gp41) の持つ強い膜融合作用による細胞融合¹⁸⁾ や、ウイルス蛋白質の細胞内蓄積による代謝や複製の異常などが考えられる¹⁹⁾。また HIV 感染により、膜表面に露出したウイルス抗原に対する抗体が結合し、これを認識する ADCC (抗体依存性細胞傷害機構) が働いたり²⁰⁾、この抗体とウイルス蛋白質により CD4 陽性 T 細胞のアポトーシス (apoptosis) が誘導され、細胞死が導かれるとの説もある²¹⁾。アポトーシスとは、発生過程や成熟個体において生体に不要になった細胞を除去したり、突然変異や障害を受けて異常をきたし、個体にとつ

て有害となったものを積極的に排除するために仕組まれた細胞の自殺機構のようなものである。さらに最近、強力な抗原提示能をもつ樹状細胞が HIV を効率よく活性化された T 細胞へ渡し、その細胞死を導いているとの報告がされている²²⁾。いずれにせよ、HIV の感染によって CD4 陽性 T 細胞が減少してしまい、免疫系のネットワークが壊れてしまうことが免疫不全症が起きる原因と思われる。

VI. エイズ治療法開発の状況

エイズの治療法としては、症状として見られる日和見感染症や悪性腫瘍に対する治療や減弱している免疫力の回復をはかっている免疫増強療法などが考えられる。しかし先に述べてきたように、これらエイズの病態は HIV 感染により引き起こされた免疫担当細胞の死を契機として発病した合併症と考えられる。エイズが HIV 感染症の終末像であるならばその原因である HIV の感染・増殖を阻止することで、その発病を抑えようとする試みが当然出てくるわけで、ここにエイズ治療薬または予防薬としての抗ウイルス薬の開発が強く望まれているわけである。最初に述べたように、ウイルスの増殖は感染宿主細胞の増殖機構と密に関連しているために、ウイルスを殺すための抗ウイルス薬は同時に細胞の機能にも障害をおよぼす可能性があるために有効な抗ウイルス薬の開発は不可能であると考えられていたこともあった。しかし近年の分子生物学研究の進歩に伴い、ウイルス特異的な増殖機構が明らかにされ、それらを標的とした抗ウイルス薬開発の戦略法が考えられるようになってきた。表 2 には、現在 HIV 感染症治療薬として、日本と米国で認可されている薬剤を列記してある。この項では、これら既に臨床使用が認可されている薬剤および現在臨床使用を目指して研究が進められている物質に関する作用機序やそれらの薬剤の抱える問題点、将来への展望について述べてみる。

1) ヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬

一番最初に HIV 感染症の治療薬として認可されたものは、AZT (アジドチミジン、ジドブジン)^{23,24)} というヌクレオシド誘導体であり、その後現在までに ddI (ジダノシン)²⁵⁾、ddC (ザルシタピン)²⁵⁾ の、d4T (サニルブジン)²⁶⁾、3TC (ラミブジン)²⁷⁾ の 5 つのヌクレオシド系の薬剤が認可されている。これらの薬剤は、細胞の酵素でリン酸化を受けて細胞内に取り込まれ、レトロウイルスの増殖における特徴である逆転写酵素

に作用して、ウイルス RNA 遺伝子をもとに合成過程にある DNA 鎖の合成を終結させることでその逆転写のステップを阻害する²⁸⁾。私たちの身体を作っている正常細胞の増殖や代謝にはおそらく逆転写酵素は必要ないので、薬剤がこれを阻害しても正常細胞には影響がなく、HIV だけが影響を受けることになる。AZT や ddI、ddC などの薬剤はエイズ患者の延命効果や症状の改善をもたらすとされているが²⁹⁾、長期にわたる連続投与において重篤な貧血や脾臓炎、神経症状など比較的強い副作用を示すことも分かっている³⁰⁾。また、化学療法剤の宿命ともいえる薬剤耐性ウイルスの出現と、それによる治療効果の減弱も問題となっている³¹⁾。他にヌクレオシド誘導体に属するもので、AZDU

抗HIV薬・日米開発状況

| 薬剤名 一般名、略号あるいは記号 | 米 国 | | 日 本 | | |
|---------------------|--------------------|------------|----------|---------|----------|
| | 商品名 | 承認 | 商品名 | 承認 | |
| 逆転写酵素阻害剤 | AZT zidovudine | Retrovir | '87 / 3 | レトロビル | '87 / 9 |
| | ddI didanosine | Videx | '91 / 10 | ヴァイデックス | '92 / 6 |
| | ddC zalcitabine | Hivid | '92 / 6 | ハイビッド | '96 / 4 |
| | d4T sanivudine | Zerit | '94 / 6 | ゼリット | '97 / 7 |
| | 3TC lamivudine | Epivir | '95 / 11 | エビビル | '97 / 2 |
| | Nevirapine | Viramune | '96 / 6 | | |
| | Delavirdine | Rescriptor | '97 / 4 | | |
| プロテアーゼ阻害剤 | Saquinavir | Invirase | '95 / 12 | インビラーゼ | '97 / 9 |
| | Ritonavir | Norvir | '96 / 3 | ノービア | '97 / 11 |
| | Indinavir | Crixivan | '96 / 3 | クリキシバン | '97 / 3 |
| | Nelfinavir | Viracept | '97 / 3 | | |

