

第25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

分子標的薬開発による HIV 感染症と、HIV 感染者の予後を脅かす
HBV/SARS-CoV-2/MPXV 感染症への対応Molecular-Targeted Drug Development against HIV and Other Viral Diseases
That Threaten the Prognosis of People Living with HIV

高松 悠樹

Yuki TAKAMATSU

国立健康危機管理研究機構 国立国際医療研究所 難治性ウイルス感染症研究部

Department of Refractory Viral Diseases,
National Institute of Global Health and Medicine, Japan Institute for Health Security

日本エイズ学会誌 27: 128-140, 2025

1. はじめに

かつて「死の病」とされた HIV 感染症の予後は、現在では非感染者と同等の水準にまで改善されている。この劇的な進展は、抗レトロウイルス療法 (antiretroviral therapy; ART) の発展と普及に加え、合併症や併存疾患に対する包括的な医療体制の整備、さらには予防策を含む社会的支援の拡充に起因する。なかでも多様な抗 HIV 薬の開発は、ウイルス増殖を直接抑制することで、HIV 感染症をコントロール可能な慢性疾患へと転換させた。

世界初の抗 HIV 薬である zidovudine (ZDV, AZT) は、HIV-1 の増殖に不可欠な逆転写酵素 (reverse transcriptase; RT) を選択的に阻害することで高い臨床効果を示した。現代の ART で中心的な役割を果たす抗 HIV 薬も、逆転写酵素、プロテアーゼ、インテグラーゼなど、HIV-1 の生活環における重要な分子を標的とする阻害薬である。現在、「分子標的薬」という用語は、主に悪性腫瘍や自己免疫性疾患に対する標的型治療を指すことが多いが、抗 HIV 薬こそがその先駆けであると言える。このような抗ウイルス薬の創出には、HIV 研究を中心としたウイルス学に加え、分子生物学、構造生物学、薬理学、製薬化学、免疫学など、広範な分野の研究成果が寄与している。

一方で、HIV 感染症の長期的予後が改善した今日においても、HIV 感染者の生命予後および生活の質 (QOL) に影響を与える新たな臨床課題として、他のウイルスとの併存感染が注目されている。これらのウイルス感染症は、

ウイルス学的特性や感染様式こそ異なるが、分子標的薬という視点から見ると、抗 HIV 薬と同様の作用機序を治療薬として応用できる可能性がある。たとえば、核酸アナログによるポリメラーゼ阻害や、非構造タンパク質の機能阻害といった戦略が、ウイルス種を越えて有効となる可能性がある。抗 HIV 薬開発の知見は、他の難治性ウイルス感染症に対する革新的治療法の創出にもつながりうる。

本稿では、筆者がこれまでに行ってきた抗 HIV 薬の研究開発を基盤としつつ、その成果を B 型肝炎ウイルス (Hepatitis B virus; HBV)、新型コロナウイルス (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; SARS-CoV-2)、エムポックスウイルス (monkeypox virus; MPXV) などの感染症治療薬開発へ応用した研究について紹介する。

2. 抗 HIV 薬 EFdA の構造最適化による次世代抗 HBV 薬の創製

2-1. 長時間作用型 NRTTI ; islatravir (EFdA) の分子特性和抗 HIV 活性

最も歴史のある抗 HIV 薬の一群である核酸系逆転写酵素阻害薬 (NRTIs) は、現在もバックボンドラッグとして HIV 感染者の初回治療に広く用いられている。その中で、近年注目されているのが、きわめて高い抗 HIV-1 活性と長い体内半減期を併せ持つ islatravir (ISL, MK-8591, EFdA) である (図1)^{1~4)}。現在、非核酸系逆転写酵素阻害薬 (NNRTI) である doravirine との合剤 (DOR/ISL) や、カプシド阻害薬 lenacapavir との合剤 (ISL/LEN) など、これまでの ART に見られない新たな組み合わせによる臨床試験が進行中である⁵⁾。

EFdA は「逆転写酵素のトランスロケーション阻害」と「DNA 鎖の終結」という二重の作用機序を持つ点から、核

著者連絡先：高松悠樹 (〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1
国立健康危機管理研究機構国立国際医療研究所 難治性ウイルス感染症研究部)

2025 年 5 月 30 日受付

酸系逆転写酵素トランスロケーション阻害薬 (nucleoside reverse transcriptase translocation inhibitor; NRTTI) と呼ばれる^{6,7)}。化学構造としては核酸アナログのアデノシン誘導体に分類され、4' 位にエチニル基 (-C≡CH)、2 位にフルオロ基 (-F) を有し、3' 位ヒドロキシル基 (-OH) は保持するという独自の構造を有している (図 1)。この中でも特に 4' 位のエチニル基は、HIV-1-RT に対する高い親和性および薬剤耐性克服 (高い genetic barrier) に寄与することが明らかとなっている (詳細は次章で述べる)。

2-2. EFdA の構造展開による HBV 標的核酸アナログ CAdA と E-CFCP の開発

前述のように、NRTI は RNA 依存性 DNA ポリメラーゼとして機能する逆転写酵素を阻害することで作用する。そこで次なる創薬ターゲットとして注目されるのが、B 型肝炎ウイルス (HBV) である。HBV は DNA ウイルスであるが、ウイルス生活環中に RNA 中間体を介して DNA 合成を行う特異な増殖サイクルを有し、HBV 逆転写酵素 (HBV-RT) がその中核を担う⁸⁾。このような機能相同性に基づく創薬アプローチにより、現在では複数の NRTI が抗 HBV 薬として臨床応用されている。

筆者らはこの知見に基づき、EFdA の 4' 位エチニル基を別の官能基に置換することで、HBV に対しても有効な薬剤の創製を試みた。その結果、4' 位にシアノ基 (-C≡N) を有する EFdA 類似核酸アナログ CAdA (図 1) が、HIV-1 および HBV の双方に対してきわめて高い抗ウイルス活性を示すことを *in vitro* 実験により確認した。さらに、CAdA は抗 HBV 核酸アナログ薬 entecavir (ETV) 耐性株 (HBV_{ETV-R}^{L180M/S202G/M204V}) および adefovir (ADV) 耐性株 (HBV_{ADV-R}^{A181T/N236T}) に対しても有効であることが示された⁹⁾。

この *in vitro* 実験での有望な結果を受けて、ヒト肝細胞

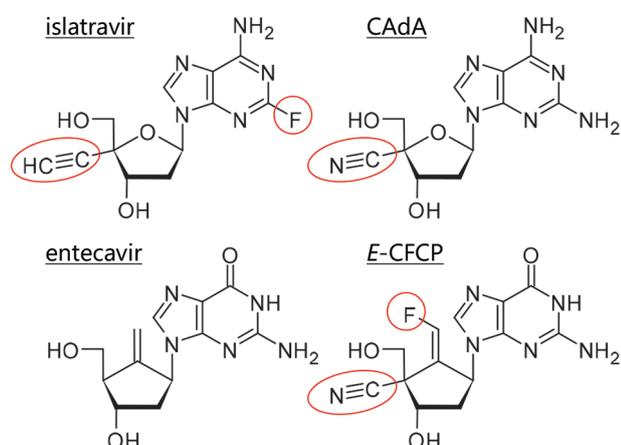


図 1 特徴的な核酸系逆転写酵素阻害薬の化学構造

キメラマウスを用いた *in vivo* 試験においても、ETV を上回る抗 HBV 効果が認められた (図 2A)。また、CAdA 投与マウスでは体重や血清ヒトアルブミン濃度に有意な変動はみられなかった (図 2B)。分子モデリングによる立体構造解析の結果、HBV-RT 活性部位の疎水性ポケットに CAdA のシアノ基が適合し、高い結合親和性を示すことが明らかとなった。一方、HIV-1-RT ではより深いポケットが存在し、複数の 4' 置換核酸アナログが適合可能であることも示唆された (図 3)。しかしながら CAdA には細胞毒性という課題が残されており、さらなる改良が必要とされた⁹⁾。

このような背景を踏まえ、EFdA から構造展開して得られた CAdA の知見をもとに、安全性と選択性を高めた新規化合物 E-CFCP が創製された (図 1)^{10~12)}。E-CFCP は ETV の構造的特徴を保持しつつ、HBV-RT に対する結合特異性を向上させた核酸アナログであり、ETV 耐性株に対しても高い活性を保持することが明らかとなった。E-CFCP は耐性株が問題となる患者に対して新たな治療オプションを提供する可能性がある。

2-3. 抗ウイルス活性に加えた細胞恒常性維持効果の評価と今後の展望

EFdA および E-CFCP はいずれも、HIV-1 および HBV に対して非常に高い抗ウイルス活性を示す。しかし、どちらも生体内 HIV リザーバーや、HBV 感染細胞核内の完全閉環二本鎖 DNA (covalently closed circular DNA; cccDNA) を完全に排除することはできない^{13~15)}。したがって、長期的な治療が必要とされる現状においては、耐性ウイルス対策に加えて、副作用の軽減や服薬アドヒアランスの向上といった「安全性」の確保がきわめて重要である。

