

## 第22回日本エイズ学会 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞受賞研究

## EFdA/islatravir の研究開発

### Development of EFdA/Islatravir

服部 真一郎

*Shin-ichiro HATTORI*

国立国際医療研究センター研究所

National Center for Global Health and Medicine Research Institute

日本エイズ学会誌 24: 63-71, 2022

#### はじめに

2021年1月末現在、世界で3,700万人以上の人々がHIVに感染しており、新規感染者数は減少傾向にあるものの、HIV-1の発見から40年近く経過した現在でも根治に至る治療法は確立されていない。現在、HIV-1のライフサイクルを標的とした複数の抗HIV-1薬を併用する抗ウイルス療法(antiretroviral therapy, ART)が導入されたことでHIV-1治療は長足の進歩を遂げ、その結果HIV感染症の予後は大きく改善、死亡者数も激減した。エイズは今やコントロール可能な慢性疾患と呼ばれるまでになった。しかしながら、ARTを以てしても、血液中や感染組織に存在するとされるウイルスリザーバーのために体内からHIV-1を完全に排除することは不可能であると考えられている。そのため治療は長期にならざるを得ず、薬剤耐性ウイルスや長期服用に伴うさまざまな副作用の出現、アドヒアランスの低下といった問題への対処が必要である。そのため、薬剤耐性ウイルス株にも強力な抑制活性を有し、副作用がまったくないか最小限に抑えられ、服用しやすい薬剤を開発することが重要である。われわれが開発を進めてきた候補化合物、4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA/islatravir/ISL)は、高度耐性を獲得したHIV変異株にも抗ウイルス活性を発揮してそれらの増殖をきわめて強力に阻止、マウスやサルにおいても副作用なくウイルスの増殖を強力に阻止してCD4陽性T細胞を感染から効果的に守ることが示されている。ここでは、EFdA/ISLの開発研究において、筆者が行った研究<sup>1)</sup>を中心に最新の知見を踏まえながら紹介する。

#### 1. 4'-Ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA, islatravir) の開発

現在の抗HIV-1薬のほとんどは、ウイルスのライフサイクルで発現するウイルスタンパク質、特にウイルスの酵素(reverse transcriptase, integrase, protease)を標的としている。HIV-1のRNAゲノムはHIV-1自身が持つ逆転写酵素によって相補的なプロウイルスDNAへと転写された後、核内へと移入し宿主DNAに組み込まれる。逆転写酵素はウイルスに特有な酵素でヒトは有していないため、これを標的とすることで副作用が少なく効果的なウイルス抑制効果が期待できると考えられ、逆転写酵素阻害剤が開発されてきた。逆転写酵素阻害剤のうち核酸系逆転写酵素阻害剤(NRTI)はDNAの基質である核酸(nucleos(t)ide)のアナログであり、これが逆転写時にプロウイルスDNAに取り込まれることでDNA鎖の伸長が停止するため、chain terminatorとも呼ばれる。NRTIであるAZT(azido thymidine)が世界初の抗HIV-1薬であることから<sup>2)</sup>、NRTIは長年の研究において多くの薬剤が開発され、現在ではバックボンドラッグとして治療に用いられている。NRTIは、キードラッグと呼ばれるNNRTIやintegrase inhibitor (INSTI)、protease inhibitor (PI)などと比べると抗ウイルス活性は低いとされるが、併用することでキードラッグに対する耐性発現の遅延が示されている<sup>3,4)</sup>。しかしながら、既存のNRTIはその基本骨格に3'-OH基を有しないという共通の特徴を持ち、同じ作用機序を有することから、多剤耐性もしくは交叉耐性変異が問題となっている。そのため既存のNRTI耐性ウイルス株に効果があり、異なる作用機序を有する新規NRTIの開発が試みられている。

これまでのNRTIの構造的特徴は3'-OH基の不在であり、このことが抗ウイルス活性に必要と考えられ、そのような構造的特徴を有する薬剤の開発がなされてきた。しかしながら、3'-OH基の不在は抗ウイルス活性を付与する一方で、活性型である三リン酸型(triphosphate, TP)への変換効率が低

著者連絡先：服部真一郎 (〒162-8655 東京都新宿区戸山1-21-1 国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所 難治性ウイルス感染症研究部)

2022年3月31日受付

いために、本来のDNAの基質であるdNTP (deoxynucleotide TP) よりも逆転写酵素への結合力が低くなるという阻害剤にとってのデメリットも付与している<sup>5)</sup>。そこでさまざまな置換基を4'位に置き3'-OH基を付与したままの新規NRTI候補化合物が設計、開発された<sup>6,7)</sup>。これらは既存のNRTIに比べ優れた抗ウイルス活性を示すとともに、毒性も著しく低いものであった。さらにこの4'位置換型NRTIはさまざまな既存NRTI耐性ウイルス株の増殖をも効果的に抑制した。この4'位置換型NRTIのなかでもエチニル基置換型(4'-ethynyl)のアデノシンアナログが最も強力な効果を示した。しかし強力な抗HIV-1活性を示した一方で、アデノシン脱アミノ酵素により分解されてしまうことがわかった<sup>7)</sup>。そのためアデニン環2位にハロゲンを置換することで、アデノシン脱アミノ酵素の影響を受けない第二世代のハロゲン化4'-E-2'-nucleosideアナログが合成され、これらの中でも最も強力な抗ウイルス活性を呈する化合物としてEFdAが同定された(図1)<sup>8)</sup>。EFdAは、*in vitro*において

多剤耐性株を含むHIV-1株に対してEC<sub>50</sub>でsub-nanomolarという強力な抗HIV-1活性を有するが、細胞毒性はきわめて低い(CC<sub>50</sub>>10μM)<sup>9,10)</sup>。EFdAは既存のNRTIのみならずハロゲン非置換型4'-ethynyl化合物と比べても優れた効果を示し、かつアデノシン脱アミノ酵素による分解を受けず、さらにヒトDNAポリメラーゼα、β、γを阻害しないことも明らかとなり<sup>9)</sup>、強力かつ特異性が高く、細胞毒性が軽微であることが確認された。加えて、EFdA/ISLは、エチ