表 2 抗 HIV 薬・日米開発状況

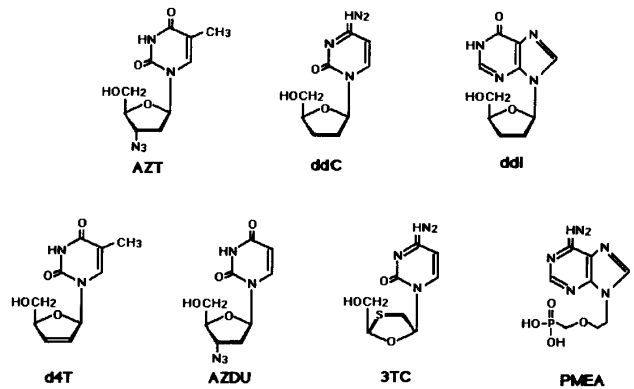


図 5 ヌクレオシド系の逆転写酵素阻害薬

(アジドデオキシウリジン)³²⁾, PMEА (ホスホニルメトキシエチルアデニン)³³⁾などの臨床試験が進行中である(図5)。

2) 非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤

AZTなどのヌクレオシド類似体以外にも、逆転写酵素の働きを阻止するものが、ここ数年の間に次々に発見されてきた。これらの中には、精神安定剤や睡眠薬として知られているベンゾジアゼピンとよく似た構造をもつネビラピン³⁴⁾やTIBO誘導体³⁵⁾, HEPT誘導体³⁶⁾, ピリジノン誘導体³⁷⁾, BHAP³⁸⁾, TSAO³⁹⁾などと呼ばれているものがある(図6)。これらの物質は直接細胞内に取り込まれて逆転写酵素と結合することでその阻害作用を示し、アロステリック阻害剤とも呼ばれている。ただし、これらの薬剤で問題となる点は、HIVには大まかに分けてHIV-1とHIV-2があるが、非ヌクレオシド系阻害剤はHIV-1にしか効果がないことである。また、容易にこれらの薬剤に耐性を示すウイルス株が出現し、それが互いに交叉耐性をもつという問題もある。そのために、これらの物質をエイズ治療薬として使用することは難しいのではないかと考えられていたが、最近になってAZTやddIなどのヌクレオシド誘導体との併用で、高い治療効果が期待できる可能性が示された⁴⁰⁾。さらに、この点を検討しながら、今後の開発が進んでいくものと思われる。

3) プロテアーゼ阻害剤

HIVの複製・増殖過程の後期段階において、ウイルス由来のプロテアーゼがウイルス粒子の成熟に不可欠なものであることが分かり、その構造と生化学的な性質が明らかにされてきた。HIVのプロテアーゼは、アミノ酸のチロシンあるいはフェニルアラニンとプロリンとの間を基質として認識し、これを切断するというユニークなものである。この基質に似せて、しかもプロテアーゼが切断することができないようなオリゴペプチドを合成し、HIVのプロテアーゼ活性を阻害する薬剤の研究がある⁴¹⁻⁴⁷⁾(図7)。日本ではサキナビル、リトナビル、インジナビルの3剤が、米国ではこれらに加えてネルフィナビルがすでに認可されており、その他にも現在臨床試験が進行中であるジャパンエンジーで開発中のKNI-272などがある。

4) ウイルス吸着阻害物質

ウイルス感染の一番最初のステップは、ウイルス粒子が感染標的細胞に吸着する時点である。デキストラ

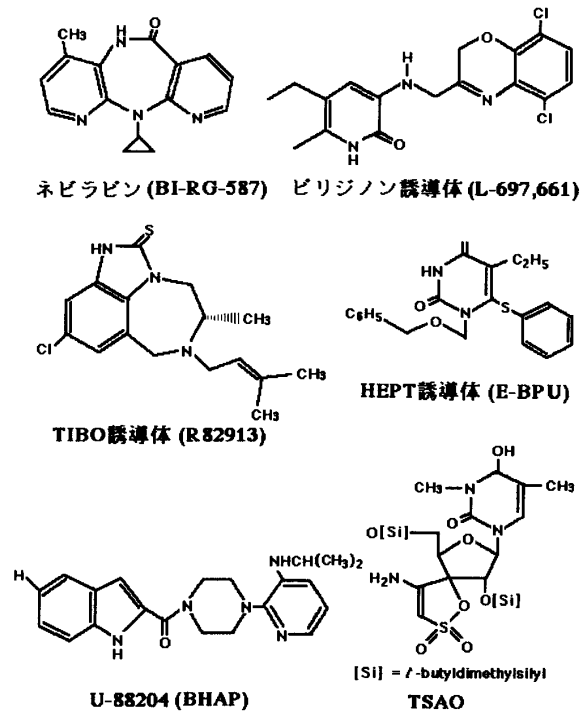


図6 非ヌクレオシド系の逆転写酵素阻害薬

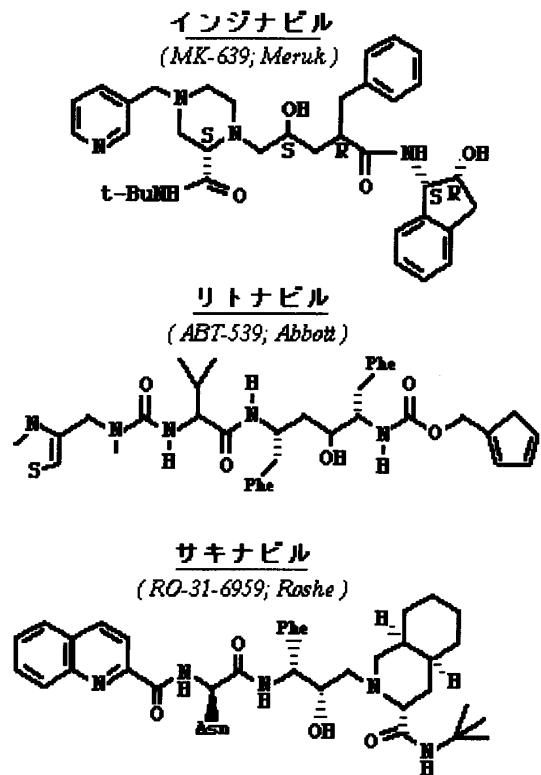


図7 HIVプロテアーゼ阻害薬

ン硫酸などの硫酸化多糖体が、この吸着のステップを阻害して、試験管内の実験では非常に強い抗 HIV 作用を示す^{46,47)}。そこで、アメリカでデキストラン硫酸