そこで筆者らは E-CFCP の安全性評価において、近年注目されている細胞老化に着目した¹⁶⁾。細胞老化は、生体の恒常性維持と加齢に伴う変化の双方に関連した生理的細胞状態であり、発がん抑制などの有益な側面と、慢性炎症による微小組織障害といった有害な側面の両方を有している。これまでに、慢性 B 型肝炎患者においては、肝細胞の老化関連マーカーが病態進行とともに変化し、DNA メチル化などのエピジェネティックな老化現象が抗 HBV 療法によって緩和されることが報告されているが、その機序は明らかではない。

筆者らは、*in vitro* および *in vivo* の両面から、HBV 感染および核酸アナログ投与がヒト肝細胞の老化関連マーカーに及ぼす影響を解析した。その結果、HBV 感染により老化関連 β -ガラクトシダーゼ (SA- β -Gal) 活性が低下し、細胞周期制御因子 p21^{CIP1} の核内発現が減少するなど、細胞老化関連マーカーが大きく変動することが明らかとなった。そして E-CFCP 投与により、変動した各マーカーは HBV 非感染生理状態へと同等の水準へと回復傾向を示し

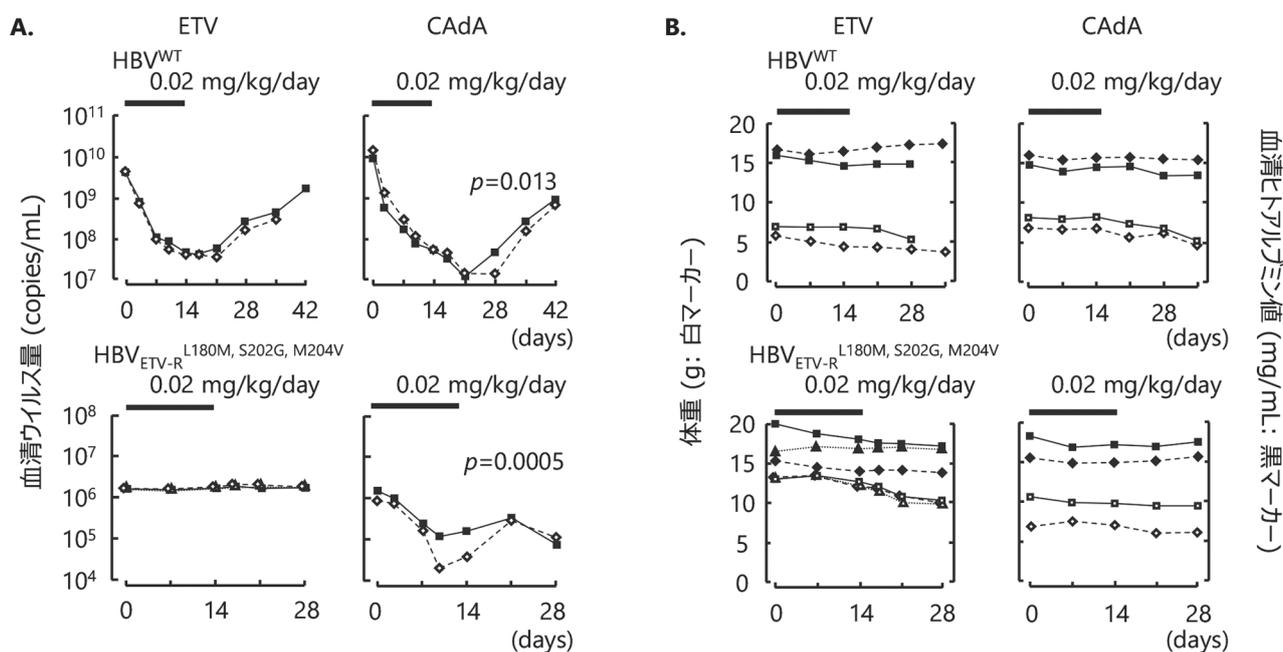


図 2 ヒト肝細胞キメラマウスを用いた ETV および CAaA の効果評価
 (A) ヒト肝細胞キメラマウスに HBV (上段: 野生型, 下段: ETV 耐性株) を感染させ, 8 週後より ETV または CAaA をそれぞれ 0.02 mg/kg/日 で 14 日間経口投与した。薬剤投与中および中止後の血清ウイルス量を経時的に評価した。CAaA 投与群では, ETV 投与群と比較して血清ウイルス量が統計学的有意に減少した。ETV 耐性株 (HBV_{ETV-R}^{L180M/S202G/M204V}) 感染群では, ETV 投与による血清ウイルス量の抑制効果は認められなかったが, CAaA 投与群では有意なウイルス量の低下が認められた。(B) 薬剤投与期間中の体重および血清ヒトアルブミン濃度に顕著な変化は認められず, 両薬剤間で統計学的な有意差もなかった。統計解析は両側検定による反復測定分散分析 (repeated measures ANOVA) を用い, 有意水準は $p < 0.05$ とした。文献 9) より引用改変。

た (図 4)。このことは, E-CFCP がたんなる抗ウイルス作用にとどまらず, 細胞の恒常性維持にも寄与する可能性を示唆している。特に p21^{CIP1} の発現回復は, 細胞周期の正常化や肝発がん抑制作用に関わる可能性があり, E-CFCP の長期的な安全性を支持する重要な知見である¹⁶⁾。今後は, cccDNA の抑制や, 肝発がんに関与する HBx タンパク質の抑制機構など, さらなる詳細な研究が求められる。

3. 抗 HIV 薬の構造基盤と耐性克服機構の解明

3-1. 分子構造解析に基づく構造活性相関と創薬戦略

分子標的薬という視点から抗 HIV 薬開発の知見を応用する創薬アプローチにおいて, これまでに述べた機能相同性に加えて, 立体構造解析も注目すべき手法である。これは, 標的分子である HIV-1-RT やプロテアーゼの三次元構造を, X 線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡を用いて高精度に解析する手法である。近年では, 構造バイオインフォマティクスの急速な発展により, 分子モデリングや立体構造予測手法を活用した構造活性相関 (structure-activity relationship; SAR) 解析が, 新規薬剤開発の重要な基盤と

して注目されている。

これらのアプローチにより, 薬剤分子と酵素活性部位との相互作用—たとえばファンデルワールス力, 疎水性相互作用, 水素結合, 静電的結合などを原子レベルで可視化・定量化することが可能となった。特に, 薬剤耐性変異によって標的酵素の局所構造がどのように変化し, 薬剤との結合親和性がどう影響を受けるかを予測する技術は, 耐性を回避する合理的な分子設計に不可欠である。実際, 特定の置換基を導入することで変異酵素との相互作用を強化したり, 変異の影響を受けにくい構造を構築したりする事例が報告されている。本章では, 抗 HIV 薬の「耐性を越える設計指針」を分子構造の視点から明らかにした研究について紹介する。

3-2. EFdA の 4' 置換基と薬剤耐性克服における分子機構

前章で述べたように, EFdA の高い抗 HIV-1 活性には, 特徴的な 4' 位エチニル基が中心的な役割を果たしている。筆者らは多様な EFdA 類似体の薬剤耐性 HIV-1 株に対する活性を検討する中で, 4' 位の置換基の違いが薬剤耐性株に対する効果に顕著な差をもたらすことを見出した¹⁷⁾。

