

アデノウイルス臨床分離株に対する sulfated sialyl lipid の抗ウイルス効果

金子 久俊¹⁾²⁾, 森 修一²⁾, 茂田 士郎²⁾, 大野 重昭³⁾, 青木 功喜⁴⁾

¹⁾福島県立医科大学医学部眼科学教室, ²⁾福島県立医科大学医学部微生物学教室

³⁾北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻感覚器病学講座視覚器病学分野, ⁴⁾青木眼科

要 約

目 的：アデノウイルス(AdV)感染症に対して、臨床的に使用できる抗ウイルス薬は現在のところ存在しない。我々はこれまで、新規化合物である sulfated sialyl lipid(硫酸化シアルリピッド, NMSO 3)の AdV 標準分離株に対する抗ウイルス効果を報告した。今回、我々は結膜炎患者から分離した AdV 臨床分離株について、NMSO 3 の抗ウイルス効果と阻害メカニズムを検討した。

方 法：ウイルスは結膜炎患者から分離された臨床分離株の AdV 3, 4, 8, 19, 37 型, 薬剤は NMSO 3, シドフォビル(cidofovir, HPMP)とザルシタピン(zalcitabine, ddC)を用いた。3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT法)により、HEp-2細胞における AdV の 50% effective concentration(EC₅₀), 50% cytotoxic concentration(CC₅₀)および selectivity index(SI)を決定した。さらに、NMSO 3 をウイルス吸着時のみに加えた場合の

AdV の増殖抑制効果を検討した。

結 果：NMSO 3, HPMP, ddC のすべての薬剤で、AdV に対する増殖抑制効果があった。NMSO 3 は HPMP, ddC と比較し、低濃度で抗ウイルス効果を示し、細胞毒性も極めて低かった。また、NMSO 3 はウイルス吸着時に存在しただけで抗ウイルス効果を示した。

結 論：NMSO 3 は、AdV 臨床分離株に対して抗ウイルス効果を示した。その阻害メカニズムはウイルス吸着阻害であると考えられた。(日眼会誌 107 : 196-201, 2003)

キーワード：アデノウイルス, アデノウイルス結膜炎, Sulfated sialyl lipid(硫酸化シアルリピッド, NMSO 3), 吸着阻害薬

Antiviral Effect of Sulfated Sialyl Lipid Against a Clinical Strain of Adenovirus

Hisatoshi Kaneko¹⁾, Shuichi Mori²⁾, Shiro Shigeta²⁾, Shigeaki Ohno³⁾ and Koki Aoki⁴⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Fukushima Medical University School of Medicine

²⁾Department of Microbiology, Fukushima Medical University School of Medicine

³⁾Department of Ophthalmology and Visual Sciences Hokkaido University Graduate School of Medicine

⁴⁾Aoki Eye Clinic

Abstract

Purpose : Currently, there is no antiviral drug for adenovirus(AdV). We have reported that sulfated sialyl lipid(NMSO)3, a NMSO, has an antiviral effect against AdV prototype strains. We evaluated the antiviral inhibitory effect and the mechanism of NMSO 3 against AdV strains from patients with conjunctivitis *in vitro*.

Methods : Viruses used for the experiment were clinically isolated AdV type 3(AdV 3), AdV type 4(AdV 4), type 8(AdV 8), AdV type 19(AdV 19), and type 37(AdV 37). We examined three antiviral agents, i. e., NMSO 3, cidofovir(HPMP), and zalcitabine(ddC). 50% effective concentration(EC₅₀), 50% cytotoxic concentration(CC₅₀), and selectivity index(SI) of compounds were determined for AdV infection in HEp-2 cells using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) methods. We also evaluated the anti-AdV activity of NMSO 3 when it was added during the stage of

virus adsorption.

Results : NMSO 3, HPMP, and ddC showed an inhibitory effect against all five AdV clinical strains. The EC₅₀ values of NMSO 3 were lower than those of HPMP and ddC. NMSO 3 exhibited minimal cytotoxicity. NMSO 3 inhibited AdV infection only when it was added during the stage of virus adsorption.

Conclusions : NMSO 3 inhibited the replication of all clinical AdV serotypes tested. NMSO 3 was the most potent and selective anti-AdV compound. The mechanism of anti-AdV activity by NMSO 3 was inhibition of viral adsorption to cells.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 107 : 196-201, 2003)

Key words : Adenovirus, Adenoviral conjunctivitis, Sulfated sialyl lipid(NMSO 3), Adsorption inhibitor

別刷請求先：960-1295 福島市光が丘1 福島県立医科大学医学部眼科学教室 金子 久俊

(平成 14 年 7 月 26 日受付, 平成 14 年 9 月 18 日改訂受理)

Reprint requests to : Hisatoshi Kaneko, M.D. Department of Ophthalmology, Fukushima Medical University School of Medicine, 1 Hikarigaoka, Fukushima 960-1295, Japan

(Received July 26, 2002 and accepted in revised form September 18, 2002)

I 緒 言

ウイルス性結膜炎の 80~90% はアデノウイルス (AdV) が原因ウイルスとされており, 感染症サーベイランスの統計から, 本邦では年間 100 万人前後が罹患するといわれている。AdV 結膜炎は伝染力が強い感染性疾患のため, 罹患すると日常生活が制限され, 学校や職場の休業を余儀なくされてしまう。さらに, AdV 結膜炎は院内感染の原因となり得る。最近, 医療事故が重要視されている中, AdV 結膜炎の院内感染, 特に大学病院の眼科病棟での院内感染が報道されることもあり, 対策も急務とされている。

