

第5回 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞受賞研究

ケモカインレセプターを介して抗 HIV 作用を発揮する新規抗 HIV 剤の研究

Research for Novel Anti-HIV Agents Which Inhibit R5 HIV-1
through Their Antagonistic Effects on CCR5

前田 賢次

Kenji MAEDA

熊本大学大学院医学薬学研究部血液内科学

Department of Hematology, Kumamoto University Graduate School of Medicine
(現, National Cancer Institute, National Institutes of Health, USA)

日本エイズ学会誌 7 : 110-116, 2005

はじめに

第5回日本エイズ学会 ECC 山口メモリアル研究奨励賞受賞の背景となった研究について報告する。なお、以下の研究は熊本大学大学院医学薬学研究部血液内科学にて実施したものである。

新しい抗エイズ薬開発の必要性

AIDS (後天性免疫不全症候群) に対する抗 HIV (ヒト免疫不全ウイルス) 薬を用いた化学療法 (多剤併用療法, HAART) は一定の成果を挙げているが, 副作用, 大量・煩瑣な服薬, 薬剤耐性変異株の出現など課題が山積しており, 初期的な成果を挙げた化学療法は 1990 年代後半には大きなターニングポイントを迎えていたといえる。そのような中で, 現存の抗 HIV 剤 (逆転写酵素阻害剤・プロテアーゼ阻害剤) の併用で薬剤耐性変異株の出現を抑制するレジメンの工夫がされると共に, 薬剤耐性変異株にも強力な活性を示し, かつ薬剤耐性発現の起こりにくい新規の薬剤の開発が進められている^{1,2)}。現在の AIDS 治療の 2 本柱の 1 つである逆転写酵素阻害剤 (RTIs) には RT (逆転写酵素) の本来の基質 (核酸) と競合的に作用するヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤 (NRTIs) と, 活性中心近傍に結合して基質を非競合的に阻害する非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤 (NNRTIs) が含まれる。一方, プロテアーゼ阻害剤 (PIs) は HIV プロテアーゼの働きを阻害し, ウイ

著者連絡先: Kenji Maeda, M.D., Ph. D.

Experimental Retrovirology Section, HIV & AIDS
Malignancy Branch
National Cancer Institute, National Institutes of
Health
Building 10/5A11, 9000 Rockville Pike, Bethesda,
MD 20892, USA
Fax: +1-301-402-0709

2005 年 5 月 24 日受付

ルス粒子の成熟をブロックすることによって抗ウイルス活性を発揮する。さらに新しい作用機序を有する抗 HIV 剤としては, 1) ウイルスの細胞への接着・侵入の過程を阻害する薬剤 (侵入阻害剤), 2) ウイルス DNA の宿主 DNA への組み込みを阻害する薬剤 (インテグラーゼ阻害剤), 3) ウイルスのパッケージング・出芽の過程に作用する薬剤などが考えられており, 特に侵入阻害剤については既にいくつかの薬剤が臨床応用・臨床試験の段階まで進んでおり, 著者らも HIV 侵入阻害剤の 1 つであるケモカインレセプター阻害剤の研究を日本で進めてきた。HIV は, 標的細胞に接着・侵入する際, CD4 分子以外にケモカインレセプターと呼ばれる分子をコレセプターとして用いるが, CCR5 はそのケモカインレセプターの 1 つであり, R5-HIV (マクロファージ指向性 HIV) といわれる HIV の感染に必須であるとされる。本稿では CCR5 を標的として HIV を抑制する CCR5 阻害剤の研究について述べる。

ケモカインレセプター阻害剤とは

HIV 細胞への侵入はまず HIV の外套蛋白である gp120 が細胞表面の CD4 と結合することで始まる。結合により gp120 の構造変化が起こり, セカンドレセプター (コレセプター) であるケモカインレセプターと結合, その結果, ウイルス糖蛋白 gp41 がその表面に直接暴露されて, gp41 の先端が標的細胞膜上に挿入され, gp41 中に存在する 2 つのヘリカルループ部位 (HR1/HR2) が会合してヘアピンループを形成しウイルス外殻は宿主細胞膜に融合, ウイルスの内容物が細胞内に送り込まれて完了するとされている。ケモカインレセプターは GPCR (G 蛋白共役型受容体) ファミリーに属する。GPCR には β アドレナリン受容体など生体に重要な役割をしているものが多く含まれており, 各種の作用を有する薬剤のターゲットとして重要である。これまでに各種のケモカインレセプター (CXCR2・