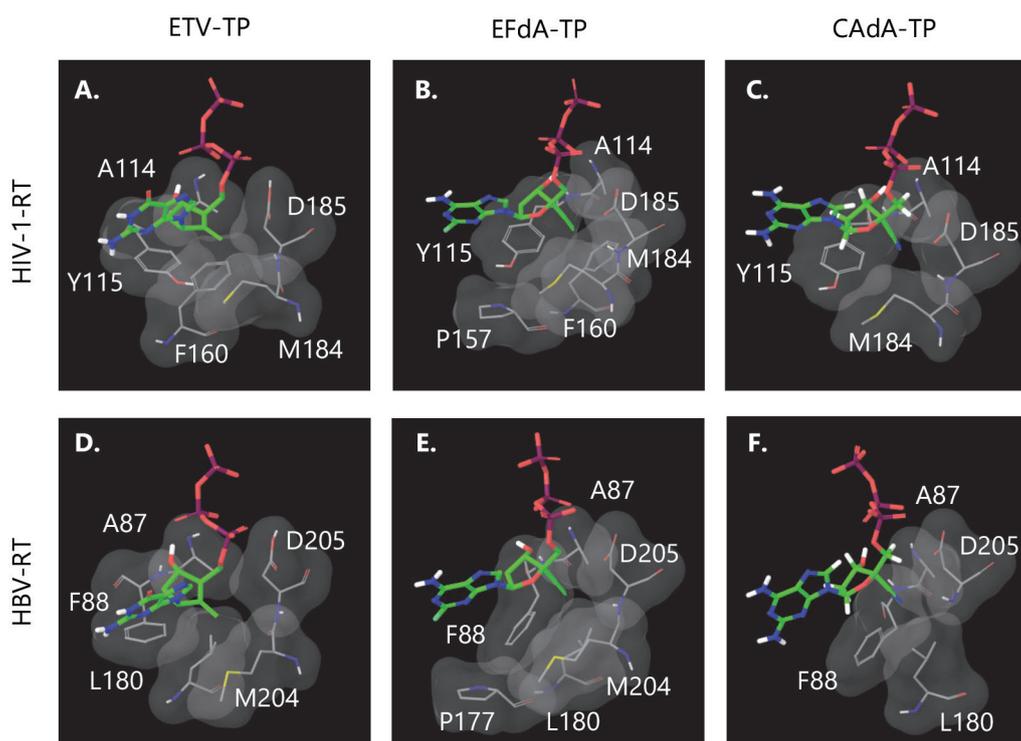


図 3 核酸アナログ三リン酸化体 (Triphosphate; TP) と逆転写酵素の疎水性ポケットとの相互作用
 上段 (A~C) : HIV-1-RT, 下段 (D~F) : HBV-RT. (A) ETV-TP は HIV-1-RT の Y115 とは強い相互作用を示さないが, (D) HBV-RT の相当残基 F88 とは強固な疎水性相互作用を形成する。(B) EFdA-TP は HIV-1-RT と強い疎水性相互作用をもつ。特に EFdA-TP のエチニル基は F160 と強固な疎水性相互作用を形成する。(E) EFdA-TP は HBV-RT との間でも良好な相互作用を示すものの, HIV-1-RT との相互作用ほど強くはない。EFdA-TP のエチニル基は HBV-RT の浅い疎水性ポケットには十分に適合せず, これが HBV に対する EFdA の活性が低い一因と考えられる。(C) CAAdA-TP の 4'-シアノ基は, HIV-1-RT および (F) HBV-RT いずれの疎水性ポケットとも良好な相互作用を形成する。文献 9) より引用改変。

具体的には, 4'-エチニル基 (-C≡CH) または 4'-シアノ基 (-C≡N) を有する化合物は, HIV-1-RT の M184V 変異を含む多剤耐性株の複製を強力に抑制した一方で, 他の置換基を持つ化合物では同変異によって活性が著しく低下した。分子モデリング解析により, EFdA の 4'-エチニル基は, HIV-1-RT の活性部位周辺に存在する疎水性ポケット構成アミノ酸残基 (A114, Y115, F160, M184, D185) との間に強いファンデルワールス (vdW) 相互作用を形成することが明らかとなった (図5)¹⁸⁾。

注目すべき点は, M184V 変異が HIV-1-RT の立体構造に与える影響が比較的小さい一方で, 抗ウイルス活性の保持においては, 疎水性ポケット最深部に存在する F160 残基との立体的かつ疎水的な相互作用がきわめて重要であるという点である。エチニル基やシアノ基のように細長い構造をもつ置換基は, F160 残基との強固な vdW 相互作用を維持することができるため, M184V 変異が導入されても抗

ウイルス活性は保持される。一方で, メチル基 (-CH₃) のように短い構造の置換基では, F160 残基との有効な相互作用が得られず, M184V 変異に伴うわずかな vdW 相互作用が減弱であっても, 抗ウイルス活性が著しく失われることが示された (図 6)。さらに, F160 残基を含む疎水性ポケット構成アミノ酸に対して変異を導入した HIV-1-RT では, 逆転写酵素活性そのものが著しく低下することが確認されており, この部位への変異によって薬剤逃避を図ることはウイルスにとって機能的に困難であることが示唆された¹⁶⁾。以上の知見は, EFdA の高い抗ウイルス活性および薬剤耐性に対する高い genetic barrier の分子基盤を明らかにしたものであり, 今後の抗ウイルス薬開発における重要な指針となると考えられる。

3-3. 新規プロテアーゼ阻害薬による高度耐性 HIV-1 株への挑戦

HIV-1 感染症治療において, プロテアーゼ阻害薬 (PI)

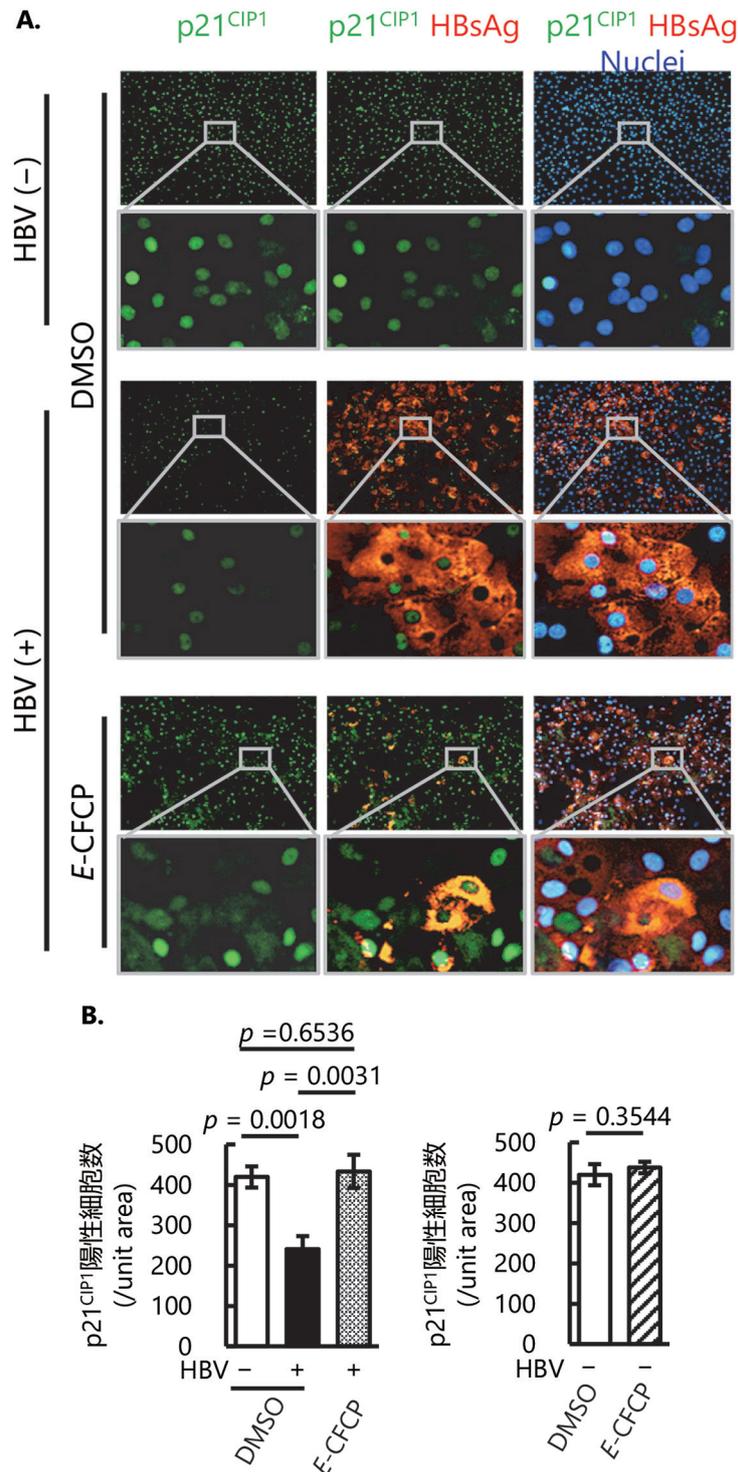


図 4 HBV 感染ヒト肝細胞における老化関連マーカーの発現変動

(A) ヒト肝細胞の免疫細胞化学染色 (ICC)。上段：HBV 非感染・DMSO 処理，中段：HBV 感染・DMSO 処理，および下段：HBV 感染・E-CFCP 処理。p21^{CIP1} は Alexa 488 (緑) で，HBsAg は Alexa 594 (赤)，核は DAPI (青) により蛍光を可視化した。白枠内は拡大図として示す。(B) HBV 感染により p21^{CIP1} 陽性細胞数は統計学的有意に減少したが，E-CFCP 投与により非感染細胞と同等の生理的水準にまで完全に回復した (左パネル)。また HBV 非感染細胞に E-CFCP を投与しても，p21^{CIP1} 陽性細胞数は変化しなかった。統計解析には両側 *t*-検定を用い，有意水準は $p < 0.05$ とした。文献 16) より引用改変。