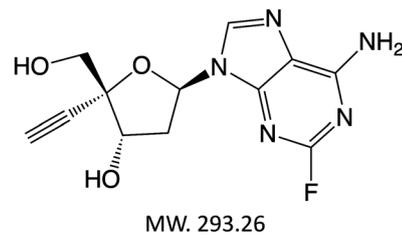


図1 EFdAの構造

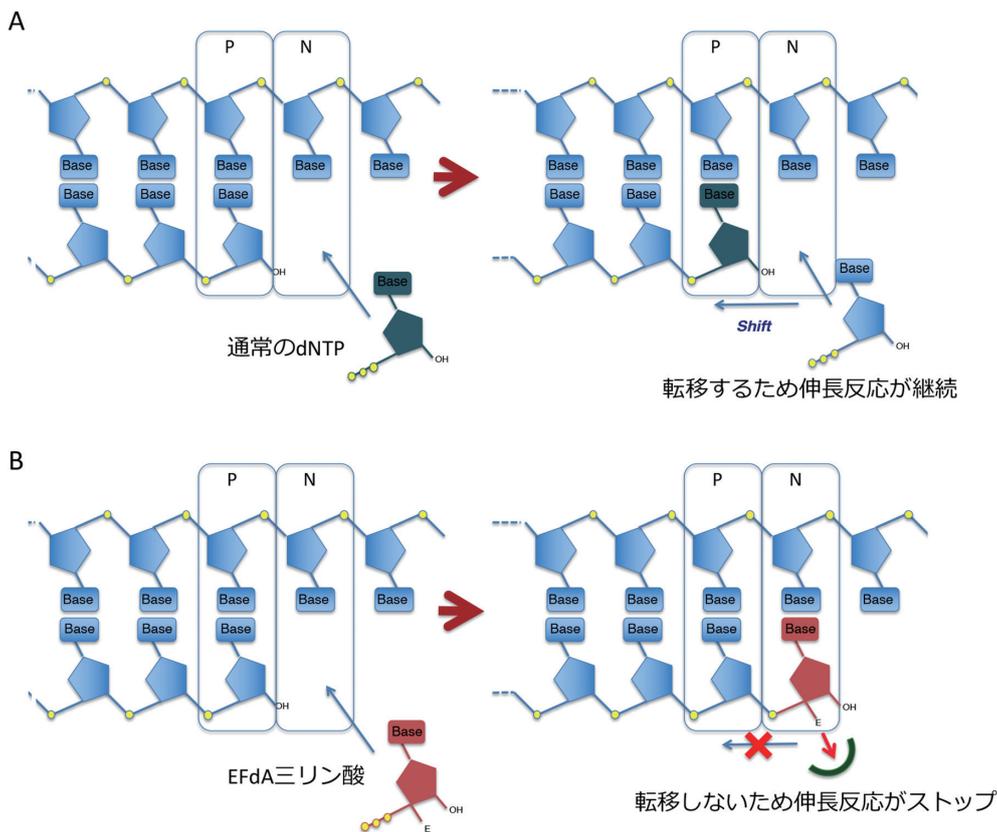


図2 EFdAのDNA鎖伸長阻害機序

通常のdNTPの取り込みでは(A)、新しくdNTPが入ってくると、逆転写酵素が一塩基分転移(translocation)し、Nサイト(N)からPサイト(P)にずれる。これを繰り返すことでDNA鎖の伸長が起こる。一方、EFdAは(B)Nサイトに留まることで逆転写酵素の転移を阻害するため、nucleoside reverse transcriptase translocation inhibitor(逆転写酵素転移阻害剤)と呼ばれる。

ニル基を付与することで、HIV-1 逆転写酵素の活性部位の転移を阻害する translocation-defective reverse transcriptase (TDRTI) あるいは nucleoside reverse transcriptase translocation inhibitor (NRTTI) (図 2) として、プロウイルス DNA の合成を阻害することも明らかとなり<sup>11,12)</sup>、既存の NRTI とは逆転写阻害機序が異なることから薬剤耐性変異株への有効性も期待でき、実際そのとおりであった<sup>13~15)</sup>。以上のように EFdA は HIV-1 逆転写酵素特異的に作用し、強力な活性を示し副作用の非常に少ない化合物であると期待できることから、HIV-1 感染 NOJ マウスモデルを用いた *in vivo* の EFdA の抗 HIV-1 活性評価へと研究を進展させた。

## 2. *In vivo* における抗 HIV 薬の薬効評価のための免疫不全マウス

HIV-1 は一般的にヒトの細胞にしか感染しないため、ヒ

ト細胞、特に CD4 陽性 T 細胞が高率で生着する免疫不全マウスが抗 HIV 薬の前臨床評価に広く利用されている。当初、免疫不全マウスは成熟 T/B 細胞が欠損した scid マウス<sup>16)</sup> が用いられていたが、移植後、マウス T/B 細胞が発生すること (leakiness) や、NK 細胞などの自然免疫系は抑制されていないことから、scid マウスへのヒト細胞の移植には限界があった。そこで、scid マウスを自己免疫性糖尿病モデルマウスである NOD マウス<sup>17)</sup> と掛け合わせることにより、NOD/scid マウス<sup>18,19)</sup> が作製された。NOD/scid マウスは、成熟した T/B 細胞欠損に加えて、自然免疫系の異常をも伴っており、NOD/scid マウスを用いることにより、ヒト末梢血単核球、ヒト造血幹細胞の移植効率は大幅に上昇した。その後、NOD/scid マウスに種々のノックアウトマウスを交配し、NSG<sup>20,21)</sup> や NOG<sup>22)</sup>、NRG<sup>23~25)</sup> マウス等の新たな免疫不全マウスが開発され、HIV 研究にも供され