CCR2・CCR3・CCR5 など) が慢性関節リウマチ, 動脈硬化, 気管支喘息, 移植拒絶反応などへ関与していると考えられており, これらを阻害することによる治療法の研究が進められている。HIV に関しては 1996 年に CCR5 や CXCR4 としたケモカインレセプターが HIV のコレセプターとして重要な役割を果たしていることが明らかとなった。CCR5 は R5 ウイルス (マクロファージ指向性 HIV) に分類される HIV のコレセプターで, R5 ウイルスは感染初期から AIDS 発症後まで継続して見られる。それに対して CXCR4 は X4 ウイルスという病期の比較的後期に出現する HIV が用いるコレセプターである。

CCR5 については, 白人の約 1% に見られる CCR5 を欠損した個体 (CCR5 Δ 32) が HIV の感染に抵抗性であると報告され³⁾, しかもそのような CCR5 欠損の個体が一見健康であるという観察から CCR5 は dispensable でありターゲットとして理想的であるとして CCR5 阻害剤の開発が進められてきた。

進められてきた。

CCR5 阻害剤 : spirodiketopiperazine (SDP) 誘導体の同定

本研究では CCR5 とその生理的リガンドである CC-chemokine (MIP-1) との結合を阻害する化合物のスクリーニングを, ケモカインの binding assay および Ca^{2+} flux inhibition assay で行った。その結果, CCR5 結合能を有する一連の化合物 : spirodiketopiperazine (SDP) 誘導体を同定, プロトタイプ化合物である E910, E913 (図 1)⁴⁾ のいずれも MIP-1 α の CCR5-CHO 細胞への結合を阻害したが, MCP-1 の CCR2 発現細胞への結合には影響を与えなかった (図 2)。一方細胞内カルシウム移行阻害能について, E913 は MIP-1 α (CCR5) の起こす反応は阻害したが, MDC (CCR4), SDF-1 α (CXCR4), さらに MCP-1 (CCR2) によって引き起こされるカルシウム移行には影響を与えな

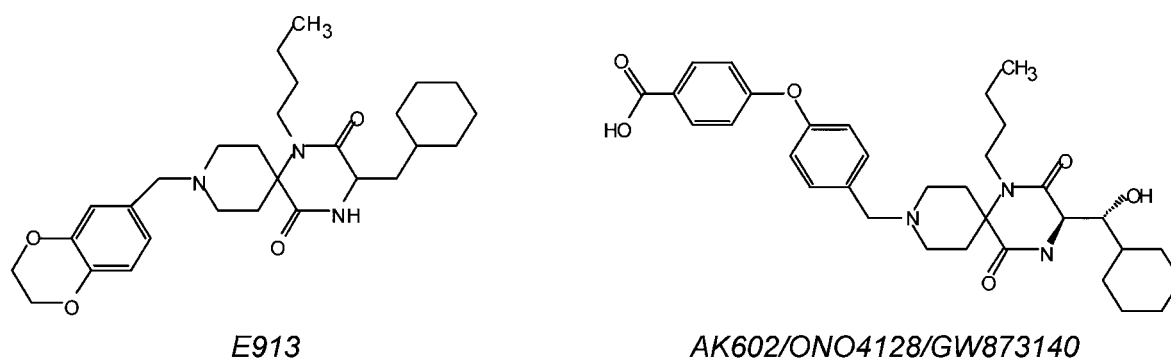


図 1 Spirodiketopiperazine (SDP) 誘導体 (CCR5 阻害剤)