の臨床試験が行われたが、期待に反して有意な効果は見られないという結果であった⁴⁸⁾。その理由としては、デキストラン硫酸の経口吸収性が悪いこと、また経静脈的に投与しても血液中で容易に分解されてしまうためと考えられている。また、抗血液凝固作用があるため、出血傾向のある患者への投与は困難と思われる。カードラン硫酸⁴⁹⁾は、デキストラン硫酸より副作用が少なく、強い抗 HIV 作用が期待されており、米国で臨床試験が行われている。さらに、私たちのグループが現在開発している硫酸化アルキルオリゴ糖は、名前が示すとおり多糖体より低分子で、カードラン硫酸に匹敵する抗 HIV 活性をもちながら抗血液凝固作用はほとんど見られない^{50,51)} (図 8)。その他にも、我々が最近報告した pentagalloyl glucose の硫酸化物も HIV の吸着阻害作用がある⁵²⁾。これらの物質は、まだ実験室での研究レベルであるが、今後の研究の発展が期待される。

5) ウイルス-細胞膜融合阻害物質

ウイルスが吸着した後、ウイルスのエンベロープと細胞膜との融合からウイルスの侵入の段階を阻止するものとして、著者らのグループはカプトガニの血液細胞に存在する抗菌ペプチドである、タキプレシンあるいはポリフェムシンの構造に似せて化学合成したペプチド "T22"⁵³⁾や、ウイルスの脱核の段階を阻止すると考えられる Bicyclam⁵⁴⁾などを報告してきた (図 9)。T22 の抗ウイルス作用機序を知るために、time-of-addition 試験を行い、HIV が CD4 分子に吸着した後の、融合、侵入の段階を阻止することを以前報告した。HIV-1 の細胞への感染に際しては、gp120 と CD4 分子が結合することは必要条件ではあるが、それだけでは十分でないことが指摘されている。すなわち HIV-1 感染に関与する細胞側のセカンドレセプターとして、T細胞指向性 HIV-1 は CXCR4⁵⁵⁾、マクロファージ指向性の HIV-1 は CCR5 などのケモカインレセプターが役割をすることが1996年に報告された⁵⁶⁻⁵⁹⁾。興味深いことにT22は、T細胞指向性 HIV-1 の感染を特異的に阻害し、マクロファージ指向性の HIV-1 に対しては抗ウイルス活性がないことが判明した。そこで村上らは、この阻害が HIV-1 と CXCR4 との相互作用の抑制によるものか否かを検討した。すなわち、CD4 と CXCR4 を一過性に発現させた NIH3 T3細胞と HIV-1 Env 発現 HeLa 細胞とを混合培養した細胞融合試験を行った結果、T22はこれを特異的に抑制した。さらに、CXCR4 を一過性に発現させた U87MG.CD

4や HOS.CD4細胞を感染標的細胞とした場合でも、T22は CXCR4 と T細胞指向性 HIV-1 との結合を阻害した。しかし、同様に CCR5 を発現させた細胞にマクロファージ指向性 HIV-1 を感染させた場合には、その結合を阻害しなかった (図10)。さらにT22は、CXCR4 を恒常的に発現している CHO 細胞において、PBSF/SDF-1 による細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇を阻害した。しかし、CCR2Bを発現した CHO 細胞での MCP-1 による細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇には何ら影響を及ぼさなかった⁶⁰⁾。これらの結果から、T22はT細胞指向性 HIV-1 のセカンドレセプターである CXCR4 のアンタゴニストであり、これを介した HIV-1 の細胞内侵入を阻害していることが考えられる。現在われわれは、T22の誘導体である TW70や T134の抗 HIV 活性と CXCR4 アンタゴニスト活性との相関を検討し、その作用機序の詳細な解析を行っている。