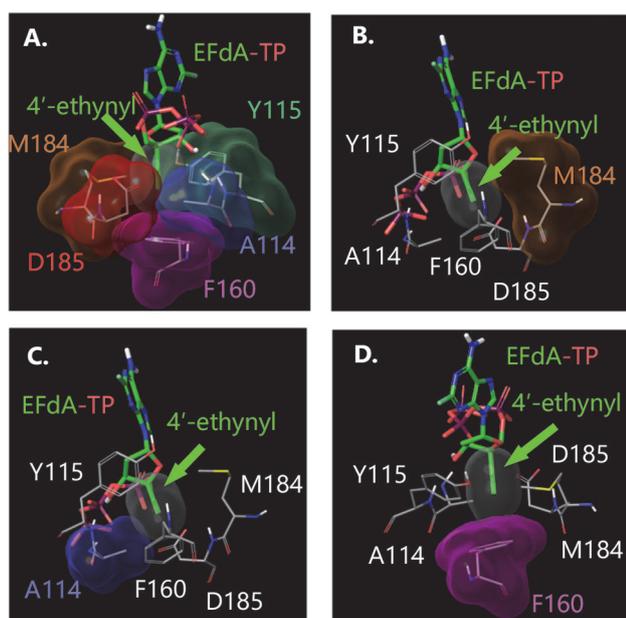


図 5 野生型 HIV-1-RT と EFdA-TP の相互作用解析
 (A) EFdA-TP が結合した HIV-1-RT 活性部位近傍の疎水性ポケットの構造 (PDB: 5J2M¹⁸)。EFdA-TP は N サイト (プレトランスロケーションモード) に位置し、その 4'-エチニル基は A114, Y115, F160, M184, D185 などの残基と強固なファンデルワールス (vdW) 相互作用を形成する。これにより、EFdA-TP は P サイト (ポストトランスロケーションモード) への移動が阻害される。(B~D) EFdA の 4'-エチニル基が形成する、(B) M184, (C) A114, (D) F160 との詳細な vdW 相互作用。各残基はいずれも EFdA と良好な相互作用を示す。vdW 表面色分け: M184 (茶), A114 (青), F160 (マゼンタ)。文献 17) より引用改変。

の実用化は、ART の端緒となった。現在ではインテグラーゼ阻害薬 (INSTI) がキードラッグの主流となっているが、高い genetic barrier と良好な忍容性を兼ね備えた darunavir (DRV)^{19~21)} は、アドヒアランス不良時などに依然として重要な治療選択肢である。

筆者らは DRV の構造を基に設計展開し、特徴的な置換基を有する新規 PI である GRL-057-14 を同定した (図7)²²⁾。この化合物は、野生型 HIV-1 に加えて、高度な DRV 耐性を示す HIV-1_{DRV-R}^{P51} 株を含む多剤耐性 HIV-1 変異株に対しても高い抗ウイルス活性を示した。分子モデリング解析により、GRL-057-14 の P2 部位に存在する C-5-イソプロピルアミノ-bis-THF 基が、HIV-1 プロテアーゼの活性部位と追加的な極性相互作用を形成することが明らかとなった。また P1 部位のビスフルオロメチルベンゼン基は、強力な水素結合および有効な vdW 相互作用を形成しており、これ

らの相互作用が本化合物の高い抗ウイルス活性と genetic barrier に寄与していると考えられる (図7)。

さらに、同様に DRV の構造を基に同定された GRL-142²³⁾ には、プロテアーゼ阻害によるきわめて高い抗 HIV-1 活性に加えて、注目すべき性質が明らかとなっている。近年の研究により、GRL-142 は PI でありながら HIV-1 インテグラーゼにも結合し、HIV-1 プレインテグレーション複合体 (pre-integration complex; PIC) の核移行シグナルを阻害することが判明した²⁴⁾。GRL-142 は臨床分離された INSTI 耐性株に対してもきわめて高い抗ウイルス活性を示し、高度 INSTI 耐性株に対する救済療法としての可能性を有する²⁴⁾。

4. 新興感染症に対する特定臨床試験を支える基礎研究とその限界

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の世界的流行は、感染症に対する迅速な治療法および予防策開発の重要性を改めて浮き彫りにした。新興感染症において治療薬やワクチンが未確立の段階では、「受動免疫療法」が有効な初期介入手段となりうる。その代表例が、過去に同様のウイルスに感染し回復した患者の血漿を用いた回復者血漿療法 (convalescent plasma therapy) である。この治療法は、回復者血漿中に含まれる中和抗体、特にウイルスが標的細胞へと侵入する際に重要な役割を果たすスパイクタンパク質を標的とした中和抗体が重要である^{25~27)}。これまでも、重症急性呼吸器症候群 (SARS) や中東呼吸器症候群 (MERS) など、他の新型コロナウイルス感染症において一定の治療効果が報告されてきた。COVID-19 においても、重症化を防ぐ治療選択肢の 1 つとして、感染初期での適用が期待されたが、その有効性と安全性については厳密な科学的検証が求められた。

筆者が所属する国立国際医療研究センター (当時、現、国立健康危機管理研究機構) では、COVID-19 回復者からの血漿採取および罹患者への回復者血漿療法を実施する臨床研究が立ち上げられた^{28~32)}。筆者らは、SARS-CoV-2 自然感染ゴールデンハムスターを用いた動物モデル実験を通じて、高中和活性を有する回復者血漿 (高力価血漿) の有効性を検証した³³⁾。これは、回復者血漿療法の有効性を基礎研究の立場から評価したものである。

その結果、高力価血漿を投与されたハムスターでは、SARS-CoV-2 感染後の肺内ウイルス量が最大で 1/32 まで減少した (図 8A)。胸部 CT 画像における肺病変の評価では、高力価血漿投与群でにおいて、対照群と比較して明らかに病変が軽減していた (図 8B)。本研究により高力価血漿およびその IgG 画分が SARS-CoV-2 感染に対して強力な抗ウイルス効果を持ち、肺病変の進行を抑制することが

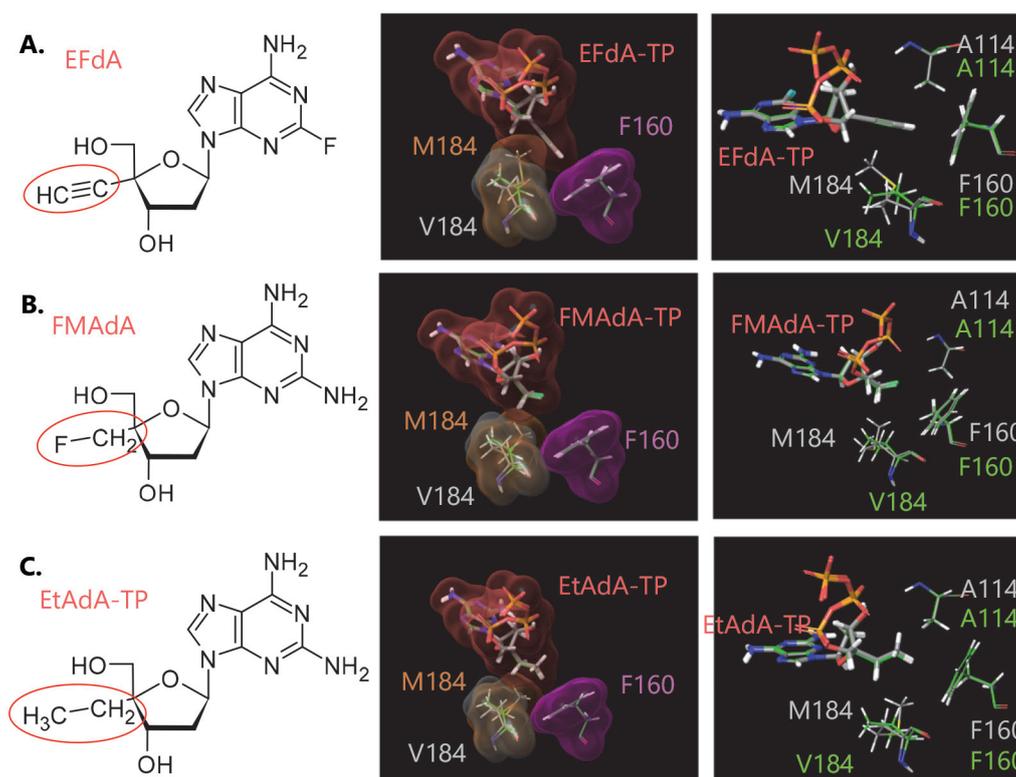


図 6 HIV-1-RT と EFdA 類似核酸アナログ-TP の相互作用解析

左列：核酸アナログの化学構造，中央列：F160 および M/V184 と核酸アナログとの vdW 相互作用，右列：核酸アナログと、A114、F160、M/V184 との空間配置。M184V 変異導入後も活性部位残基の空間配置に大きな変化は見られなかった。(A) EFdA-TP の 4'-エチニル基 (-C≡CH) は、野生型および M184V 変異型 HIV-1-RT に対して、F160M/V184 と強固な相互作用を維持する。(B) FMAAdA-TP の 4'-フルオロメチル基 (-CH₂-F)，および (C) EtAdA-TP の 4'-エチル基 (-CH₂-CH₃) では、EFdA-TP の 4'-エチニル基と比較して F160 残基との有効な相互作用が得られないことが明らかとなった。また、これらの置換基は、M184 (野生型) とは良好な vdW 相互作用を形成するものの、V184 変異では相互作用が減弱することが示された。vdW 表面色分け：M184 (茶)，V184 (灰)，F160 (マゼンタ)。炭素骨格色分け：M184 (灰)，V184 (緑)。文献 17) より引用改変。