E913 と AK602 はいずれも spirodiketopiperazine 構造を基本骨格に持つ CCR5 阻害剤である。

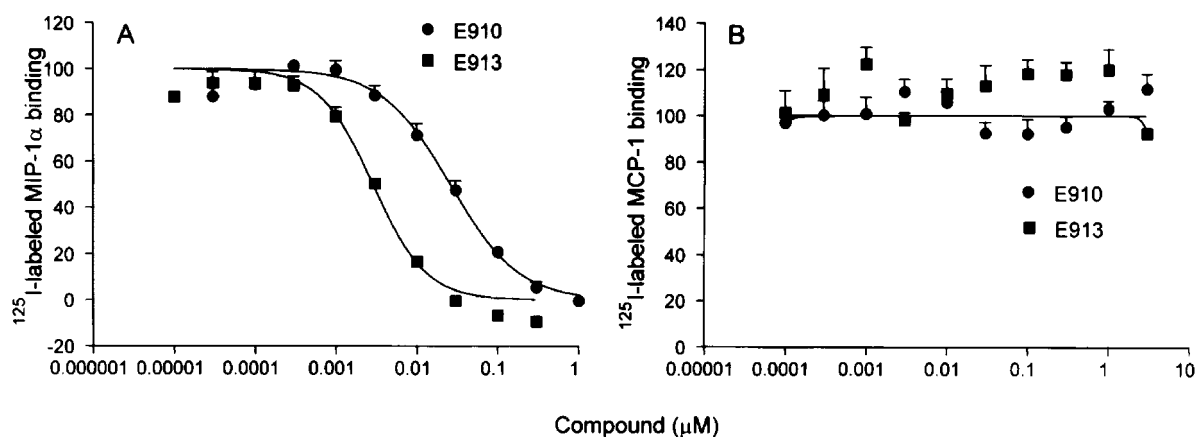


図 2 SDP 誘導体は CCR5 と MIP-1 α の結合を阻害する

¹²⁵I-ラベルしたケモカインとケモカインレセプターの結合阻害実験で SDP 誘導体はケモカイン (MIP-1 α) と CCR5 の結合を阻害したが (左図), CCR2 とケモカイン (MCP-1) の結合は阻害しなかった (右図)。

かった (図3)。さらに SDP 誘導体自身のアゴニスト作用の有無について、chemotaxis 誘発能、とカルシウム細胞内移行能で検討したがいずれもアゴニスト作用を認めなかった (data not shown)。

SDP 誘導体の抗 HIV 活性

我々は、E913 について、HIV-1_{BaL} (R5 HIV-1) and HIV-1_{NL4-3} (X4 HIV-1) などの HIV-1 実験室株での活性の検討を行った。活性を求める方法としては PHA で刺激した

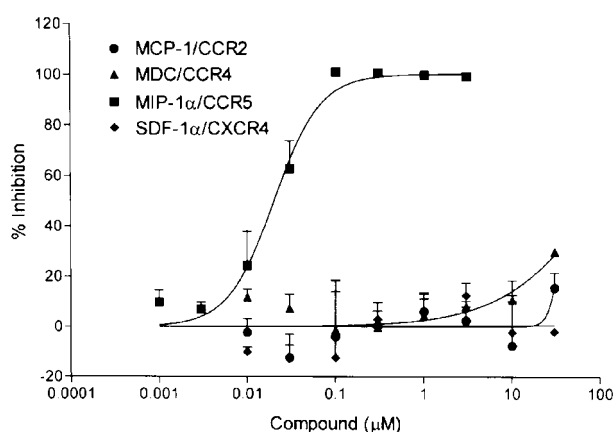


図 3 E913 は CCR5 を介したケモカインの Ca^{2+} 移行を阻害する

ケモカインレセプターとケモカインが結合すると細胞内への Ca^{2+} 移行 (フラックス流入) が起こるが、E913 は CCR5 による Ca^{2+} 移行のみを抑制した。

PBM を用いる p24 アッセイを用いた。E913 は R5 ウイルスである HIV-1_{BaL} および HIV-1_{JRFL} などに対して抗 HIV 効果を認めた (表 1)。既存の抗 HIV 剤 (逆転写酵素阻害剤: RTIs, プロテアーゼ阻害剤: PIs) に耐性を示すウイルス株についての検討も行った。今回用いた薬剤耐性臨床分離株は米国で多数 (9~11 種類) の抗 HIV 剤を含む多剤併用療法を長期間受け、すでにあらゆる治療に対して効果を示さなくなった AIDS 患者より分離され、いずれも RT 領域、PR 領域に多数の耐性変異を有しており、*in vitro* でも各種の抗 HIV 剤に耐性を示していた⁵⁾。今回の検討でもこれらの薬剤耐性株はいずれも AZT, NFV (nelfinavir), SQV (saquinavir) に対して耐性を認めたが、E913 は R5 の耐性ウイルスである HIV-1_{JSL} と HIV-1_{MM} について、薬剤感受性を示す臨床分離株である R5 HIV-1_{MOKW} とほぼ同様の活性を維持していた (表 1)。その後、我々は optimization を進め、抗 HIV 活性と薬物動態を大きく改善させた AK602/ONO4128/GW873140 (図 1)⁶⁾ を同定した。AK602 は E913 より各 R5 ウイルスに対して 100~800 倍抗 HIV 活性に優れており、E913 と同様に多剤耐性臨床分離 R5-HIV 株に対しても薬剤感受性株と同様の抗 HIV 活性を発揮した (表 1)。一方で、E913 および AK602 は HIV-1_{NL4-3} (X4 HIV-1) には効果を認めず、これは異なる構造を有する CCR5 阻害剤 (TAK-779 および SCH-C)^{7,8)} でも同様の特徴であった。それに対して CXCR4 阻害剤である AMD-3100 は X4 HIV である HIV-1_{NL4-3} を抑制したが、R5 の各種 HIV-1 株の抑制効果はなかった (表 1)。またケモカインと HIV の関連について CC-chemokine が X4 ウイルスの増殖を促進、あるいは SDF-1 が R5 ウイルスの増殖を助長するとの報告があるが⁹⁾、E913 および他の SDP 誘導体は 1