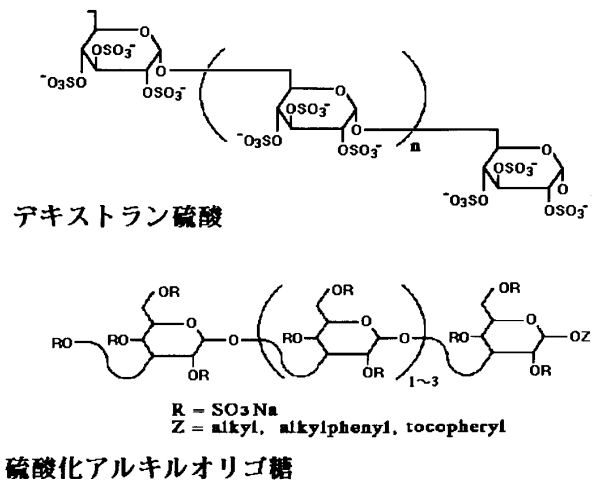


図 8 HIV 吸着阻害物質

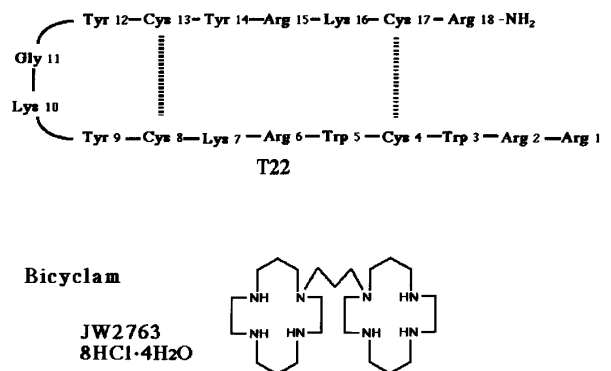


図 9 融合阻害作用をもつ T22 と Bicyclam

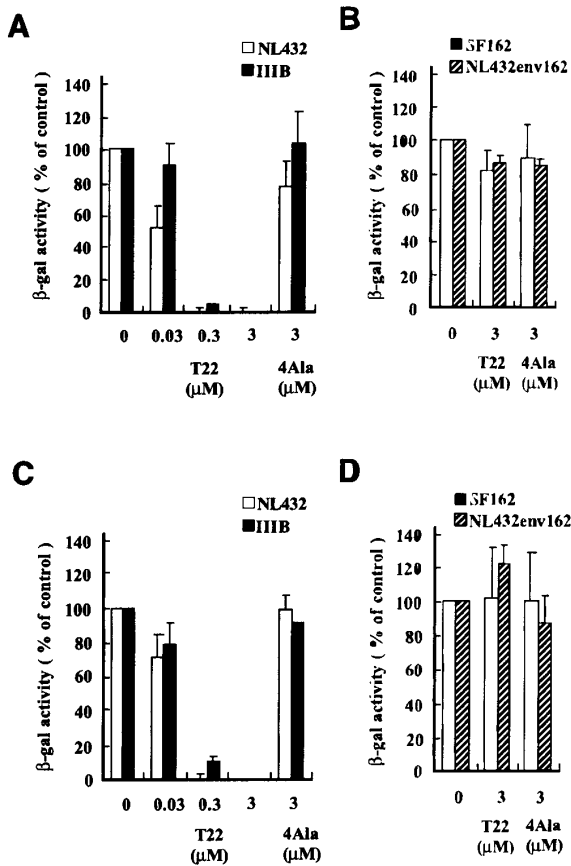


図10 T22のCXCR4 関与 HIV-1 感染の阻害作用。CXCR4 (A) または CCR5 (B) をトランスフェクションした U87MG. CD4 細胞に、それぞれT細胞指向性 HIV-1 (NL432, IIIIB) あるいはマクロファージ指向性 HIV-1 (SF162, NL432env162) を感染させ、T22 またはタキプレシンの4つのCysをAlaに置換した4Ala-T1を加えて培養したときの阻害効果を見た。活性は試験薬を加えていない感染細胞の β -galの発現量を100%とした比率で表した。同様の感染実験をHOS. CD4 細胞にCXCR4 (C) あるいはCCR5 (D) を発現させた細胞でも行った。(文献60から引用)

6) アンチセンスオリゴヌクレオチド

HIV が感染した細胞から、HIV の遺伝子だけを取り除くような手段は現在の分子生物学の知識をもってしても考えられようもない。しかし、HIV の遺伝子の一部の塩基配列と相補的な配列を持つアンチセンスオリゴヌクレオチドを合成して、ウイルス遺伝子の発現を抑制し、その結果として HIV の増殖を特異的に抑制しようとする試みがある。この方法は、HIV や他のウイルス感染症のみならず、癌治療法としても、その応用が期待されている。しかしながら、その前に解決しておかねばならない問題点も多く残っている。まず、長い遺伝子の塩基の並びの中から効果的なター

ゲットとなる部位を選ばなければならない。そして、せっかく合成した塩基の並びをもつヌクレオチドが血液中のヌクレアーゼなどで壊されることなく、標的細胞に到達して、細胞内に取り込まれるように設計しなければならない。また、個体への安全性が明確にされること、低いコストで大量合成が可能となることも重要である。現在、ホスホロチオエート化したオリゴヌクレオチドに抗ウイルス活性が見られることが知られており^{61,62)}、その作用機序の解明や、塩基対特異性と活性との相関、細胞透過性などの基礎研究が進められている⁶³⁾。

7) 遺伝子治療

近年の分子生物学の進歩とともに、遺伝子あるいは遺伝子を組み込んだ細胞を患者の体内に導入し、疾病の治療を試みようとする、遺伝子治療がエイズにも応用されようとしている。すなわち、先にも述べたアンチセンス DNA や遺伝子の発現に必要な蛋白質分子と核酸との結合を阻害するデコイ RNA^{64,65)}、RNA を切断することができる RNA 分子であるリボザイム⁶⁶⁾、抗ウイルス活性をもつ trans dominant mutant 蛋白質の遺伝子などを導入することが考えられている。さらに HIV 感染細胞を特異的に殺傷する目的で、HIV 遺伝子の LTR にジフテリア毒素 (DT) 遺伝子や単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ (HSTK) 遺伝子を連結したものをリンパ球に導入しておく。このリンパ球に HIV が感染してウイルス蛋白質が発現がするとこれらの毒性遺伝子も同様に発現され、DT は直接的に、また HSTK はガンシクロビルを投与することで感染細胞を破壊することが出来る。

Ⅶ. 最新の HIV 研究

エイズという病気が知られてから16年の間のめざましい研究の進歩により、HIV のウイルス学、分子生物学的特徴や発症機構などが解明されてきた。特に1996年には HIV 研究におけるブレイクスルーとも思える2つの大きな発見があった。その1つは、HIV 感染におけるCD4分子以外の吸着・融合に関与する因子、すなわち CXCR4 や CCR5 などのケモカインレセプターがセカンドレセプターとして作用しているという発見である⁵⁵⁻⁵⁹⁾。この発見により、HIV の細胞内侵入機構や病態進行の理解に大きな影響を与えることになった。例えば、HIV にはT細胞に親和性で細胞合胞体形成能が強く、複製能が高いT細胞指向性ウイルスとマクロファージ親和性で細胞合胞体形