示された³³⁾。

一方、その後の臨床試験では、ヒトに対する回復者血漿療法の有効性は限定的であるとされた³¹⁾。また、抗 SARS-CoV-2 療法薬 (いずれもウイルスの重要分子を標的とする阻害薬^{34~41)}) や、きわめて高い臨床効果を示す mRNA ワクチン^{42~46)} など新たなプラットフォームを用いたワクチンの臨床応用が進んだ結果、COVID-19 に対する回復者血漿療法は実臨床で用いられることはなくなった。

5. さいごに：結論と今後の展望

本稿では、分子標的薬としての抗 HIV 薬の開発研究を起点とし、B 型肝炎ウイルス (HBV) やその他の難治性ウイルス感染症に対する創薬応用の可能性について概説し

た。特に、EFdA (islatravir) および E-CFCP の創製は、HIV および HBV に共通する逆転写酵素を分子標的とした構造設計の成果であり、「機能相同性」と「構造的特異性」の両立という抗ウイルス薬設計における新たな指針を示すものである。これらの薬剤は、薬剤耐性ウイルスに対しても高い抗ウイルス効果を維持しており、将来的な臨床応用が期待される。

筆者らは現在、新興感染症であるエムポックス (Mpox) の原因ウイルス (MPXV) に対し、主要プロテアーゼを標的とする阻害薬の研究に取り組んでいる。多くの免疫健全者では Mpox は軽症にとどまるが、免疫応答が低下した活動性 HIV 陽性者などにおいては、抗 MPXV 療法の導入が推奨される。しかし Mpox 治療において最も重要な要素は

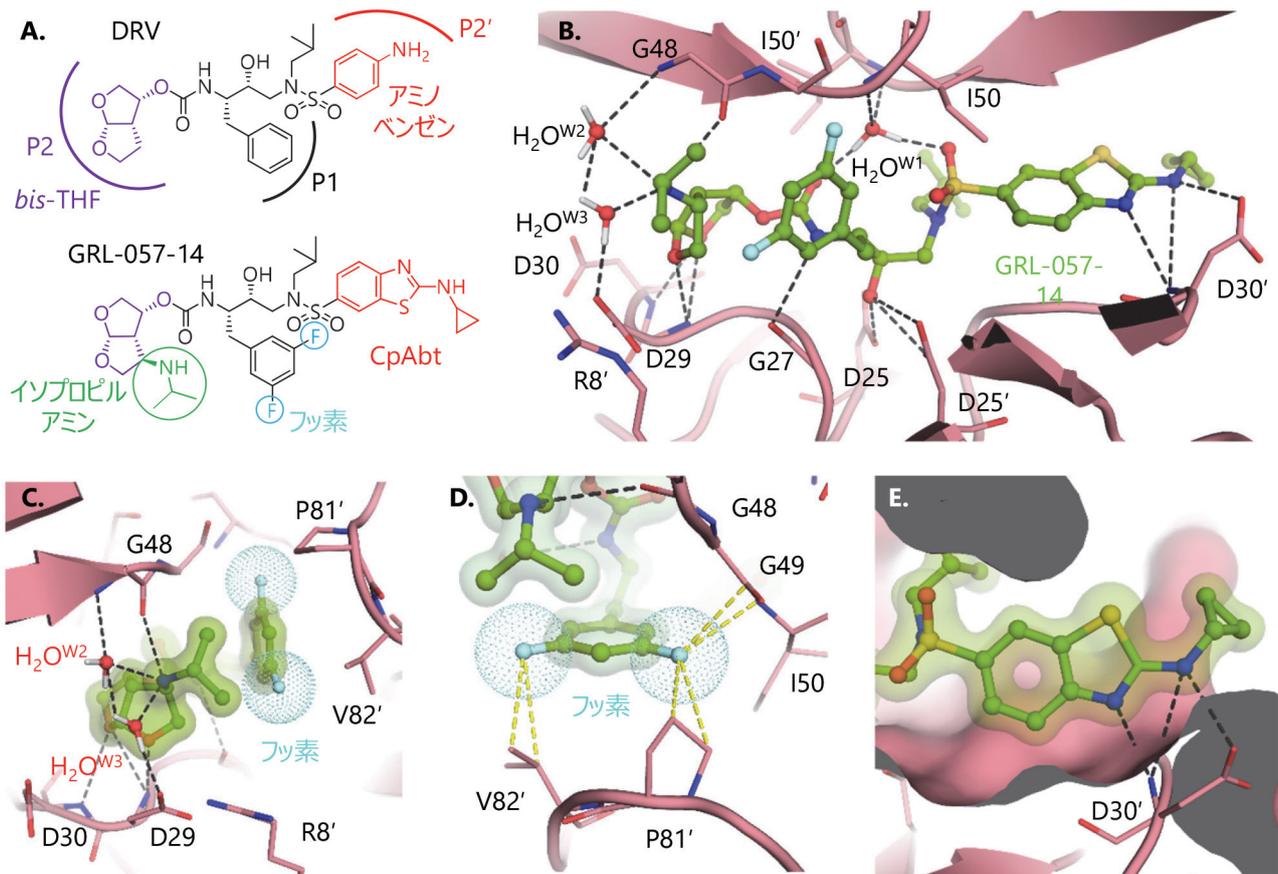


図 7 野生型 HIV-1 プロテアーゼと GRL-057-14 の相互作用解析

(A) Darunavir (DRV) と GRL-057-14 の化学構造。DRV は P2-*bis*-THF 基, P1-ベンジル基, P2'-アミノベンゼン構造をもつ。GRL-057-14 は, 特徴的な P2-*bis*-THF 基にイソプロピルアミンを, P1-ベンジル基に 2 個のフッ素原子を, さらに P2'-CpAbt (cyclopropyl-amino-benzothiazole) 構造をもつ。(B) HIV-1 プロテアーゼの結合ポケット内における GRL-057-14 (緑) の水素結合。S2 部位近位には触媒の水分子 (W1) と橋渡し水分子 (W2, W3) が存在する。水素結合のパターンは DRV と類似しているが, D30' および G48 との新たな水素結合を形成する。(C) GRL-057-14 の P2 部位を中心とした相互作用。GRL-057-14 の P2 位構造は, G48 のカルボニル基と直接水素結合を形成し, アミド基とも水分子 (W2, W3) を介した水素結合を形成する。(D) 2 個のフッ素原子は P81', V82', G49 と相互作用する。また, P2-*bis*-THF に付加されたイソプロピルアミン基とのハロゲン結合も形成している。(E) GRL-057-14 の P2'-CpAbt 基は, D30' と 3 つの水素結合を形成し, DRV よりも強固な結合性を示す。さらに, GRL-057-14 のシクロプロピル基は, 結合ポケットから突出し, 追加の相互作用を形成している。文献 22) より引用改変。

正常な免疫機能の回復・獲得であり, とりわけ未治療の HIV 陽性者では ART の導入が不可欠である。現時点で利用可能な抗 MPXV 薬は限られており, その臨床効果も限定的であることから, より効果的な治療薬の開発は喫緊の課題である。

先般, 世界保健機関 (WHO) により「パンデミック条約」が採択され, 感染症対策の国際的枠組み強化が進められている。将来的なパンデミックへの備えとして, 感染症治療薬の研究開発は今後ますます重要性を増すと考えられる。創薬研究における基礎研究から臨床応用への段階的な

橋渡し (いわゆるトランスレーショナル・プロセス) は, 薬剤開発のゴールドスタンダードとされる。しかし, とくに新興感染症の感染拡大初期のように病態知見が限られる状況では, 基礎と臨床の研究結果に乖離が生じやすく, 薬剤効果に関する臨床エビデンスの構築にも困難が伴う。また, 既存薬の転用 (ドラッグ・リポジショニング) は新興感染症対応における初動戦略として一定の意義を持つが, 厳密な科学的検証なしに安易に臨床応用されることは, 患者に不利益をもたらすばかりではなく, 真に有効な治療薬開発を妨げるおそれがある。したがって, 基礎から臨床に