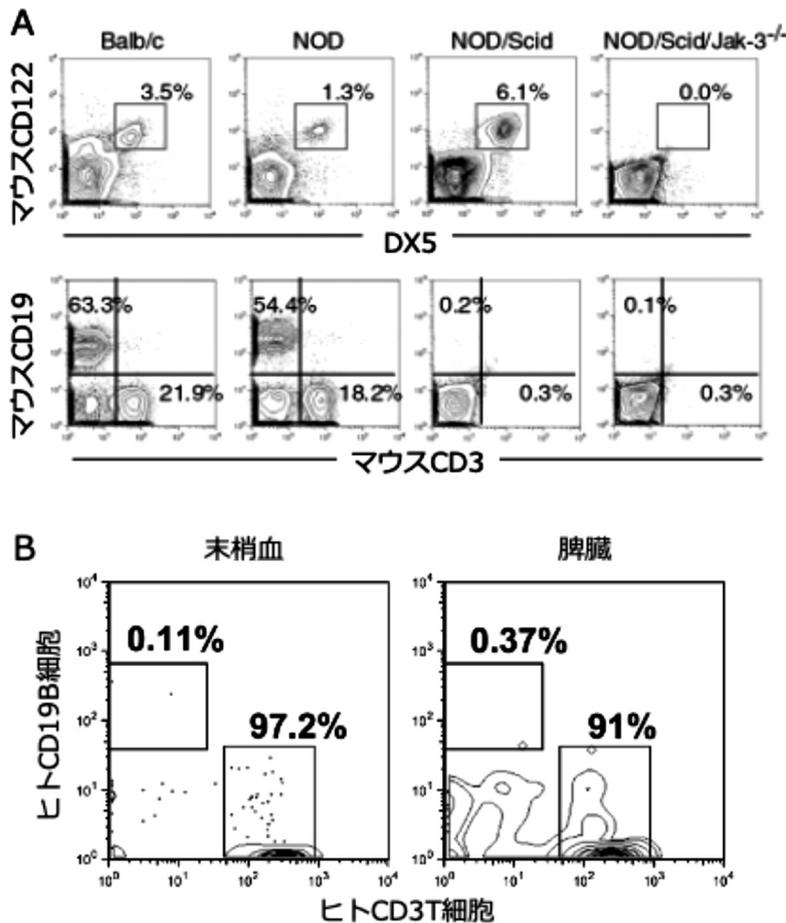


図 3 NOJ マウスの特徴

NOJ マウスの脾臓におけるマウス NK 細胞および T, B 細胞の存在比 (A)。NOJ マウス (最右列) は NK 細胞 (DX5<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup>)、CD3<sup>+</sup>T 細胞および CD19<sup>+</sup>B 細胞を欠失している。NOJ マウスにヒト単核細胞を腹腔移植すると T 細胞優位 (>90%) に生着・増殖する (B)。文献 27, 28) を改変。

ている。本研究で用いた NOD/scid/Jak3-KO (NOJ) マウスは、NOD/scid マウスを Jak3 欠損マウス<sup>26)</sup> と 10 世代交配することにより作成、NOJ マウスは、T 細胞、B 細胞、NKT 細胞の欠損に加えて、NK 細胞欠損、補体低下、マクロファージ・樹状細胞の機能異常を伴う高度の免疫不全マウスであり (図 3A)<sup>27)</sup>、従来の抗 NK 活性処理をしたマウスに比べ、移植細胞の生着率が劇的に改善され (図 3B)<sup>28)</sup>、これにより、マウス個体間でばらつきが少なく高いヒト細胞の生着性が確保され、安定した HIV-1 感染モデルマウスの作成が可能となった。

### 3. マウスにおける EFdA の薬物動態と毒性

抗ウイルス活性評価の前に、Balb/c マウスを用いた薬物動態および亜急性毒性を検査した。まず、20 mg/kg の濃度の EFdA を腹腔内へ投与することにより EFdA の Balb/c マウスにおける薬物動態を検査した。マウス血漿サンプルを EFdA 投与 4 時間後まで経時的に採取し HPLC を用いて EFdA の血中濃度を測定した。図 4A に示すように EFdA の血中濃度は、腹腔投与後 15~30 分で最大となり、その後速やかに減少したが、細胞に取り込まれた EFdA は、細胞内に活性化体である三リン酸体として長時間存在することが明らかとなっていることから<sup>9)</sup>、十分な効果が期待できる。ついで 1.5~50 mg/kg の濃度の EFdA を 1 日 2 回 14 日間 Balb/c マウス腹腔へ投与し、EFdA の亜急性毒性を検証した。その結果 1.5~50 mg/kg の濃度範囲では死亡例は確認されなかったが、PBS を投与したコントロールマウス群と比べると、5 mg/kg 以上の EFdA 投与マウス群でわずかではあるが体重の減少を認めた (図 4B および C)。さらに 50 mg/kg を投与したマウスに軽度の毛羽立ちを観察

したが、死亡例や主要臓器の異常はみられなかった。これらの結果は、生体において EFdA は高濃度であったとしても、毒性はきわめて低いことを示唆している。

### 4. HIV-1 感染 huPBMC-NOJ マウスにおける EFdA の抗ウイルス効果

すでに *in vitro* での EFdA の強力な抗ウイルス効果は確認されていたため、筆者は、HIV-1 感染モデルマウスを用いた *in vivo* における EFdA の抗ウイルス効果を検討した。NOJ マウスにヒト PBMC 移植後 5 日目に HIV-1 JR-FL 株を接種、翌日から EFdA を投与 (0.5 mg/kg, 1 日 2 回, 腹腔内投与) (図 5A)、ウイルス接種後 15 日目に、マウス血液、腹腔内洗浄液、脾臓より回収された細胞を用いて免疫学的・ウイルス学的検討を行った。CD4/CD8 細胞比は、HIV-1 JR-FL 株を接種した PBS 投与マウスの脾臓細胞における CD4 T 細胞の割合は 7.0 % と低く (図 5B 左)、結果として CD4/CD8 細胞比は 0.04 (range, 0.02-0.12) ( $n=14$ ) (図 5C 左グラフ) と非常に低値となった。しかしながら、EFdA 投与が行われたマウス脾臓細胞では明確な CD4 T 細胞割合の改善が見られ (39.4%) (図 5B 中)、その結果 CD4/CD8 細胞比は 0.66 (range, 0.31-1.12) (図 5C 左グラフ) となり、PBS 投与群に比して有意に高かった ( $p<0.001$ )。一方で、HIV-1 未感染マウスの脾臓細胞でみられる CD4/CD8 細胞比 (0.79) と同等であり統計学的有意差も見られなかった (図 5C 左グラフ)。末梢血および腹腔内細胞においても同様の結果が得られた (図 5C 中および右グラフ)。CD4 および CD8 T 細胞数においては、PBS 投与マウス群での血中 CD4 T 細胞数の中央値は  $2.02 \times 10^3$  cells/mL (range,  $8.70 \times 10^2 - 2.91 \times 10^4$  cells/mL,  $n=9$ ) であった一方、EFdA 投与