表 1 CCR5 阻害剤の抗 HIV 活性

compound	IC ₅₀ value ^a in p24 assay (nM) ^a					
	HIV-1 _{BaL} (R5)	HIV-1 _{JR-FL} (R5)	HIV-1 _{MOKW} ^b (R5)	HIV-1 _{MM} ^b (R5 _{MDR})	HIV-1 _{JSL} ^b (R5 _{MDR})	HIV-1 _{NL4-3} (X4)
AK602	0.4	0.1	0.2	0.6	0.4	>1000
E913	82	81	51	61	64	>1000
TAK-779	28	5	11	14	7	>1000
SCH-C	4	2	2	3	2	>1000
AZT	7	10	6	250	70	11
NFV	12	n.d.	14	>1000	>1000	20
SQV	11	n.d.	5	300	350	10
AMD-3100	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	6

^a IC₅₀ value : ウイルスの増殖を 50% 抑制する薬剤濃度

^b HIV-1_{MOKW} は未治療の HIV 陽性患者から分離された HIV 株、HIV-1_{MM} と HIV-1_{JSL} は臨床的に薬剤耐性を示す患者から分離された株

μM まで濃度を上げて増殖促進効果は認めなかった (data not shown)。E913はPHA-PBMに対する細胞毒性が低く、薬剤としての有効濃度の範囲を示す selectivity index (SI) は1295であったが、AK602は更にSIが20万以上とさきわめて広い有効濃度範囲を示した (data not shown)。

CCR5 阻害剤の作用機序の構造学的解析

CCR5 阻害剤は CCR5 に結合することで HIV の感染を阻害するが、同時に CCR5 の生理的リガンドである CC-ケモカインの作用も阻害する。上述の通り、生来 CCR5 を欠損した個体 (CCR5 $\Delta 32$) は一見健康であるが、最近これらの人々の中にウイルス感染に対する免疫応答や臓器移植時の拒絶反応に異常を認めるという報告も認められ^{10,11)}、特に CCR5 を持つ個体の CCR5 の働きを完全に阻害することで、何らかの未知の副作用が現れる可能性は否定できない。そこで CCR5 に結合するケモカイン自身が持つ本来の機能 (化学遊走能など) と HIV 阻害作用の関連を変異ケモカインを作製して検討したところケモカインの NH_2 ループの修飾を最適化することで、ケモカインの結合能を大きく変更することなく抗 HIV 作用のみが増強されることが明らかとなり¹²⁾、この結果からは抗 HIV 活性のみに特化した CCR5 阻害剤開発の可能性が考えられた。さらに AK602 の抗 HIV 活性とケモカイン阻害作用との関連を詳しく検討したところ、AK602 は非常に強力な CCR5 に対する結合親和性 (K_D 値: $\sim 3\text{nM}$) を持ちながら (図4)、ケモカイン (RANTES) の CCR5 への結合にはわずかしか影響を与えないことが分かり (図5)、CCR5 を介した生理作用を抑制することで生じる副作用が AK602 では少ない可能性が示唆された。

このような特徴を構造学的に解析するために、我々は複

数の変異 CCR5 発現細胞等を用いて CCR5 阻害剤と CCR5 との詳細な結合部位の解析を行った。その結果、AK602 は CCR5 の膜貫通ドメインの表層の一部に存在する疎水性ポケットと第二細胞外ループの一部に結合しており (図6)、他の構造を有する CCR5 阻害剤である TAK-779 や SCH-C^{7,8)} の結合様式とは若干異なることが明らかとなった (投稿準備中)。これらの結果は構造の異なる CCR5 阻害剤の結合様式がそれぞれに異なっており、併用の場合の抗ウイルス効果を予測する基礎データとなると思われる。また、このような構造学的検討を更に進めることで CCR5