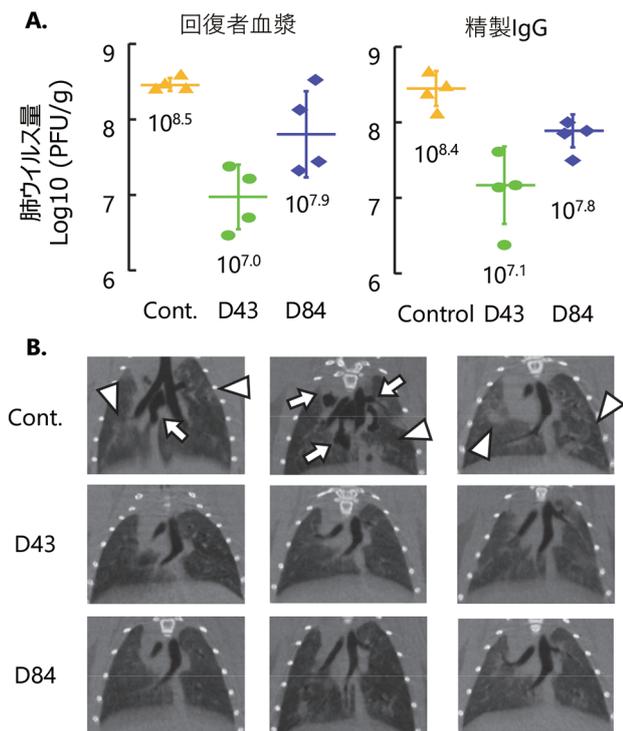


図 8 SARS-CoV-2 感染ハムスターに対する回復者血漿療法の効果

1 歳齢オスゴールデンハムスターに、野生型の臨床分離株 SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2^{UT-NCGM02}) を 10³ PFU の用量で経鼻接種した。接種 24 時間後に回復期血漿または同血漿由来の精製 IgG を、それぞれ 2 mL 腹腔内投与した。(A) 対照群 (SARS-CoV-2 非感染健康ヒト血漿投与群) および高力価血漿投与群の肺内ウイルス量。ウイルス接種後 4 日目 (血漿投与の 3 日後) に、肺ウイルス量を VeroE6^{TMPRSS2} 細胞によるプラークアッセイで測定した。2 種類の高力価血漿 (D43, D84) を投与されたハムスターの肺内ウイルス量はいずれも 1/10 以下へ低下した。結果は幾何平均値±SD で示す。(B) 回復期血漿投与 8 日後の肺 CT 画像 (冠状断像)。対照群 (上段) では、浸潤影や線維化を伴うすりガラス陰影 (GGO) が広範に認められた。高力価血漿群 (中・下段) では、12 日間の観察期間を通して明らかな肺異常は認められなかった。矢頭: GGO, 矢印: 縦隔気腫。文献 33) より引用改変。

至る各段階が双方向的に連携し、科学的妥当性と再現性に基づく厳密な検証を継続的に積み重ねていくことが、創薬研究の信頼性を支える本質的な要件である。

筆者は今後も、HIV 薬研究の知見と基盤を活かし、多様なウイルス感染症に対応可能な治療戦略の構築および、次世代抗ウイルス薬の創出に挑戦していきたいと考えてい

る。

謝辞

第 25 回日本エイズ学会 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞の受賞にあたり、ご推薦くださり、つねに的確なご指導を賜りました国立健康危機管理研究機構国立国際医療研究所長、満屋裕明先生に心より御礼申し上げます。本研究の遂行にあたり、米国留学中から公私にわたり多大なるご支援をいただきました、鹿児島大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター抗ウイルス療法研究分野の前田賢次先生、熊本保健科学大学保健科学研究科保健科学専攻の青木学先生にも深く御礼申し上げます。B 型肝炎ウイルスに関わる研究においては、熊本大学大学院生命科学部消化器内科学講座の田中靖人先生、木村佐奈衣先生、名古屋市立大学大学院医学研究科病態医学講座ウイルス学分野の村上周子先生に多々ご指導を賜りました。EFdA 類似核酸アナログ合成には、日本薬科大学薬学部の原口一広先生、熊本浩樹先生、向後悟先生、崇城大学薬学部の井本修平先生にご尽力を賜りました。さらに SARS-CoV-2 動物感染実験には、東京大学医科学研究所ウイルス感染部門の河岡義裕先生、今井正樹先生、岩附研子先生、木曾真紀先生、前村忠先生、伊藤陸美先生に多大なお力添えをいただきました。COVID-19 に関わる研究には、国立健康危機管理研究機構国立国際医療センター国際感染症センターの大曲貴夫先生、森岡慎一郎先生、岩元典子先生、齋藤翔先生、鈴木哲也先生、寺田麻里先生、大阪大学大学院医学系研究科感染制御学の忽那賢志先生、国立健康危機管理研究機構国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センターの土屋亮人先生、国立健康危機管理研究機構国立国際医療センター臨床研究センターの杉浦互先生、東京都健康安全研究センターの吉村和久先生、貞升健志先生、長島真美先生に大いに支援いただきました。ここに改めて感謝申し上げます。また COVID-19 克服に向け、国立国際医療研究センター (当時) の臨床研究にご協力をいただきましたすべての患者様、センター病院スタッフ、関係各所の先生方に厚く御礼申し上げます。最後に、本研究全般にわたりお世話になりました国立健康危機管理研究機構国立国際医療研究所難治性ウイルス感染症研究部メンバーの皆様にご礼申し上げます。

利益相反: 本研究において、利益相反に相当する事項はない。

文 献

- 1) 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. doi: 10.1128/AAC.00277-07. Epub 2007 Jun 4. PMID: 17548498; PMCID: PMC1932487
- 2) 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. doi: 10.1128/AAC.00270-09. Epub 2009 Jun 22. PMID: 19546363; PMCID: PMC2737856
 - 3) Hachiya A, Reeve AB, Marchand B, Michailidis E, Ong YT, Kirby KA, Leslie MD, Oka S, Kodama EN, Rohan LC, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG: Evaluation of combinations of 4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine with clinically used antiretroviral drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 57:4554-4558, 2013. doi: 10.1128/AAC.00283-13. Epub 2013 Jun 24. PMID: 23796932; PMCID: PMC3754316
 - 4) 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. doi: 10.3851/IMP2697. Epub 2013 Oct 25. PMID: 24162098
 - 5) MERCK HIV Clinical Program Overview. <https://www.merck.com/wp-content/uploads/sites/124/2024/03/Merck-HIV-Pipeline.pdf> Last (accessed May 26, 2025)
 - 6) 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'-Ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA) inhibits HIV-1 reverse transcriptase with multiple mechanisms. *J Biol Chem* 29:289:24533-24548, 2014. doi: 10.1074/jbc.M114.562694. Epub 2014 Jun 26. PMID: 24970894; PMCID: PMC4148878
 - 7) 服部真一朗 : EFdA/islatravir の研究開発. *日本エイズ学会誌* 24 : 63-71, 2022.
 - 8) Aoki-Sei S, O'Brien MC, Ford H, Fujii H, Gilbert DA, Cooney DA, Johns DG, Broder S, Mitsuya H: *In vitro* inhibition of hepatitis B virus replication by 2',3'-dideoxyguanosine, 2',3'-dideoxyinosine, and 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine in 2.2.15 (PR) cells. *J Infect Dis* 164:843-851, 1991. doi: 10.1093/infdis/164.5.843. PMID: 1940465
 - 9) Takamatsu Y, Tanaka Y, Kohgo S, Murakami S, Singh K, Das D, Venzon DJ, Amano M, Higashi-Kuwata N, Aoki M, Delino NS, Hayashi S, Takahashi S, Sukenaga Y, Haraguchi K, Sarafianos SG, Maeda K, Mitsuya H: 4'-Modified nucleoside analogs: potent inhibitors active against entecavir-resistant hepatitis B virus. *Hepatology* 62:1024-1036, 2015. doi: 10.1002/hep.27962. Epub 2015 Aug 25. PMID: 26122273; PMCID: PMC4589464
 - 10) Higashi-Kuwata N, Hayashi S, Das D, Kohgo S, Murakami S, Hattori SI, Imoto S, Venzon DJ, Singh K, Sarafianos SG, Tanaka Y, Mitsuya H: CMCdG, a novel nucleoside analog with favorable safety features, exerts potent activity against wild-type and entecavir-resistant hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother* 27:63:e02143-e02118, 2019. doi: 10.1128/AAC.02143-18. PMID: 30670420; PMCID: PMC6437475
 - 11) Higashi-Kuwata N, Hayashi S, Kumamoto H, Ogata-Aoki H, Das D, Venzon D, Hattori SI, Bulut H, Hashimoto M, Otagiri M, Takamune N, Kishimoto N, Davis DA, Misumi S, Kakuni M, Tanaka Y, Mitsuya H: Identification of a novel long-acting 4'-modified nucleoside reverse transcriptase inhibitor against HBV. *J Hepatol* 74:1075-1086, 2021. doi: 10.1016/j.jhep.2020.12.006. Epub 2020 Dec 15. PMID: 33333207; PMCID: PMC9703152
 - 12) Kumamoto H, Higashi-Kuwata N, Hayashi S, Das D, Bulut H, Tokuda R, Imoto S, Onitsuka K, Honda Y, Odanaka Y, Shimbara-Matsubayashi S, Haraguchi K, Tanaka Y, Mitsuya H: Synthesis of novel entecavir analogues having 4'-cyano-6"-fluoromethylenecyclopentene skeletons as an aglycone moiety as highly potent and long-acting anti-hepatitis B virus agent. *RSC Adv* 13:15999-16011, 2023. doi: 10.1039/d3ra01750h. PMID: 37265996; PMCID: PMC10230191
 - 13) 松田幸樹, 前田賢次 : HIV 感染症の根治 (Cure) を目指した *in vitro* HIV リザーバー解析と新規治療薬開発. *日本エイズ学会誌* 21 : 159-166, 2019.
 - 14) Matsuda K, Maeda K: HIV reservoirs and treatment strategies toward curing HIV infection. *Int J Mol Sci* 25:2621, 2024. doi: 10.3390/ijms25052621. PMID: 38473868; PMCID: PMC10932120
 - 15) Hayashi S, Nagaoka K, Tanaka Y: Blood-based biomarkers in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma, including the viral genome and glycosylated proteins. *Int J Mol Sci* 22:11051, 2021. doi: 10.3390/ijms222011051.