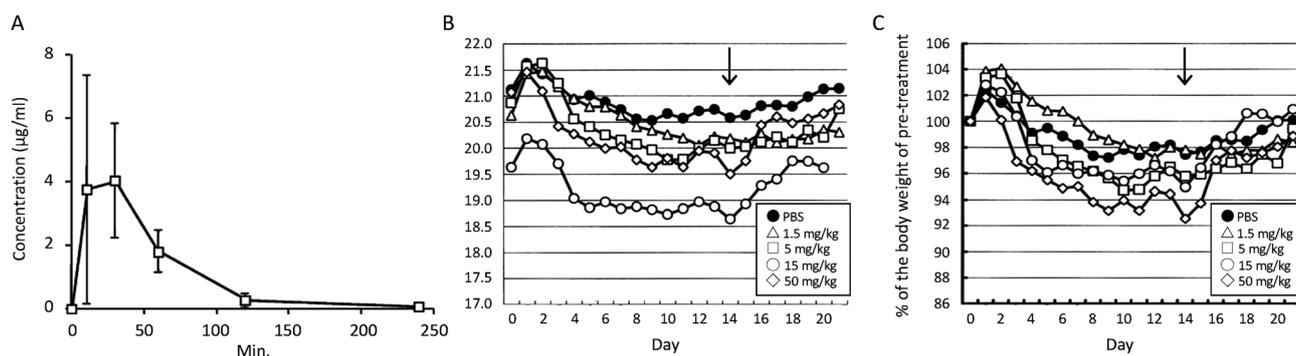
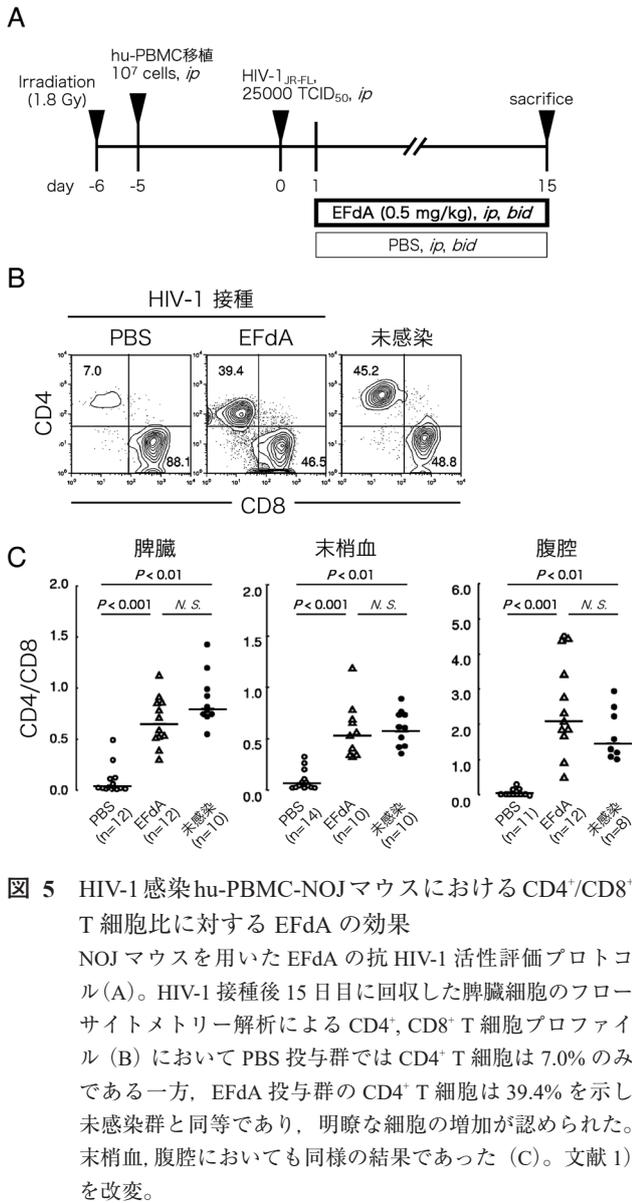


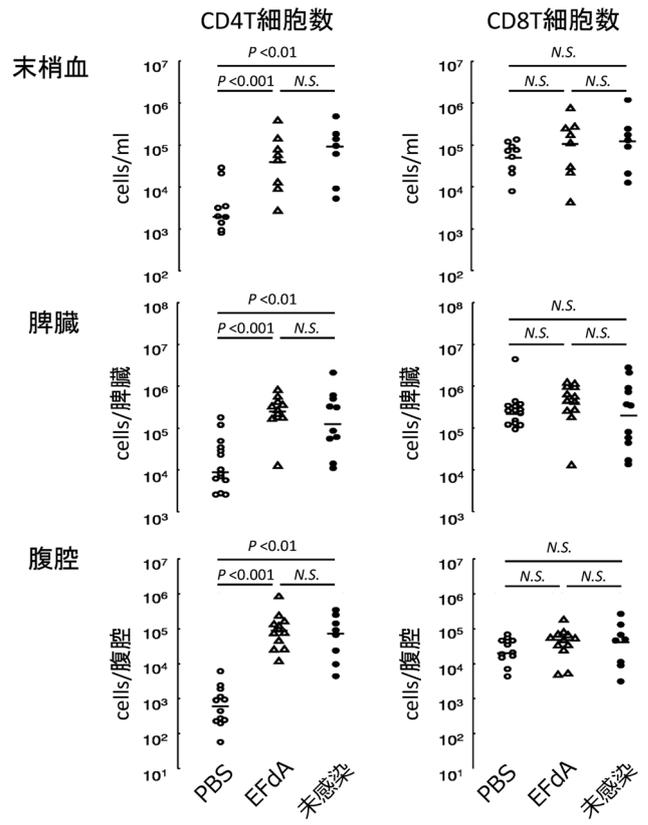
図 4 EFdA の薬物動態と亜急性毒性評価

Balb/c マウスにおける EFdA の薬物動態 (A)。マウス ( $n=4$ ) に 20 mg/kg の EFdA を腹腔内へ投与後、15、30、60、120 および 240 分後に採血した。血漿中の EFdA の濃度は投与後 30 分まで上昇し、その後速やかに減少した。Balb/c マウスにおける EFdA の亜急性毒性 (B, C)。マウスに PBS (●) および 1.5 (△)、5 (□)、15 (○)、50 (◇) mg/kg (各  $n=10$ ) の EFdA を 1 日 2 回 14 日間、腹腔内に投与した。EFdA の濃度依存的に体重の減少が見られたが、投与終了後 7 日目までにすべてのマウスで元の体重まで回復した。図中の矢印は EFdA 投与終了日を示す。文献 1) を改変。