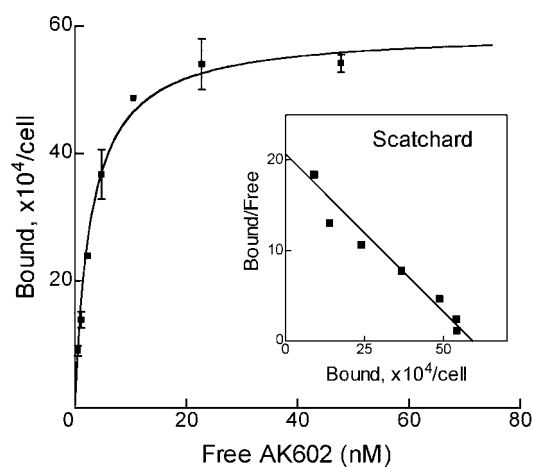


図4 AK602はCCR5に対する強力な結合親和性を持つ

^3H ラベルしたAK602とCCR5強発現細胞株を用いてAK602の結合親和性を求めたところ、AK602は強力なCCR5への結合親和性 (K_D 値: 2.9nM) を有していた。

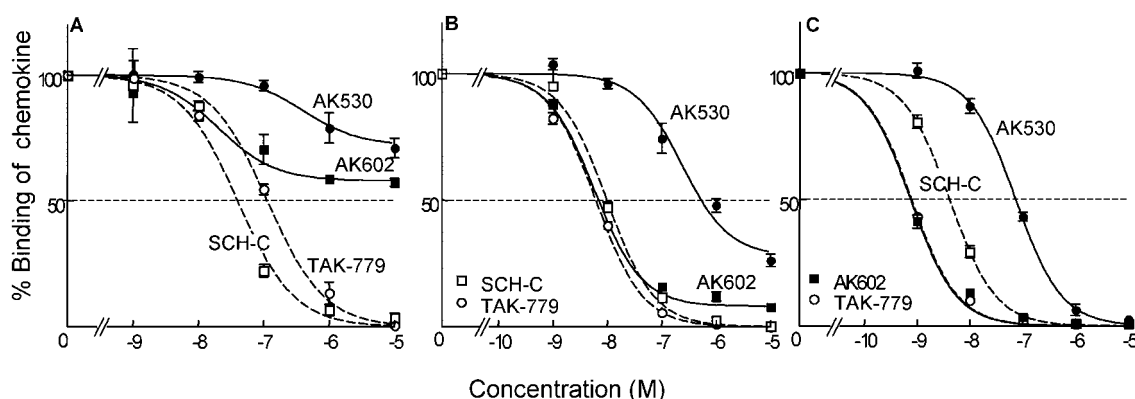


図5 SDP誘導体はRANTESとCCR5の結合を完全には阻害しない
AK602などのSDP誘導体はMIP-1 α とCCR5の結合を完全には阻害するが (C)、RANTES (A)、MIP-1 β (B)とCCR5の結合は完全には阻害しない。

を介した生理的(ケモカイン)作用は阻害せずに HIV の感染だけを阻害する, より HIV 特異的な CCR5 阻害剤を開発できるものと推察される。

他の抗 HIV 薬との相互作用 (併用効果)

表 1 に示した通り, E913 や AK602 は CXCR4 を侵入門戸とするウイルスに対しては効果がないが, AIDS 患者の

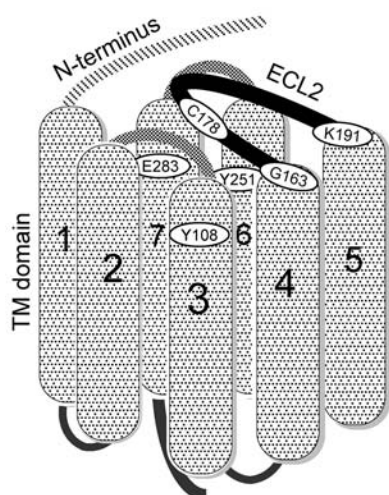


図 6 AK602 と CCR5 の結合

AK602 は CCR5 の第 2 細胞外ドメイン (ECL 2 : 黒) の両起始部である G163 と K191 や上部膜貫通ドメイン (TM domain) の一部 (Y108 など) の置換で CCR5 への結合力を失うことから, AK602 は ECL2 と上部膜貫通ドメインから形成されたポケットに結合すると思われる。