成能が乏しいマクロファージ指向性ウイルスがあるが、病態の進行とともに患者から分離されるウイルスがマクロファージ指向性のものからT細胞指向性のものに変化するという謎も明らかになりつつある。また、CCR5の対立遺伝子の両方に32塩基対の欠損異常がある人は、HIV感染に対して抵抗性であるということもわかった⁶⁷⁾。さらにHIV感染に抵抗性を示す人では、βケモカインの産生量が高いという報告もあり、βケモカインやそのレセプターが感染の抵抗性と病態の進行に関係する重要な因子の1つであることがわかってきた。これらの報告から、新しい抗HIV薬の開発が期待されている。すでにβケモカインの一つであるRANTESの誘導体がHIV感染を阻止するという報告⁶⁸⁾やCXCR4、CCR5の発現を抑制することでHIV感染に抵抗性になるようにするという報告がある⁶⁹⁾。また、gp120とケモカインレセプターとの結合部位をワクチンの標的とするといったような研究が進んでいる。

もう1つの大きな研究の成果は、AZTと3TCなどのような逆転写酵素阻害薬2剤とプロテアーゼ阻害薬1剤の3剤併用療法が非常に有効であると報告され、エイズ治療への期待が高まったことである^{70, 71)}。本邦でも昨年からは米国と同様に3剤併用療法が可能となり、これまで死の病と恐れられていたエイズ・HIV感染症も治療可能な感染症の一つとして考えられるような兆しが見えてきた。

Ⅷ. おわりに

エイズ・HIV感染症に関して、その発見から患者の蔓延状況、ウイルス学的な知見、さらにエイズ治療薬の開発状況について述べてみた。エイズという疾患がこれほど身近なものとなり、世界中でその撲滅のための多くの研究者の努力にもかかわらず、いまだ真に有効な治療法が見つかった訳ではない。とはいえ、HIVの増殖機構や免疫破壊機序に関してさらに詳細な解析が続けられており、その研究の進歩にはめざましいものがある。実際この1、2年の間にも、HIV感染に関わるセカンドレセプターの発見や3剤併用療法の有効性が示された。こうした研究の積み重ねが、さらなる感染機構の解明や病態の理解を深めることとなり、予防法や治療法の開発にとっても新しい局面を開かせることになるのであろう。

文 献

1) Gottlieb, M.S., Schroff, R., Schanker, H.M.,

- Weisman, J.D., Fan, P.T., Wolf, R.A. & Saxon, A.: Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men; evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *New Engl. J. Med.*, 305, 1425-1431, 1981
- 2) Masur, H., Michelis, M.A., Greene, J.B., Onorato, I., Stouwe, R.A., Holzman, R.S., Wormser, G., Brettman, L., Lange, M., Murray, H.W. & Cunningham-Rundles, S.: An outbreak of community-acquired pneumocystis carinii pneumonia; initial manifestation of cellular immune dysfunction. *New. Engl. J. Med.*, 305, 1431-1438, 1981
- 3) Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W. & Montagnier, L.: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, 220, 868-871, 1983
- 4) Popovic, M., Sarngadharan, M.G., Read, E. & Gallo, R.C.: Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science*, 224, 497-500, 1984
- 5) Levy, J.A., Hoffman, A.D., Kramer, S.M., Landis, J.A., Shimabukuro, J.M. & Oshiro, L.S.: Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science*, 225, 840-842, 1984
- 6) Clavel, F., Guetard, D., Brun-Vezinet, F., Chamaret, S., Rey, M.A., Santos-Ferreira, M.O., Laurent, A.G., Dauguet, C., Katlama, C., Rouzioux, C., Klatzmann, D., Champalimaud, J.L. & Montagnier, L.: Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*, 223, 343-346, 1986
- 7) WHO: AIDS-Global data. The current global situation of the HIV/AIDS pandemic. *Weekly Epidemiological Record*, 68, 193-196, 1993
- 8) Cullen, B.R.: Regulation of human immunodeficiency virus replication. *Annu. Rev. Microbiol.*, 45, 219-250, 1991

- 9) Siomi, H., Shida, H., Maki, M. & Hatanaka, M.: Effects of a highly basic region of human immunodeficiency virus Tat protein on nuclear localization. *J Virol.*, 64, 1803-1807, 1990
- 10) Pomerantz, R.J., Trono, D., Feinberg, M.B. & Baltimore, D.: Cells nonproductively infected with HIV-1 exhibit an aberrant pattern of viral RNA expression: a molecular for latency. *Cell*, 61, 1271-1276, 1990
- 11) Gilmore, T.D.: NF-kappaB. KFB1, dorsal and related matters. *Cell*, 62, 841-843, 1990
- 12) De Clercq, E.: New promising inhibitors of the human immunodeficiency virus. *Antimicrob. Agents: Viral*, 2, 401-410, 1989
- 13) Haseltine, W.A.: Replication and pathogenesis of the AIDS virus. *J. Acquir. Immune Deficiency Syndromes*, 1, 217-240, 1988
- 14) Klatzmann, D., Barre-Sinoussi, F., Nugeyre, M.T., Danquet, C., Vilmer, E., Griscelli, C., Brun-Veziret, F., Rouzioux, C., Gluckman, J.C., Chermann, J.C. & Montagnier, L.: Selective tropism of lymphadenopathy-associated virus (LAV) for helper-inducer lymphocytes. *Science*, 225, 59-63, 1984
- 15) Dalgleish, A.G., Beverley, P.C., Clapham, P.R., Crawford, D.H., Greaves, M.F. & Weiss, R.A.: The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, 312, 763-767, 1984
- 16) McDougal, J.S., Mawle, A., Cort, S.P., Nicholson, J.K., Cross, G.D., Scheppler-Campbell, J.A., Hicks, D. & Sligh, J.: Cellular tropism of the human retrovirus HTLV-III/LAV. I. Role of T cell activation and expression of the T4 antigen. *J. Immunol.*, 135, 3151-3162, 1985
- 17) Ho, D.D., Neumann, A.U., Perelson, A.S., Chen, W., Leonard, J.M. & Markowitz M.: Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature*, 373, 123-126, 1995
- 18) Levy, J.A.: Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol. Rev.*, 57, 183-289, 1993
- 19) Koga, Y., Sasaki, M., Yoshida, H., Wigzell, H., Kimura, G. & Nomoto, K.: Cytopathic effect determined by the amount of CD4 molecules in human cell lines expressing envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus. *J. Immunol.*, 144, 94-102, 1990
- 20) Lyerly, H.K., Matthews, T.J., Langlois, A.J., Bolognesi, D.P. & Weinhold, K.J.: Human T-cell lymphotropic virus IIIB glycoprotein (gp120) bound to CD4 determinates on normal lymphocytes and expressed by infected cells serve as target for immune attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 4601-4605, 1987
- 21) Banda, N.K., Bernier, J., Kurahara, D.K., Kurrle, R., Haigwood, N., Sekaly, R.P. & Finkel, T.H.: Crosslinking CD4 by human immunodeficiency virus gp120 primes T cells for activation-induced apoptosis. *J. Exp. Med.*, 176, 1099-1106, 1992
- 22) Cameron, P.U., Freudenthal, P.S., Barker, J.M., Gezelter, S., Inaba, K. & Steinman, R.M.: Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type-1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4+ T cells. *Science*, 257, 383-387, 1992
- 23) Mitsuya, H., Weinhold, K.J., Furman, P.A., St Clair, M.H., Lehrman, S.N., Gallo, R.C., Bolognesi, D., Barry, D.W. & Broder, S.: 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BWA509A): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 7096-7100, 1985
- 24) Nakashima, H., Matsui, T., Harada, S., Kobayashi, N., Matsuda, A., Ueda, T. & Yamamoto, N.: Inhibition of replication and cytopathic effect of human T cell lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus by 3'-azido-3'-deoxythymidine in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30, 933-937, 1986
- 25) Mitsuya, H. & Broder, S.: Inhibition of the in vitro infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus (HTLV-III / LAV) by 2', 3'-dideoxynucleosides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 1911-1915, 1986
- 26) Hamamoto, Y., Nakashima, H., Matsui, T.,