**図 5** HIV-1 感染 hu-PBMC-NOJ マウスにおける CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 細胞比に対する EFdA の効果  
NOJ マウスを用いた EFdA の抗 HIV-1 活性評価プロトコル (A)。HIV-1 接種後 15 日目に回収した脾臓細胞のフローサイトメトリー解析による CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T 細胞プロファイル (B) において PBS 投与群では CD4<sup>+</sup> T 細胞は 7.0% のみである一方、EFdA 投与群の CD4<sup>+</sup> T 細胞は 39.4% を示し未感染群と同等であり、明瞭な細胞の増加が認められた。末梢血、腹腔においても同様の結果であった (C)。文献 1) を改変。

マウス群は  $5.37 \times 10^4$  cells/mL (range,  $2.79 \times 10^3 - 3.89 \times 10^5$  cells/mL,  $n = 8$ ) であり、PBS 投与マウス群と比較して統計学的有意に高値であった ( $p < 0.001$ ) (図 6 上段左)。これは HIV-1 未感染マウス群 (中央値  $9.65 \times 10^4$  cells/mL; range,  $5.02 \times 10^3 - 4.70 \times 10^5$  cells/mL,  $n = 7$ ) と同等であることから、EFdA の投与により CD4 T 細胞が高いレベルで維持されていることが示された (図 6 上段左)。一方で、CD8 T 細胞数は、PBS 投与群 ( $6.67 \times 10^4 \pm 4.42 \times 10^4$  cells/mL,  $n = 9$ )、EFdA 投与群 ( $1.46 \times 10^5 \pm 2.32 \times 10^5$  cells/mL,  $n = 8$ ) および HIV-1 未感染群 ( $1.39 \times 10^5 \pm 3.94 \times 10^5$  cells/mL,  $n = 7$ ) に統計学的に有意な差はみられなかった (図 6 上段右)。脾臓および腹腔内の各細胞においても同様の結果であった (図 6 中段および下段)。このことは、EFdA が HIV-1 の増殖



**図 6** HIV-1 感染 hu-PBMC-NOJ マウスにおける CD4 および CD8 陽性 T 細胞数の変化  
感染 15 日目の末梢血において未治療群 ( $n = 9$ ) の CD4 陽性 T 細胞数は中央値  $2 \times 10^3$  cells/mL であった一方、EFdA 投与群 ( $n = 8$ ) では  $5.37 \times 10^4$  cells/mL であり ( $p < 0.001$ )、HIV-1 未感染群 ( $n = 7$ )  $9.65 \times 10^4$  cells/mL と同等であった (有意差なし)。CD8 陽性 T 細胞数は各群で統計学的有意差はなかった。文献 1) を改変。

を抑制し CD4<sup>+</sup> T 細胞を感染拡大から防御していることを示している。実際に、HIV-1 接種 15 日後の hu-PBMC-NOJ マウスの血中ウイルス量を測定すると、HIV-1 p24 抗原量は、PBS 投与マウス群では  $1.88 \times 10^3$  pg/mL (range,  $8.25 \times 10^2 - 5.62 \times 10^3$  pg/mL,  $n = 14$ ) と高値を示したが、EFdA 投与マウス群では  $2.09 \times 10^2$  pg/mL (range,  $8.25 \times 10^1 - 6.34 \times 10^2$  pg/mL,  $n = 12$ ) であり、統計学的に有意に低値を示した ( $p < 0.001$ ) (図 7A 左)。同様に血中 HIV-1 RNA コピー数においても、PBS 投与マウス群における血漿中 HIV-1 RNA コピー数は  $9.94 \times 10^4$  copies/mL (range,  $1.31 \times 10^4 - 5.42 \times 10^5$  copies/mL,  $n = 11$ ) と非常に高値であったのに対して、EFdA 投与マウス群では  $9.02 \times 10^2$  copies/mL (range,  $8.13 \times 10^2 - 1.12 \times 10^3$  copies/mL,  $n = 10$ ) であり、統計学的有意に低値を示しウイルス増殖が抑制されていることを確認した ( $p < 0.001$ ) (図 7B)。加えて、HIV-1 接種後 15 日目における HIV-1

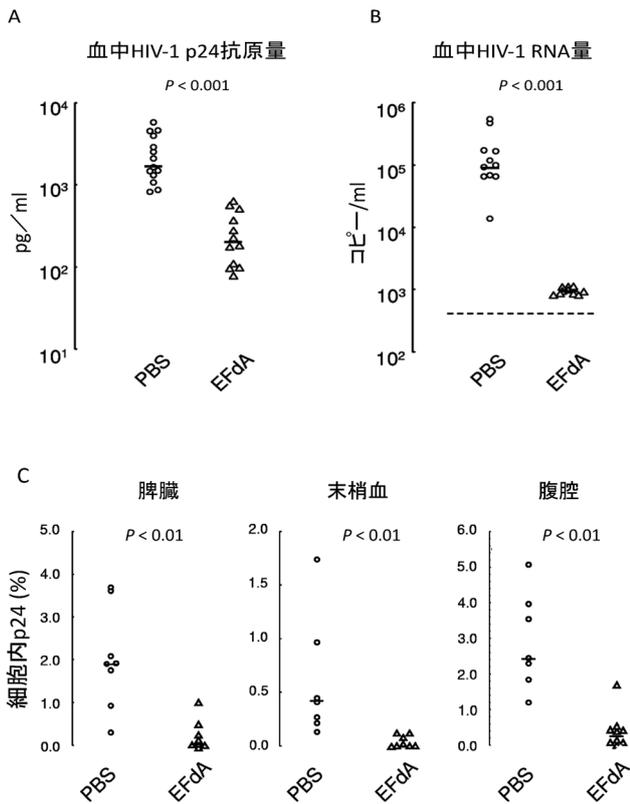


図 7 HIV-1 感染 hu-PBMC-NOJ マウスにおける EFdA のウイルス増殖抑制効果

マウス血中の HIV-1 p24 抗原量 (A) およびウイルス RNA 量 (B) は、PBS 投与群に比して EFdA 投与群で顕著に低下した。各組織におけるヒト CD3 陽性 CD8 陰性サブセット中の細胞内 HIV-1 p24 陽性細胞率 (C) は、PBS 投与群に比して EFdA 投与群で有意に低値であった。文献 1) を改変。