生体内には, X4・R5・dual tropic をはじめとする極めて多種類の HIV が混在しており, CCR5 阻害剤または CXCR4 阻害剤単独では十分な増殖の抑制が得られない場合があると考えられる。そこで E913 と CXCR4 阻害剤である AMD-3100 とを併用した時に R5 ウイルスと X4 ウイルスの混在した状態, あるいは CXCR4, CCR5 両者をコレセプターとして用いることのできる dual tropic ウイルスに対してどのような効果をもたらすか検討したところ, これらの薬剤は相乗的に抑制効果を示した (図 7)。また既存の抗 HIV 薬 (逆転写酵素阻害剤, プロテアーゼ阻害剤) との併用でも多くの組み合わせで相乗~相加効果を示し, 臨床でも他剤との併用でより効果的な活性を発揮する可能性が示された (data not shown)^{4,13)}。

in vivo での抗 HIV 活性および臨床試験

我々は AK602 の in vivo での抗 HIV 活性を評価するために, マウスモデル (NOD-SCID AIDS マウスモデル) での抗 HIV 薬の評価系を樹立, このモデルでは非常に高いウイルス血症とヒト末梢血由来 CD4 陽性細胞の強い減少がもたらされるが¹⁴⁾, 感染成立後 1 日目より AK602 (120 mg/kg) を投与することでウイルス血症の改善 (無治療群より 2 log 減少) と CD4/CD8 比の正常化をもたらすことが分かった (図 8)¹⁵⁾。

AK602 (GW873140) は現在, 米国の製薬会社 (グラクソスミスクライン社) により臨床試験が行われている。エイズ/HIV 陽性患者に対する臨床第 2 相 (Phase IIa) 試験では他剤による既治療者も含む HIV 陽性患者に対する 10 日間の投与で約 1.6log (1 日 2 回, 計 600mg 投与群) のウイルス量の減少を認めている¹⁶⁾。

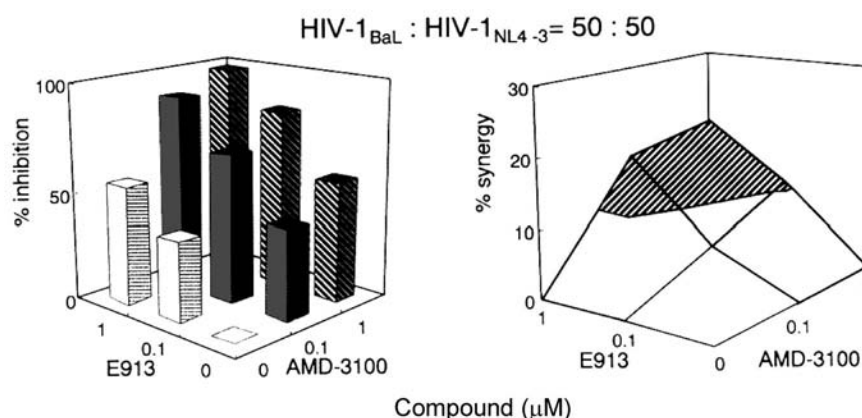


図 7 CCR5 阻害剤と CXCR4 阻害剤の併用効果

R5-HIV (HIV-1_{BaL}) と X4-HIV (HIV-1_{NL4-3}) を混合させ, E913 と AMD3100 の併用効果を検討した。その結果, この混合ウイルスは 1 剤では完全に抑制できなかったものの 2 剤の併用で完全に抑制され (左図), Prichard らの解析法¹⁸⁾で強い相乗作用を持つことが明らかになった (右図)。