- PMID: 34681709; PMCID: PMC8540379
- 16) Takamatsu Y, Hayashi S, Kumamoto H, Imoto S, Tanaka Y, Mitsuya H, Higashi-Kuwata N: A novel anti-HBV agent, E-CFCP, restores Hepatitis B virus (HBV)-induced senescence-associated cellular marker perturbation in human hepatocytes. *Virus Res* 329:199094, 2023. doi: 10.1016/j.virusres.2023.199094. Epub 2023 Mar 23. PMID: 36933835; PMCID: PMC10194405
 - 17) Takamatsu Y, Das D, Kohgo S, Hayashi H, Delino NS, Sarafianos SG, Mitsuya H, Maeda K: The high genetic barrier of EFdA/MK-8591 stems from strong interactions with the active site of drug-resistant HIV-1 reverse transcriptase. *Cell Chem Biol* 25:1268–1278. e3, 2018. doi: 10.1016/j.chembiol.2018.07.014. Epub 2018 Aug 30. PMID: 30174310; PMCID: PMC6261781
 - 18) Salie ZL, Kirby KA, Michailidis E, Marchand B, Singh K, Rohan LC, Kodama EN, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG: Structural basis of HIV inhibition by translocation-defective RT inhibitor 4'-ethynyl-2'-deoxyadenosine (EFdA). *Proc Natl Acad Sci USA* 113:9274–9279, 2016. doi: 10.1073/pnas.1605223113. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27489345; PMCID: PMC4995989
 - 19) Koh Y, Nakata H, Maeda K, Ogata H, Bilcer G, Devasamudram T, Kincaid JF, Boross P, Wang YF, Tie Y, Volarath P, Gaddis L, Harrison RW, Weber IT, Ghosh AK, Mitsuya H: Novel bis-tetrahydrofuranylurethane-containing nonpeptidic protease inhibitor (PI) UIC-94017 (TMC114) with potent activity against multi-PI-resistant human immunodeficiency virus *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother* 47:3123–3129, 2003. doi: 10.1128/AAC.47.10.3123-3129.2003. PMID: 14506019; PMCID: PMC201142
 - 20) 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 USA* 111:12234–12239. doi: 10.1073/pnas.1400027111. Epub 2014 Aug 4. PMID: 25092296; PMCID: PMC4142999
 - 21) Aoki M, Das D, Hayashi H, Aoki-Ogata H, Takamatsu Y, Ghosh AK, Mitsuya H: Mechanism of darunavir (DRV)'s high genetic barrier to HIV-1 resistance: a key V32I substitution in protease rarely occurs, but once it occurs, it predisposes HIV-1 to develop DRV resistance. *mBio* 9:e02425–e02417. doi: 10.1128/mBio.02425-17. PMID: 29511083; PMCID: PMC5844992
 - 22) Takamatsu Y, Aoki M, Bulut H, Das D, Amano M, Sheri VR, Kovari LC, Hayashi H, Delino NS, Ghosh AK, Mitsuya H: Novel protease inhibitors containing C-5-modified bis-tetrahydrofuranylurethane and aminobenzothiazole as P2 and P2' ligands that exert potent antiviral activity against highly multidrug-resistant HIV-1 with a high genetic barrier against the emergence of drug resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 25;63:e00372-19. doi: 10.1128/AAC.00372-19. PMID: 31085520; PMCID: PMC6658756
 - 23) Aoki M, Hayashi H, Rao KV, Das D, Higashi-Kuwata N, Bulut H, Aoki-Ogata H, Takamatsu Y, Yedidi RS, Davis DA, Hattori SI, Nishida N, Hasegawa K, Takamune N, Nyalapatla PR, Osswald HL, Jono H, Saito H, Yarchoan R, Misumi S, Ghosh AK, Mitsuya H: A novel central nervous system-penetrating protease inhibitor overcomes human immunodeficiency virus 1 resistance with unprecedented aM to pM potency. *Elife* 17;6:e28020, 2017. doi: 10.7554/eLife.28020. PMID: 29039736; PMCID: PMC5644950
 - 24) Aoki M, Aoki-Ogata H, Bulut H, Hayashi H, Takamune N, Kishimoto N, Tanaka H, Higashi-Kuwata N, Hattori SI, Das D, Venkateswara Rao K, Iwama K, Davis DA, Hasegawa K, Murayama K, Yarchoan R, Ghosh AK, Pau AK, Machida S, Misumi S, Mitsuya H: GRL-142 binds to and impairs HIV-1 integrase nuclear localization signal and potently suppresses highly INSTI-resistant HIV-1 variants. *Sci Adv* 9:eadg2955, 2023. doi: 10.1126/sciadv.adg2955. Epub 2023 Jul 12. PMID: 37436982; PMCID: PMC10337902
 - 25) Maeda K, Higashi-Kuwata N, Kinoshita N, Kutsuna S, Tsuchiya K, Hattori SI, Matsuda K, Takamatsu Y, Gatanaga H, Oka S, Sugiyama H, Ohmagari N, Mitsuya H: Neutralization of SARS-CoV-2 with IgG from COVID-19-convalescent plasma. *Sci Rep* 11:5563, 2021. doi: 10.1038/s41598-021-84733-5. PMID: 33692457; PMCID: PMC7946899
 - 26) Tsuchiya K, Maeda K, Matsuda K, Takamatsu Y, Kinoshita N, Kutsuna S, Hayashida T, Gatanaga H, Ohmagari N, Oka S, Mitsuya H: Neutralization activity of IgG antibody in COVID-19-convalescent plasma against SARS-CoV-2 variants. *Sci Rep* 13:1263. doi: 10.1038/s41598-023-28591-3. PMID: 36690803; PMCID: PMC9869318
 - 27) Atarashi Y, Kim J, Irino Y, Amano M, Tsuchiya K, Maeda K, Terada M, Iwamoto N, Shimada S, Mitsuya H, Yanagida M, Takamatsu Y: A high-throughput, fully automated competition assay to evaluate SARS-CoV-2 neutralizing responses and epitope specificity in clinical samples. *Sci Rep* 15:11589, 2025. doi: 10.1038/s41598-025-94317-2. PMID: 40185856; PMCID: PMC11971398
 - 28) Terada M, Kutsuna S, Togano T, Saito S, Kinoshita N,