感染 hu-PBMC-NOJ マウスの脾臓細胞内 HIV-1 p24 抗原陽性細胞の割合を解析すると、PBS 投与マウス群では細胞内 HIV-1 p24 抗原陽性細胞の割合は平均で 1.90% (range, 0.33–3.68%,  $n=7$ ) であった一方、EFdA 投与マウス群では 0.11% (range, 0.00–1.00%,  $n=8$ ) であり、PBS 投与マウス群と比較して統計学的に有意に低値であり ( $p<0.001$ ) (図 7C 左)、血中および腹腔内の各細胞においても同様の結果であり (図 7C 中および右)、*in vivo* においても EFdA の強力な抗ウイルス効果が確認できた。これらのデータは、EFdA がヒト体内においても強力な抗ウイルス活性を発揮する可能性を示唆する結果となった。

## 5. EFdA/islatravir の臨床研究

EFdA/ISL は導出先の海外製薬企業により多くの臨床研究が展開されている。これまでに結果が得られている第 I 相および第 II 相臨床試験において、EFdA/ISL は 10mg の

単回投与で少なくとも 7 日間、予測された有効血中濃度を維持できることが示された<sup>29)</sup>。別の研究では未治療 HIV 感染者に対する単回経口投与 (10mg) のみでウイルス量の急激な減少がみられ、その効果は治療後 10 日目まで持続、最終的には平均 1.78 log の減少を認めた (図 8A)<sup>30)</sup>。加えて上述もしたが、EFdA はその活性化体である三リン酸化体が長時間細胞内に維持されるという *in vitro* の報告があるが<sup>31)</sup>、ヒトにおいても、10mg の単回経口投与によりおよそ 2 週間にわたり推定有効濃度を持続することが明らかとなり (図 8B)<sup>30)</sup>、*in vitro* とヒトで同様の結果となった。約 90 人の HIV 感染者を対象とした第 IIb 相臨床試験では、24 週にわたる投与期間での先行薬との比較において安全性および高い抗ウイルス活性が確認された<sup>31)</sup>。一方、薬剤徐放効果のある溶出性埋め込みデバイスを用いた薬物濃度の検討によると、EFdA/ISL 埋め込みデバイスの動物への投与 (埋め込み) 後、持続的な薬物放出による血中濃度の維持が確認された。その血中濃度データを HIV 感染者に対する第 I 相臨床試験で得られたデータと比較・検討したところ、ウイルス量を 1.6 log 抑制するのに有効な EFdA/ISL の血中濃度が 6 カ月あるいはそれ以上持続することが明らかとなった<sup>32,33)</sup>。これらの結果は EFdA/ISL が少なくとも週に 1 回 (QW) の経口投与による治療が可能であること、さらに長時間作用型製剤を用いれば数カ月といった長期間の治療が可能となることを示唆している。加えて、EFdA/ISL は SHIV 感染サルモデルを用いた前臨床試験において、週 1 回 (QW) の曝露前予防投与 (PrEP) への応用に関してもきわめて有効であることが示唆され<sup>34)</sup>、臨床研究が進められている。EFdA/ISL は治療効果と予防効果が期待でき、上述の他にも多くの臨床研究が展開されているが、最新の情報では、EFdA を投与された一部の試験参加者において、リンパ球減少がみられたため、clinical hold となっている臨床研究が複数あり、今後の状況を注視したい。

## おわりに

本研究は、HIV-1 感染モデルマウスを用いることで、*in vivo* における EFdA/ISL の強力な抗ウイルス効果を示すことができた。生体内での抗ウイルス効果が明らかとなったことで、本研究以降さまざま、SIV 感染サルにおける EFdA/ISL の抗ウイルス効果が確認、報告され、加速度的に臨床研究へと発展、EFdA は強力かつ安全な抗 HIV-1 治療薬であることが示され、今後の臨床開発に期待される。強力で低副作用かつ長時間作用型の EFdA/ISL は、HIV 治療と感染防御のゲームチェンジャーあるいはパラダイムシフトになると期待されている。一部の臨床研究参加者で不測の副反応と思われる症状が出てしまっているが、今後の更な

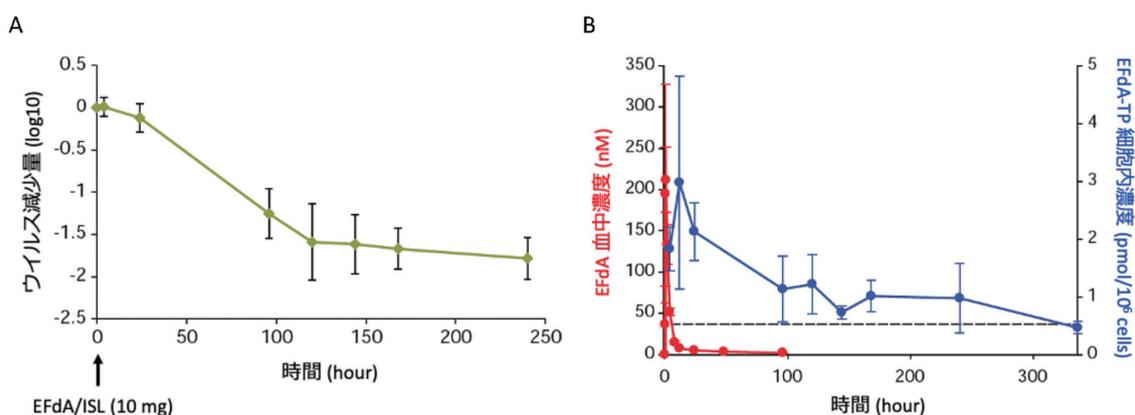


図 8 EFdA/ISL の抗ウイルス効果と血中および細胞内濃度 (phase Ib)

EFdA/ISL を 10mg 単回経口投与したときの血中ウイルスの減少量 (A)。1 回の投与で 10 日間以上抗ウイルス効果が持続している。EFdA/ISL を 10mg 単回経口投与したときの血中 EFdA 濃度 (赤線) あるいは EFdA 三リン酸体 (EFdA-TP) 濃度 (青線) の推移 (B)。EFdA の血中消失は早いですが、EFdA-TP の細胞内濃度は約 2 週間にわたり推定有効濃度 (点線) を持続する。文献 30) を改変。