- Matsuda, A., Ueda, T. & Yamamoto, N.: Inhibitory effect of 2', 3' -dideoxy-2', 3'-dideoxynucleosides on infectivity, cytopathic effects, and replication of human immunodeficiency virus. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 907-910, 1987
- 27) Coates, J.A., Cammack, N., Jenkinson, H.J., Jowett, A.J., Jowett, M.I., Pearson, B.A., Penn, C.R., Rouse, P.L., Viner, K.C. & Cameron, J.M.: (-)-2'-deoxy-3'-thiacytidine is a potent, highly selective inhibition of human immunodeficiency virus type 1 and type 2 replication in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 36, 733-739, 1992
- 28) Furman, P.A., Fyfe, J.A., St Clair, M.H., Weinhold, K., Rideout, J.L., Freeman, G.A., Lehrman, S.N., Bolognesi, D.P., Broder, S., Mitsuya, H. & Barry, D.W.: Phosphorylation of 3'-azido-3'-deoxythymidine and selective interaction of the 5'-triphosphate with human immunodeficiency virus reverse transcriptase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 8333-8337, 1986
- 29) Yarchoan, R., Klecker, R.W., Weinhold, K.J., Markham, P.D., Lyerly, H.K., Durack, D.T., Gelmann, E., Lehrman, S.N., Blum, R.M. & Barry, D.W.: Administration of 3'-azido-3'-deoxythymidine, an inhibitor of HTLV-IIIb/LAV replication, to patients with AIDS or AIDS-related complex. *Lancet* i, 575-580, 1986
- 30) Richman, D.D., Fischl, M.A., Grieco, M.H., Gottlieb, M.S., Volberding, P.A., Laskin, O.L., Leedom, J.M., Groopman, J.E., Mildvan, D. & Hirsch, M.S.: The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N. Engl. J. Med.*, 317, 192-197, 1987
- 31) Larder, B.A., Darby, G. & Richman, D.D.: HIV with reduced sensitivity to zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. *Science*, 243, 1731-1734, 1989
- 32) Balzarini, J., Baba, M., Pauwels, R., Herdewijn, P. & De Clercq, E.: Anti-retrovirus activity of 3'-fluoro- and 3'-azido-substituted pyrimidine 2', 3' -dideoxynucleoside analogues. *Biochem. Pharmacol.*, 37, 2847-2856, 1988
- 33) De Clercq E.: Broad-spectrum anti-DNA virus and anti-retrovirus activity of phosphonylmethoxyalkylpurines and -pyrimidines. *Biochem. Pharmacol.*, 42, 963-972, 1991
- 34) Merluzzi, V.J., Hargrave, K.D., Labadia, M., Grozinger, K., Skoog, M., Wu, J.C., Shih, C.K., Eckner, K., Hattox, S. & Adams, J.: Inhibition of HIV-1 replication by a nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor. *Science*, 250, 1411-1413, 1990
- 35) Pauwels, R., Andries, K., Desmyter, J., Schols, D., Kukla, M.J., Breslin, H.J., Raeymaeckers, A., Van Gelder, J., Woestenborghs, R., Heykants, J., De Clercq, E. & Janssen, P.A.J.: Potent and selective inhibition of HIV-1 replication in vitro by a novel series of tetrahydro-imidazo [4,5,1-jk] [1,4]-benzodiazepin-2 (1H) -one and thion (TIBO) derivatives. *Nature*, 343, 470-474, 1990
- 36) Baba, M., De Clercq, E., Tanaka, H., Ubasawa, M., Takashima, H., Sekiya, K., Nitta, I., Umezu, K., Nakashima, H., Mori, S., Shigeta, S., Walker, R.T. & Miyasaka, T.: Potent and selective inhibition of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) by 5-ethyl-6-phenylthiouracil derivatives through their interaction with the HIV-1 reverse transcriptase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 2356-2360, 1991
- 37) Goldman, M.E., Nunberg, J.H., O'Brien, J.A., Quintero, J.C., Schleif, W.A., Freund, K.F., Gaul, S.L., Saari, W.S., Wai, J.S. & Hoffman, J.M.: Pyridinone derivatives: specific human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitors with antiviral activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 6863-6867, 1991
- 38) Romero, D.L., Busso, M., Tan, C.K., Reusser, F., Palmer, J.R., Poppe, S.M., Aristoff, P.A., Downey, K.M., So, A.G. & Resnick, L.: Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors that potently and specifically block human immunodeficiency virus type 1 replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 8806-8810, 1991
- 39) Balzarini, J., Perez-Perez, M.J., San-Felix,