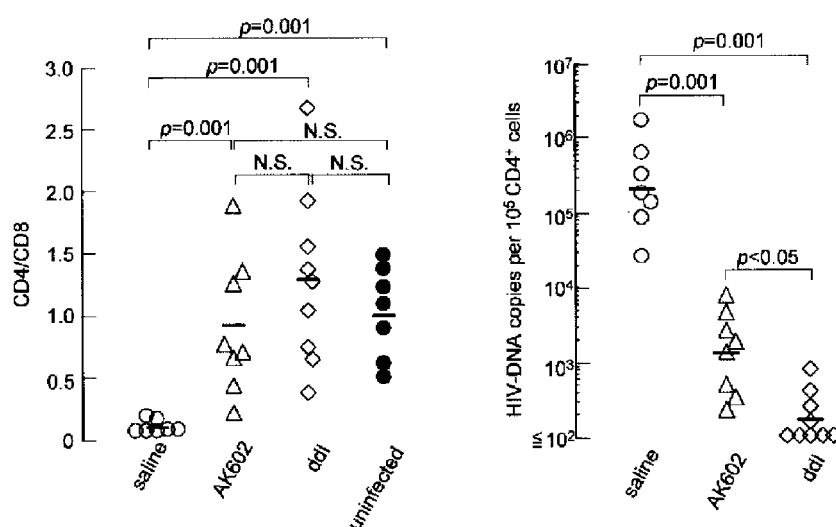


図 8 SCID マウスエイズモデルでの抗ウイルス活性

NOD-SCID マウスに活性化 PBM を移植させたモデルに R5 HIV を感染させ、感染成立後から ddI, AK602 の腹腔内投与を行った。AK602 投与群は CD4/CD8 比の正常化 (左図)、無治療群に比べて約 2 log のウイルス量の減少を認めた (右図)。

おわりに

ここ数年、HAART の治療開始基準が度々変更されてきている。HAART が汎用され始めた 1990 年代中期には「Hit early, hit hard」の原則で治療するのがよいとされたが、現在の米国のガイドラインでは、CD4 陽性細胞数が 200/mm³ に低下するまで、経過を観察するのが良いと変わってきた。これは、使える薬の数は多くても交差耐性や副作用が起こるという事実に加えて、HAART をこれまでより遅く開始しても免疫応答能の再構築が可能であるという観察に基づいている。冒頭で述べたように HAART の出現で AIDS と HIV 感染症の病態は大きく変化したが、より高い抗ウイルス活性を有し、耐性を発現させない副作用の少ない薬剤の開発が必要であるという現実には変わりはない。そのような中で、CCR5 阻害剤開発研究は世界的に注目を集め複数の研究グループ・製薬会社による激しい開発競争の中にある¹⁷⁾。著者らが研究を続けてきた SDP 誘導体の 1 つである AK602 も上述の通り、既に臨床第 2 相試験で良好な成績を収めている。

本研究の意義としては、候補薬を臨床試験段階にまで進めたことだけでなく CCR5 を介した HIV 感染機序に対する基礎的な知見を多数得られたことが挙げられる。これらの成果からは基本骨格の異なる CCR5 阻害剤の結合様式がそれぞれに異なっており併用すると相乗効果を期待できる可能性のあること、更に CCR5 と各種リガンドの構造学的解析を更に進めることで CCR5 を介した生理的な(ケモ

カインの) 作用は阻害せずに HIV の感染だけを阻害する HIV 特異的 CCR5 阻害剤の開発の可能性が示唆されたといつてよい。

今後、RTIs (NRTIs/NNRTIs) と PIs という現在の 2 本の柱に加えて CCR5 阻害剤など全く新しい選択肢が増えれば、HIV 感染症は更に「治療の可能な慢性感染症」となってゆくと期待される。

謝辞：このたびは ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞を受賞させていただき、ありがとうございました。本賞の審査委員の先生方、並びに御指導下さった熊本大学満屋裕明教授をはじめとする諸先生方にお礼申し上げます。

文 献

- 1) Mitsuya H, Erickson J : Discovery and development of antiretroviral therapeutics for HIV infection, (Merigan TC, Bartlet JG, Bolognesi D eds.), Textbook of AIDS Medicine, Williams & Wilkins, Baltimore, p751-p780, 1999.
- 2) Fauci AS : HIV and AIDS : 20 years of science. Nat Med 9 : 839-843, 2003.
- 3) Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, MacDonald ME, Stuhlmann H, Koup RA, Landau NR : Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. Cell 86 : 367-377, 1996.