る進展に期待するとともに、より強力な活性、より良好な薬理動態・安全性を示す抗 HIV 薬の開発を通して、HIV 感染者 / エイズ患者の予後改善に貢献できるよう研究を継続していきたい。

#### 謝辞

令和 3 年度日本エイズ学会 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞の受賞にあたり、ご指導とご鞭撻を賜りました、国立国際医療研究センター研究所難治性ウイルス感染症研究部・満屋裕明部長および熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター・岡田誠治教授に深く御礼申し上げます。加えて本賞にご推薦いただいた満屋裕明部長に重ねて御礼申し上げます。また、本研究の遂行にあたり、国立国際医療研究センター研究所難治性ウイルス感染症研究部および熊本大学エイズ学研究センター岡田プロジェクト研究室 (現、ヒトレトロウイルス学共同研究センター造血・腫瘍制御学分野) のスタッフの皆様に深謝申し上げます。

**利益相反:** 本研究の遂行にあたり利益相反に該当する事項はない。

#### 文 献

- Hattori S, Ide K, Nakata H, Harada H, Suzu S, Ashida N, Kohgo S, Hayakawa H, Mitsuya H, Okada S : Potent activity of a nucleoside reverse transcriptase inhibitor, 4'-ethynyl-2'-fluoro-2'-deoxyadenosine, against human immunodeficiency virus type 1 infection in a model using human peripheral blood mononuclear cell-transplanted NOD/SCID Janus kinase 3 knockout mice. *Antimicrob Agents Chemother* 53 : 3887-3893, 2009.
- Mitsuya H, Weinhold KJ, Furman PA, St Clair MH, Lehrman SN, Gallo RC, Bolognesi D, Barry DW, Broder S : 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U) : 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.
- Riddler SA, Haubrich R, DiRienzo AG, Peeples L, Powderly WG, Klingman KL, Garren KW, George T, Rooney JF, Brizz B, Laloo UG, Murphy RL, Swindells S, Havlir D, Mellors JW ; Team Aids Clinical Trials Group Study A : Class-sparing regimens for initial treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med* 358 : 2095-2106, 2008.
- Schinazi RF, Hernandez-Santiago BI, Hurwitz SJ : Pharmacology of current and promising nucleosides for the treatment of human immunodeficiency viruses. *Antiviral Res* 71 : 322-334, 2006.
- Gallois-Montbrun S, Schneider B, Chen Y, Giacomoni-Fernandes V, Mulard L, Morera S, Janin J, Deville-Bonne D, Veron M : Improving nucleoside diphosphate kinase for antiviral nucleotide analogs activation. *J Biol Chem* 277 : 39953-39959, 2002.
- Kawamoto A, Kodama E, Sarafianos SG, Sakagami Y, Kohgo S, Kitano K, Ashida N, Iwai Y, Hayakawa H, Nakata H, Mitsuya H, Arnold E, Matsuoka M : 2'-deoxy-4'-C-ethynyl-2'-halo-adenosines active against drug-resistant human immunodeficiency virus type 1 variants. *Int J Biochem Cell Biol* 40 : 2410-2420, 2008.

- 7) Kodama EI, Kohgo S, Kitano K, Machida H, Gatanaga H, Shigeta S, Matsuoka M, Ohru H, Mitsuya H : 4'-Ethylnyl nucleoside analogs : potent inhibitors of multidrug-resistant human immunodeficiency virus variants *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother* 45 : 1539-1546, 2001.
- 8) Ohru H, Kohgo S, Hayakawa H, Kodama E, Matsuoka M, Nakata T, Mitsuya H : 2'-Deoxy-4'-C-ethynyl-2-fluoroadenosine : a nucleoside reverse transcriptase inhibitor with highly potent activity against all HIV-1 strains, favorable toxic profiles and stability in plasma. *Nucl Acids Symp Ser* 50 : 1-2, 2006.
- 9) Nakata H, Amano M, Koh Y, Kodama E, Yang G, Bailey CM, Kohgo S, Hayakawa H, Matsuoka M, Anderson KS, Cheng YC, Mitsuya H : Activity against human immunodeficiency virus type 1, intracellular metabolism, and effects on human DNA polymerases of 4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine. *Antimicrob Agents Chemother* 51 : 2701-2708, 2007.
- 10) Ohru H, Kohgo S, Hayakawa H, Kodama E, Matsuoka M, Nakata T, Mitsuya H : 2'-deoxy-4'-C-ethynyl-2-fluoroadenosine : a nucleoside reverse transcriptase inhibitor with highly potent activity against wide spectrum of HIV-1 strains, favorable toxic profiles, and stability in plasma. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 26 : 1543-1546, 2007.
- 11) Michailidis E, Huber AD, Ryan EM, Ong YT, Leslie MD, Matzek KB, Singh K, Marchand B, Hagedorn AN, Kirby KA, Rohan LC, Kodama EN, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG : 4'-Ethylnyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) inhibits HIV-1 reverse transcriptase with multiple mechanisms. *J Biol Chem* 289 : 24533-24548, 2014.
- 12) Michailidis E, Marchand B, Kodama EN, Singh K, Matsuoka M, Kirby KA, Ryan EM, Sawani AM, Nagy E, Ashida N, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG : Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by 4'-Ethylnyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine triphosphate, a translocation-defective reverse transcriptase inhibitor. *J Biol Chem* 284 : 35681-35691, 2009.
- 13) Maeda K, Desai DV, Aoki M, Nakata H, Kodama EN, Mitsuya H : 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. *Antivir Ther* 19 : 179-189, 2014.
- 14) Michailidis E, Ryan EM, Hachiya A, Kirby KA, Marchand B, Leslie MD, Huber AD, Ong YT, Jackson JC, Singh K, Kodama EN, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG : Hypersusceptibility mechanism of Tenofovir-resistant HIV to EFdA. *Retrovirology* 10 : 65, 2013.
- 15) Michailidis E, Singh K, Ryan EM, Hachiya A, Ong YT, Kirby KA, Marchand B, Kodama EN, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG : Effect of translocation defective reverse transcriptase inhibitors on the activity of N348I, a connection subdomain drug resistant HIV-1 reverse transcriptase mutant. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 58 : 187-195, 2012.
- 16) Bosma GC, Custer RP, Bosma MJ : A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse. *Nature* 301 : 527-530, 1983.
- 17) Makino S, Kunimoto K, Muraoka Y, Mizushima Y, Katagiri K, Tochino Y : Breeding of a non-obese, diabetic strain of mice. *Jikken Dobutsu* 29 : 1-13, 1980.
- 18) Shultz LD, Schweitzer PA, Christianson SW, Gott B, Schweitzer IB, Tennent B, McKenna S, Mobraaten L, Rajan TV, Greiner DL : Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice. *J Immunol* 154 : 180-191, 1995.
- 19) Prochazka M, Gaskins HR, Shultz LD, Leiter EH : The nonobese diabetic scid mouse: model for spontaneous thymomagenesis associated with immunodeficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 3290-3294, 1992.
- 20) Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, Gott B, Chen X, Chaleff S, Kotb M, Gillies SD, King M, Mangada J, Greiner DL, Handgretinger R : Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *J Immunol* 174 : 6477-6489, 2005.
- 21) Ishikawa F, Yasukawa M, Lyons B, Yoshida S, Miyamoto T, Yoshimoto G, Watanabe T, Akashi K, Shultz LD, Harada M : Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor  $\gamma$  chain (null) mice. *Blood* 106 : 1565-1573, 2005.
- 22) Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, Suzue K, Kawahata M, Hioki K, Ueyama Y, Koyanagi Y, Sugamura K, Tsuji K, Heike T, Nakahata T : NOD/SCID/ $\gamma$  (c)(null) mouse : an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood* 100 : 3175-3182, 2002.
- 23) Brehm MA, Cuthbert A, Yang C, Miller DM, DiIorio P, Laning J, Burzenski L, Gott B, Foreman O, Kavirayani A, Herlihy M, Rossini AA, Shultz LD, Greiner DL : Parameters for establishing humanized mouse models to study human immunity : analysis of human hematopoietic stem cell