- A., Schols, D., Perno, C.F., Vandamme, A.M., Camarasa, M.J. & De Clercq, E.: 2',5'-Bis-O- (tert-butylidimethylsilyl) -3'-spino-5"- (4"-amino-1",2"-oxathiole-2",2"-dioxide) pyrimidine (TSAO) nucleoside analogues: highly selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 that are targeted at the viral reverse transcriptase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 4392-4396, 1992
- 40) Chow, Y.K., Hirsch, M.S., Merrill, D.P., Bechtel, L.J., Eron, J.J., Kaplan, J.C. & D'Aquila, R.T.: Use of evolutionary limitations of HIV-1 multidrug resistance to optimize therapy. *Nature*, 361: 650-654, 1993.
- 41) Roberts, N.A., Martin, J.A., Kinchington, D., Broadhurst, A.V., Craig, J.C., Duncan, I.B., Galpin, S.A., Handa, B.K., Kay, J. & Krohn, A.: Rational design of peptide-based HIV proteinase inhibitor. *Science*, 248, 358-361, 1990
- 42) Craig, J.C., Grief, C., Mills, J.S., Hocceckley, D., Duncan, I.B. & Roberts, N.A.: Effects of a specific inhibitor of HIV protease (Ro 31-8959) on virus maturation in a chronically infected promonocytic cell line (U1). *Antiviral Chemis. Chemother.*, 2, 181-186, 1991
- 43) Kageyama, S., Weinstein, J.N., Shirasaka, T., Kempf, D.J., Norbeck, D.W., Plattner, J.J., Erickson, J. & Mitsuya, H.: In vitro inhibition of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 replication by C2 symmetry-based HIV protease inhibitors as single agents or in combinations. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 36, 926-933, 1992
- 44) Meek, T.D., Lambert, D.M., Dreyer, G.B., Carr, T.J., Tomaszek, T.A. Jr, Moore, M.L., Strickler, J.E., Debouck, C., Hyland, L.J. & Matthews, T.J.: Inhibition of HIV-1 protease in infected T-lymphocytes by synthetic peptide analogues. *Nature*, 343, 90-92, 1990
- 45) McQuade, T.J., Tomasselli, A.G., Liu, L., Karacostas, V., Moss, B., Sawyer, T.K., Heinrikson, R.L. & Tarpley, W.G.: A synthetic HIV-1 protease inhibitor with antiviral activity arrests HIV-like particle maturation. *Science*, 247, 454-456, 1990
- 46) Nakashima, H., Yoshida, O., Tochikura, T.S., Yoshida, T., Mimura, T., Kido, Y., Motoki, Y., Kaneko, Y., Uryu, T. & Yamamoto N.: Sulfation of polysaccharides generates potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus infection and replication in vitro. *Jpn. J. Cancer. Res. (Gann)*, 78, 1164-1168, 1987
- 47) Baba, M., Pauwels, R., Balzarini, J., Arnout, J., Desmyter, J. & De Clercq, E.: Mechanism of inhibitory effect of dextran sulfate and heparin on replication of human immunodeficiency virus in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 6132-6136, 1988
- 48) Abrams, D.I., Kuno, S., Wong, R., Jeffords, K., Nash, M., Molaghan, J.B., Gorter, R. & Ueno, R.: Oral dextran sulfate (UA001) in the treatment of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *Ann. Intern. Med.*, 110, 183-188, 1989
- 49) Kaneko, Y., Yoshida, O., Nakagawa, R., Yoshida, T., Date, M., Ogihara, S., Shioya, S., Matsuzawa, Y., Nagashima, N., Irie, Y. & Yamamoto, N.: Inhibition of HIV-1 infectivity with curdlan sulfate in vitro. *Biochem. Pharmacol.*, 39, 793-797, 1990
- 50) Uryu, T., Ikushima, N., Katsuraya, K., Shoji, T., Takahashi, N., Yoshida, T., Kanno, K., Murakami, T., Nakashima, H. & Yamamoto, N.: Sulfated alkyl oligosaccharides with potent inhibitory effects on human immunodeficiency virus infection. *Biochem. Pharmacol.*, 43, 2385-2392, 1992
- 51) Nakashima, H., Inazawa, K., Ichiyama, K., Ito, M., Ikushima, N., Shoji, T., Katsuraya, K., Uryu, T., Yamamoto, N., Juodawlkis, A.S. & Schinazi, R.F.: Sulfated alkyl oligosaccharides inhibit human immunodeficiency virus in vitro and provide sustained drug levels in mammals. *Antiviral Chem. Chemother.*, 6, 271-280, 1995
- 52) Nakashima, H., Ichiyama, K., Hirayama, F., Uchino, K., Ito, M., Saitoh, T., Ueki, M., Yamamoto, N. & Ogawara, H.: Sulfated pentagalloyl glucose (Y-ART-3) inhibits HIV