- Shimanishi Y, Suzuki T, Miyazato Y, Inada M, Nakamoto T, Nomoto H, Ide S, Sato M, Maeda K, Matsunaga A, Satake M, Matsubayashi K, Tsuno H, Kojima M, Kuramitsu M, Tezuka K, Ikebe E, Okuma K, Hamaguchi I, Shiratori K, Sato M, Kawakami Y, Inaba K, Igarashi S, Yamauchi R, Matsumura M, Ishimaru K, Zhang B, Kuge C, Ishihara M, Gouda M, Tanaka K, Ishizaka Y, Ohmagari N: How we secured a COVID-19 convalescent plasma procurement scheme in Japan. *Transfusion* 61:1998–2007. doi: 10.1111/trf.16541. Epub 2021 Jun 12. PMID: 34096059; PMCID: PMC8242376
- 29) Tomita N, Saito S, Terada-Hirashima J, Mikami A, Uemura Y, Kutsuna S, Nomoto H, Fujisawa K, Nagashima M, Terada M, Ashida S, Morioka S, Satake M, Hangaishi A, Togano T, Shiratori K, Takamatsu Y, Maeda K, Ohmagari N, Sugiura W, Mitsuya H: A multi-center, open-label, randomized controlled trial to evaluate the efficacy of convalescent plasma therapy for coronavirus disease 2019: a trial protocol (COVIPLA-RCT). *Life (Basel)* 12:856, 2022. doi: 10.3390/life12060856. PMID: 35743887; PMCID: PMC9225318
- 30) Kutsuna S, Saito S, Takamatsu Y, Terada M, Togano T, Kinoshita N, Maeda K, Matsunaga A, Satake M, Matsubayashi K, Tsuno NH, Kojima M, Kuramitsu M, Tezuka K, Ikebe E, Okuma K, Hamaguchi I, Shimanishi Y, Hangaishi A, Ishizaka Y, Ohmagari N, Mitsuya H: Safety of convalescent plasma therapy for COVID-19 patients and analysis of viral kinetics: a single-center, open-label, single-arm, interventional study in Japan. *GHM Open* 2:38–43, 2022. doi: 10.35772/ghmo.2022.01002. PMID: 40144708; PMCID: PMC11933975
- 31) Saito S, Kutsuna S, Akifumi I, Hase R, Oda R, Terada J, Shimizu Y, Uemura Y, Takamatsu Y, Yasuhara A, Shiratori K, Satake M, Sakamoto N, Miyazaki Y, Shimizu H, Togano T, Matsunaga A, Okuma K, Hamaguchi I, Fujisawa K, Nagashima M, Ashida S, Terada M, Kimura A, Morioka S, Matsubayashi K, Tsuno NH, Kojima M, Kuramitsu M, Tezuka K, Ikebe E, Ishizaka Y, Kenji M, Hangaishi A, Mikami A, Sugiura W, Ohmagari N, Mitsuya H. Efficacy of convalescent plasma therapy for COVID-19 in Japan: An open-label, randomized, controlled trial. *J Infect Chemother* 29:869–874, 2023. doi: 10.1016/j.jiac.2023.05.012. Epub 2023 May 11. PMID: 37178973; PMCID: PMC10174342
- 32) Terada M, Saito S, Kutsuna S, Kinoshita-Iwamoto N, Togano T, Hangaishi A, Shiratori K, Takamatsu Y, Maeda K, Ishizaka Y, Ohtsu H, Satake M, Mitsuya H, Ohmagari N: Efficacy and safety of treatment with plasma from COVID-19-recovered individuals. *Life (Basel)* 13:2184, 2023. doi: 10.3390/life13112184. PMID: 38004324; PMCID: PMC10671928
- 33) Takamatsu Y, Imai M, Maeda K, Nakajima N, Higashi-Kuwata N, Iwatsuki-Horimoto K, Ito M, Kiso M, Maemura T, Takeda Y, Omata K, Suzuki T, Kawaoka Y, Mitsuya H: Highly neutralizing COVID-19 convalescent plasmas potently block SARS-CoV-2 replication and pneumonia in syrian hamsters. *J Virol* 96:e0155121, 2022. doi: 10.1128/JVI.01551-21. Epub 2021 Nov 24. PMID: 34818068; PMCID: PMC8865546
- 34) Hattori SI, Higashi-Kuwata N, Raghavaiah J, Das D, Bulut H, Davis DA, Takamatsu Y, Matsuda K, Takamune N, Kishimoto N, Okamura T, Misumi S, Yarchoan R, Maeda K, Ghosh AK, Mitsuya H: GRL-0920, an indole chloropyridinyl ester, completely blocks SARS-CoV-2 infection. *mBio* 11:e01833–e01820, 2020. doi: 10.1128/mBio.01833-20. PMID: 32820005; PMCID: PMC7441487
- 35) Hattori SI, Higashi-Kuwata N, Hayashi H, Allu SR, Raghavaiah J, Bulut H, Das D, Anson BJ, Lendy EK, Takamatsu Y, Takamune N, Kishimoto N, Murayama K, Hasegawa K, Li M, Davis DA, Kodama EN, Yarchoan R, Wlodawer A, Misumi S, Mesecar AD, Ghosh AK, Mitsuya H: A small molecule compound with an indole moiety inhibits the main protease of SARS-CoV-2 and blocks virus replication. *Nat Commun* 12:668, 2021. doi: 10.1038/s41467-021-20900-6. PMID: 33510133; PMCID: PMC7843602
- 36) Tsuji K, Ishii T, Kobayakawa T, Higashi-Kuwata N, Azuma C, Nakayama M, Onishi T, Nakano H, Wada N, Hori M, Shinohara K, Miura Y, Kawada T, Hayashi H, Hattori SI, Bulut H, Das D, Takamune N, Kishimoto N, Saruwatari J, Okamura T, Nakano K, Misumi S, Mitsuya H, Tamamura H: Potent and biostable inhibitors of the main protease of SARS-CoV-2. *iScience* 25:105365, 2022. doi: 10.1016/j.isci.2022.105365. Epub 2022 Nov 1. PMID: 36338434; PMCID: PMC9623849
- 37) Higashi-Kuwata N, Tsuji K, Hayashi H, Bulut H, Kiso M, Imai M, Ogata-Aoki H, Ishii T, Kobayakawa T, Nakano K, Takamune N, Kishimoto N, Hattori SI, Das D, Uemura Y, Shimizu Y, Aoki M, Hasegawa K, Suzuki S, Nishiyama A, Saruwatari J, Shimizu Y, Sukenaga Y, Takamatsu Y, Tsuchiya K, Maeda K, Yoshimura K, Iida S, Ozono S, Suzuki T, Okamura T, Misumi S, Kawaoka Y, Tamamura H, Mitsuya H: Identification of SARS-CoV-2 Mpro inhibitors containing P1' 4-fluorobenzothiazole moiety highly active

- against SARS-CoV-2. *Nat Commun* 14:1076, 2023. doi: 10.1038/s41467-023-36729-0. PMID: 36841831; PMCID: PMC9958325
- 38) Tsuji K, Ishii T, Kobayakawa T, Higashi-Kuwata N, Shinohara K, Azuma C, Miura Y, Nakano H, Wada N, Hattori SI, Bulut H, Mitsuya H, Tamamura H: Structure-activity relationship studies of SARS-CoV-2 main protease inhibitors containing 4-fluorobenzothiazole-2-carbonyl moieties. *J Med Chem* 66:13516–13529, 2023. doi: 10.1021/acs.jmedchem.3c00777. Epub 2023 Sep 27. PMID: 37756225
- 39) Tsuji K, Kobayakawa T, Ishii T, Higashi-Kuwata N, Azuma C, Shinohara K, Miura Y, Yamamoto K, Nishimura S, Hattori SI, Bulut H, Mitsuya H, Tamamura H: Exploratory studies of effective inhibitors against the SARS-CoV-2 main protease by halogen incorporation and amide bond replacement. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 71:879–886, 2023. doi: 10.1248/cpb.c23-00562. PMID: 38044140
- 40) Shinohara K, Kobayakawa T, Tsuji K, Takamatsu Y, Mitsuya H, Tamamura H: Naphthalen-1-ylethanamine-containing small molecule inhibitors of the papain-like protease of SARS-CoV-2. *Eur J Med Chem* 280:116963, 2024. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116963. Epub 2024 Oct 18. PMID: 39442336
- 41) Higashi-Kuwata N, Bulut H, Hayashi H, Tsuji K, Ogata-Aoki H, Kiso M, Takamune N, Kishimoto N, Hattori SI, Ishii T, Kobayakawa T, Nakano K, Shimizu Y, Das D, Saruwatari J, Hasegawa K, Murayama K, Sukenaga Y, Takamatsu Y, Yoshimura K, Aoki M, Furusawa Y, Okamura T, Yamayoshi S, Kawaoka Y, Misumi S, Tamamura H, Mitsuya H: An orally available P1'-5-fluorinated Mpro inhibitor blocks SARS-CoV-2 replication without booster and exhibits high genetic barrier. *PNAS Nexus* 4:pgae578, 2025. doi: 10.1093/pnasnexus/pgae578. PMID: 39831159; PMCID: PMC11740726
- 42) Maeda K, Amano M, Uemura Y, Tsuchiya K, Matsushima T, Noda K, Shimizu Y, Fujiwara A, Takamatsu Y, Ichikawa Y, Nishimura H, Kinoshita M, Matsumoto S, Gatanaga H, Yoshimura K, Oka SI, Mikami A, Sugiura W, Sato T, Yoshida T, Shimada S, Mitsuya H: Correlates of neutralizing/SARS-CoV-2-S1-binding antibody response with adverse effects and immune kinetics in BNT162b2-vaccinated individuals. *Sci Rep* 11:22848, 2021. doi: 10.1038/s41598-021-01930-y. PMID: 34819514; PMCID: PMC8613264
- 43) Amano M, Otsu S, Maeda K, Uemura Y, Shimizu Y, Omata K, Matsuoka M, Shimada S, Mitsuya H: Neutralization activity of sera/IgG preparations from fully BNT162b2 vaccinated individuals against SARS-CoV-2 Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Kappa variants. *Sci Rep* 12:13524, 2022. doi: 10.1038/s41598-022-17071-9. PMID: 35941265; PMCID: PMC9358380
- 44) Amano M, Maeda K, Tsuchiya K, Shimada S, Mitsuya H: Third-dose BNT162b2 vaccination elicits markedly high-level SARS-CoV-2-neutralizing antibodies in vaccinees who responded poorly to a second dose in Japan. *J Infect Dis* 226:2038–2039, 2022. doi: 10.1093/infdis/jiac209. PMID: 35580786; PMCID: PMC9129163
- 45) Amano M, Ichikawa Y, Uemura Y, Matsumoto S, Maeda K, Matsushita S, Shimada S, Mitsuya H: Comparison of neutralization activity against Omicron BA.2/BA.5 in sera from HCWs receiving heterologous/homologous COVID-19 vaccines. *J Infect* 86:e130-e132, 2023. doi: 10.1016/j.jinf.2023.01.038. Epub 2023 Feb 2. PMID: 36736492; PMCID: PMC9892251
- 46) Amano M, Ichikawa Y, Matsumoto S, Higashi-Kuwata N, Takamatsu Y, Matsushita S, Shimada S, Mitsuya H: Neutralization activity of HCWs' sera after Omicron XBB.1.5-adapted monovalent COVID-19 mRNA vaccination. *J Infect* 89:106179, 2024. doi: 10.1016/j.jinf.2024.106179. Epub 2024 May 11. PMID: 38740288