- engraftment in three immunodeficient strains of mice bearing the IL2r  $\gamma$  (null) mutation. *Clin Immunol* 135 : 84–98, 2010.
- 24) Pearson T, Shultz LD, Miller D, King M, Laning J, Fodor W, Cuthbert A, Burzenski L, Gott B, Lyons B, Foreman O, Rossini AA, Greiner DL : Non-obese diabetic-recombination activating gene-1 (NOD-Rag1 null) interleukin (IL)-2 receptor common  $\gamma$  chain (IL2r  $\gamma$  null) null mice : a radioresistant model for human lymphohaematopoietic engraftment. *Clin Exp Immunol* 154 : 270–284, 2008.
- 25) Maykel J, Liu JH, Li H, Shultz LD, Greiner DL, Houghton J : NOD-scidII2rg (tm1Wjl) and NOD-Rag1 (null) II2rg (tm1Wjl) : a model for stromal cell-tumor cell interaction for human colon cancer. *Dis Dis Sci* 59 : 1169–1179, 2014.
- 26) Park SY, Saijo K, Takahashi T, Osawa M, Arase H, Hirayama N, Miyake K, Nakauchi H, Shirasawa T, Saito T : Developmental defects of lymphoid cells in Jak3 kinase-deficient mice. *Immunity* 3 : 771–782, 1995.
- 27) Okada S, Harada H, Ito T, Saito T, Suzu S : Early development of human hematopoietic and acquired immune systems in new born NOD/Scid/Jak3null mice intrahepatic engrafted with cord blood-derived CD34+cells. *Int J Hematol* 88 : 476–482, 2008.
- 28) 岩永寿真子, 小野歩, 原田英樹, 鈴木伸也, 岡田誠治 : 高度免疫不全マウス (NOD/SCID/Jak3 欠損マウス) 体内におけるヒト B 細胞の増殖と文化. *Cytometr Res* 18 : 51–56, 2008.
- 29) Jay A, Grobler Friedman E, Barrett SE, Wood SL, Ankrom W, Fillgrove KL, Lai M, Gindy M, Iwamoto M, Hazuda DJ : Long-acting oral and parenteral dosing of MK-8591 for HIV treatment or prophylaxis. Boston, MA, 2016.
- 30) Friedman EJ, Schurmann D, Rudd DJ, Fox-Bosetti S, Zhang S, Robberechts M, Huser A, Hazuda D, Iwamoto M, Grobler JA : A single monotherapy dose of MK-8591, a novel NRTI, suppresses HIV for ten days. Conference on Retroviruses and opportunistic infections. Boston, MA, 2016.
- 31) Molina JM, Yazdanpanah Y, Afani Saud A, Bettacchi C, Chahin Anania C, DeJesus E, Olsen Klopfer S, Grandhi A, Eves K, Robertson MN, Correll T, Hwang C, Hanna GJ, Sklar P : Islatravir in combination with doravirine for treatment-naïve adults with HIV-1 infection receiving initial treatment with islatravir, doravirine, and lamivudine : a phase 2b, randomised, double-blind, dose-ranging trial. *Lancet HIV* 8 : e324–e333, 2021.
- 32) Matthews RP, Patel M, Barrett SE, Haspelslagh L, Reynders T, Zhang S, Rottey S, Goodey A, Vargo RC, Grobler JA, Stoch SA, Iwamoto M : Safety and pharmacokinetics of islatravir subdermal implant for HIV-1 pre-exposure prophylaxis : a randomized, placebo-controlled phase 1 trial. *Nat Med* 27 : 1712–1717, 2021.
- 33) Barrett SE, Teller RS, Forster SP, Li L, Mackey MA, Skomski D, Yang Z, Fillgrove KL, Doto GJ, Wood SL, Lebron J, Grobler JA, Sanchez RI, Liu Z, Lu B, Niu T, Sun L, Gindy ME : Extended-duration MK-8591-eluting implant as a candidate for HIV treatment and prevention. *Antimicrob Agents Chemother* 62 : e01508–18, 2018.
- 34) Markowitz M, Gettie A, St Bernard L, Andrews CD, Mohri H, Horowitz A, Grasperge BF, Blanchard JL, Niu T, Sun L, Fillgrove K, Hazuda DJ, Grobler JA : Once-weekly oral dosing of MK-8591 protects male Rhesus Macaques from intrarectal challenge with SHIV109CP3. *J Infect Dis* 221 : 1398–1406, 2020.