- 4) Maeda K, Yoshimura K, Shibayama K, Habashita H, Tada H, Sagawa K, Miyakawa T, Aoki M, Fukushima D, Mitsuya H : Novel low molecular weight spirodiketopiperazine derivatives potently inhibit R5 HIV-1 infection through their antagonistic effects on CCR5. *J Biol Chem* 276 : 35194–35200, 2001.
- 5) Yoshimura K, Kato R, Yusa K, Kavlick MF, Maroun V, Nguyen A, Mimoto T, Ueno T, Shintani M, Falloon J, Masur H, Hayashi H, Erickson J, Mitsuya H : JE-2147 : a dipeptide protease inhibitor (PI) that potently inhibits multi-PI-resistant HIV-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 8675–8680, 1999.
- 6) Maeda K, Nakata H, Koh Y, Miyakawa T, Ogata H, Takaoka Y, Shibayama S, Sagawa K, Fukushima D, Moravek J, Koyanagi Y, Mitsuya H : Spirodiketopiperazine-based CCR5 inhibitor which preserves CC-chemokine/CCR5 interactions and exerts potent activity against R5 human immunodeficiency virus type 1 *in vitro*. *J Virol* 78 : 8654–8662, 2004.
- 7) Baba M, Nishimura O, Kanzaki N, Okamoto M, Sawada H, Iizawa Y, Shiraishi M, Aramaki Y, Okonogi K, Ogawa Y, Meguro K, Fujino MA : Small-molecule, non-peptide CCR5 antagonist with highly potent and selective anti-HIV-1 activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 5698–5703, 1999.
- 8) Strizki JM, Xu S, Wagner NE, Wojcik L, Liu J, Hou Y, Endres M, Palani A, Shapiro S, Clader JW, Greenlee WJ, Tagat JR, McCombie S, Cox K, Fawzi AB, Chou CC, Pugliese-Sivo C, Davies L, Moreno ME, Ho DD, Trkola A, Stoddart CA, Moore JP, Reyes GR, Baroudy BM : SCH-C (SCH 351125), an orally bioavailable, small molecule antagonist of the chemokine receptor CCR5, is a potent inhibitor of HIV-1 infection *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 12718–12723, 2001.
- 9) Moriuchi H, Moriuchi M, Fauci AS : Factors secreted by human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)-infected cells can enhance or inhibit replication of HIV-1 in HTLV-I-uninfected cells : implications for *in vivo* coinfection with HTLV-I and HIV-1. *J Exp Med* 187 : 1689–1697, 1998.
- 10) Woitas RP, Ahlenstiel G, Iwan A, Rockstroh JK, Brackmann HH, Kupfer B, Matz B, Offergeld R, Sauerbruch T, Spengler U : Frequency of the HIV-protective CC chemokine receptor 5-Delta32/Delta32 genotype is increased in hepatitis C. *Gastroenterology* 122 : 1721–1728, 2002.
- 11) Fischereder M, Luckow B, Hoehner B, Wuthrich RP, Rothenpieler U, Schneeberger H, Panzer U, Stahl RA, Hauser IA, Budde K, Neumayer H, Kramer BK, Land W, Schlondorff D : CC chemokine receptor 5 and renal-transplant survival. *Lancet* 357 : 1758–1761, 2001.
- 12) Miyakawa T, Obaru K, Maeda K, Harada S, Mitsuya H : Identification of amino acid residues critical for LD 78 β (a variant of human macrophage inflammatory protein-1 α) binding to CCR5 and inhibition of R5 HIV-1 replication. *J Biol Chem* 277 : 4649–4655, 2002.
- 13) Nakata H, Koh Y, Maeda K, Takaoka Y, Tamamura H, Fujii N, Mitsuya H : Presented at The 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, MA, February 22–25, 2005.
- 14) Miura Y, Misawa N, Maeda N, Inagaki Y, Tanaka Y, Ito M, Kayagaki N, Yamamoto N, Yagita H, Mizusawa H, Koyanagi Y : Critical contribution of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) to apoptosis of human CD4⁺ T cells in HIV-1-infected hu-PBL-NOD-SCID mice. *J Exp Med* 193 : 651–660, 2001.
- 15) Nakata H, Maeda K, Miyakawa T, Shibayama S, Matsuo M, Takaoka Y, Ito M, Koyanagi Y, Mitsuya H : Potent anti-R5 human immunodeficiency virus type 1 effects of a CCR5 antagonist, AK602/ONO4128/GW873140, in a novel human peripheral blood mononuclear cell non-obese diabetic-SCID, interleukin-2 receptor γ -chain-knocked-out AIDS mouse model. *J Virol* 79 : 2087–2096, 2005.
- 16) Lalezari J, Thompson M, Kumar P, Piliero P, Davey R, Murtaugh T, Patterson K, Shachoy-Clark A, Adkison K, Demarest J, Sparks S, Fang L, Lou M, Berrey M, Piscitelli S : Presented at the 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, DC, October 30– November 2, 2004.
- 17) Maeda K, Nakata H, Ogata H, Koh Y, Miyakawa T, Mitsuya H : The current status of, and challenges in, the development of CCR5 inhibitors as therapeutics for HIV-1 infection. *Curr Opin Pharmacol* 4 : 447–452, 2004.
- 18) Prichard MN, Prichard LE, Shipman C Jr : Strategic design and three-dimensional analysis of antiviral drug combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 37 : 540–545, 1993.