- replication and cytopathic effects in vitro, and reduces HIV infection in hu-PBL-SCID mice. *Antiviral Res.*, 30, 95-108, 1996
- 53) Nakashima, H., Masuda, M., Murakami, T., Koyanagi, Y., Matsumoto, A., Fujii, N. & Yamamoto, N.: Anti-human immunodeficiency virus activity of a novel synthetic peptide, T22 ([Tyr-5,12, Lys-7] polyphemusin II): a possible inhibitor of virus-cell fusion. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 36, 1249-1255, 1992
- 54) De Clercq, E., Yamamoto, N., Pauwels, R., Baba, M., Schols, D., Nakashima, H., Balzarini, J., Debyser, Z., Murrer, B.A. & Schwartz, D.: Potent and selective inhibition of human immunodeficiency virus (HIV)-1 and HIV-2 replication by a class of bicyclams interacting with a viral uncoating event. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 5286-5290, 1992
- 55) Feng, Y., Broder, C.C., Kennedy, P.E. & Berger, E.A.: HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*, 272, 872-877, 1996
- 56) Dragic, T., Litwin, V., Allaway, G.P., Martin, S.R., Huang, Y., Nagashima, K.A., Cayanan, C., Maddon, P.J., Koup, R.A., Moore, J.P. & Paxton, W.A.: HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature*, 381, 667-673, 1996
- 57) Choe, H., Farzan, M., Sun, Y., Sullivan, N., Rollins, B., Ponath, P.D., Wu, L., Mackay, C.R., LaRosa, G., Newman, W., Gerard, N., Gerard, C. & Sodroski, J.: The beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell*, 85, 1135-1148, 1996
- 58) Doranz, B.J., Rucker, J., Yi, Y., Smyth, R.J., Samson, M., Peiper, S.C., Parmentier, M., Collman, R.G. & Doms, R.W.: A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusion and the beta-chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactors. *Cell*, 85, 1149-1158, 1996
- 59) Deng, H., Liu, R., Ellmeier, W., Choe, S., Unutmaz, D., Burkhart, M., Di Marzio, P., Marmon, S., Sutton, R.E., Hill, C.M., Davis, C.B., Peiper, S.C., Schall, T.J., Littman, D.R. & Landau, N.R.: Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*, 381, 661-666, 1996
- 60) Murakami, T., Nakajima, T., Koyanagi, Y., Tachibana, K., Fujii, N., Tamamura, H., Yoshida, N., Waki, M., Matsumoto, A., Yoshie, O., Kishimoto, T., Yamamoto, N. & Nagasawa, T.: A small molecule CXCR4 inhibitor that blocks T cell line-tropic HIV-1 infection. *J. Exp. Med.*, 186, 1389-1393, 1997
- 61) Matsukura, M., Zon, G., Shinozuka, K., Robert-Guroff, M., Shimada, T., Stein, C.A., Mitsuya, H., Wong-Staal, F., Cohen, J.S. & Broder, S.: Regulation of viral expression of human immunodeficiency virus in vitro by an antisense phosphorothioate oligodeoxynucleotide against rev (art / trs) in chronically infected cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 4244-4248, 1989
- 62) Kim, S.G., Suzuki, Y., Nakashima, H., Yamamoto, N. & Takaku, H.: Phosphorothioate analogues of oligodeoxyribonucleotide: synthesis and activity as inhibitors of replication of human immunodeficiency virus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 179, 1614-1619, 1991
- 63) Nakashima, H., Shoji, Y., Kim, S.G., Shimada, J., Mizushima, Y., Ito, M., Yamamoto, N. & Takaku H.: Anti-human Immunodeficiency virus type 1 activity of phosphorothioate analogs of oligodeoxynucleotides: penetration and localization of oligodeoxynucleotides in HIV-1-infected MOLT-4 cells. *Nucleic Acids Res.*, 22, 5004-5010, 1994
- 64) Sullenger, B.A., Gallardo, H.F., Ungers, G.E. & Gilboa, E. : Overexpression of TAR sequences renders cells resistant to human immunodeficiency virus replication. *Cell*, 63, 601-608, 1990.
- 65) Lee, S.W., Gallardo, H.F., Gilboa, E. & Smith, C.: Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 in human T cells by a potent Rev response element decoy consisting of the 13-nucleotide minimal Rev-binding domain. *J. Virol.*, 68, 8254-8264, 1994
- 66) Ojwang, J.O., Hampel, A., Looney, D.J.,

- Wong-Staal, F. & Rappaport, J.: Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 expression by a hairpin ribozyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 10802-10806, 1992
- 67) Dean, M., Carrington, M., Winkler, C., Huttley, G.A., Smith, M.W., Allikmets, R., Goedert, J.J., Buchbinder, S.P., Vittinghoff, E., Gomperts, E., Donfield, S., Vlahov, D., Kaslow, R., Saah, A., Rinaldo, C., Detels, R. & O'Brien, S.J.: Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. *Science*, 273, 1856-1862, 1996
- 68) Simmons, G., Clapham, P.R., Picard, L., Offord, R.E., Rosenkilde, M.M., Schwartz, T.W., Buser, R., Wells, T.N.C. & Proudfoot, A.E.: Potent inhibition of HIV-1 infectivity in macrophages and lymphocytes by a novel CCR5 antagonist. *Science*, 276, 276-279, 1997
- 69) Yang, A.G., Bai, X., Huang, X.F., Yao, C. & Chen, S.: Phenotypic knockout of HIV type 1 chemokine coreceptor CCR-5 by intrakines as potential therapeutic approach for HIV-1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 11567-11572, 1997
- 70) Autran, B., Carcelain, G., Li, T.S., Blanc, C., Mathez, D., Tubiana, R., Katlama, C., Debre, P. & Leibowitch, J.: Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science*, 277, 112-116, 1997
- 71) Finzi, D., Hermankova, M., Pierson, T., Carruth, L.M., Buck, C., Chaisson, R.E., Quinn, T.C., Chadwick, K., Margolick, J., Brookmeyer, R., Gallant, J., Markowitz, M., Ho, D.D., Richman, D.D. & Siliciano, R.F.: Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science*, 278, 1295-1300, 1997