近年, AdV 結膜炎の迅速診断を目的として, 免疫クロマトグラフィ法を用いたアデノチェック[®]が開発された。また, polymerase chain reaction (PCR) 法と restriction fragment length polymorphism (RFLP) 法を組み合わせた PCR-RFLP 法や PCR-sequence 法といった分子遺伝学的な AdV の血清型, 遺伝子型の診断法についても報告されている。このように, AdV に対する病因診断法は確立されてきている。しかし, 依然として AdV に対する治療薬は存在せず, AdV 結膜炎に対しては抗生剤やステロイド剤の点眼といった対症療法が行われているにすぎない。AdV に対して抗ウイルス効果のある薬剤や化合物については, 多数報告されている。特に, シドフォビル (cidofovir, HPMP) ^{1)~6)} とザルシタピン (zalcitabine, ddC) ^{5)~8)} は抗 AdV 効果が *in vitro*, *in vivo* の両方で報告されており, 既に他のウイルス疾患については臨床の場で使用されている。そのため, AdV 感染症の治療薬として期待されているが, 未だ使用には至っていない。

我々は新規化合物である sulfated sialyl lipid (硫酸化シアリリピッド, NMSO 3) (図 1) の抗 AdV 効果を, AdV 標準株を用いて検討した⁹⁾。その結果, 非常に低濃度で抗ウイルス効果を示し, 宿主細胞への毒性も低く, その阻害メカニズムはウイルス吸着阻害であった。しかし, 患者から分離された株について, NMSO 3 の抗 AdV 効果の検討は行われていない。AdV 臨床分離株は, それぞれの血清型の標準株から変異を起こしている可能性が高い。結膜炎患者から分離された AdV 株の分子疫学的解析も行われているが, 変異した臨床分離株は, 病原性や結膜への接着の親和性が標準株と比較して増強している可能性があると思われる¹⁰⁾。したがって, 薬剤の抗ウイルス効果も標準株と変わってくる可能性がある。

今回, 結膜炎患者から分離された AdV 株の中で, 特に結膜炎の発症頻度が高い血清型である AdV 3, 4, 8, 19, 37 型に対する NMSO 3, HPMP, ddC の *in vitro* での増殖抑制効果について, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide method (MTT

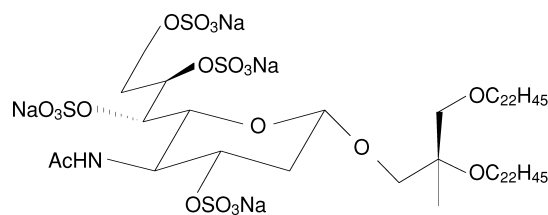


図 1 Sulfated sialyl lipid の構造式。

法)を用いて検討した。さらに, NMSO 3 の抗 AdV 効果についての阻害メカニズムについても検討したので報告する。

II 実験方法

1. 材 料

1) 細胞とウイルス

培養細胞は, ヒト喉頭癌細胞 (HEp-2 細胞) を用いた。また, 増殖培地には 8% ウシ胎児血清加 Eagle's minimum essential medium (MEM) (日水製薬), 維持培地には 2% ウシ胎児血清加 Eagle's MEM を用いた。ウイルスは, 札幌の一眼科診療所から分離された AdV 3, 4, 8, 19, 37 型の臨床分離株を用いた。これらのウイルス株は, HEp-2 細胞で継代した後, 凍結融解を 3 回行い, 4°C, 3,000 回転, 10 分間遠心し, その上清をウイルス液として使用した。

2) 薬剤

用いた薬剤は, 硫酸化シアリリピッド (sulfated sialyl lipid, sodium [2,2-bis(docosyloxymethyl)propyl-5-acetoamido-3,5-dideoxyl-4,7,8,9-tetra-O-(sodiumoxysulfonyl)-D-glycero-a-D-galacto-2-nonulopyranosid] onate, NMSO 3), シドフォビル (cidofovir, (S)-1-[3-hydroxy-(2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine], HPMP), ザルシタピン (zalcitabine, 2,3-dideoxycytidine, ddC) の 3 種類である。NMSO 3 は Microbiotix 社から, HPMP は Gilead Scientific 社から, ddC は SIGMA 社からそれぞれ入手した。

2. 方 法

1) ウイルス感染価の測定

各 AdV の感染価は, Kodama ら³⁾と同様の方法で MTT 法を用い, MTT ID₅₀ (50% infective dose) として求めた。実際には, 96 穴平底マルチウェルプレートに単層形成した HEp-2 細胞に, AdV を 10 倍階段希釈で各濃度 6 well ずつ感染させた。7 日後に各濃度の well の吸光度 (optical density, OD) を測定し, 6 well の平均値を各濃度の OD 値とした。非感染細胞の OD 値の 50% の値のウイルス濃度の逆数を MTT ID₅₀ とした。

2) 薬剤の AdV に対する抗ウイルスアッセイ

96 穴平底マルチウェルプレートに単層形成した HEp-2 細胞の増殖培地を除去し, ウイルス感染細胞の well を作製するため, 維持培地で 100 µg/ml から 5 倍階段

表 1 アデノウイルス(AdV)に対する薬剤の抑制効果(MTT 法)

	EC ₅₀ ¹⁾ ($\mu\text{g/ml}$)					p 値	CC ₅₀ ²⁾ ($\mu\text{g/ml}$)
	AdV 3	AdV 4	AdV 8	AdV 19	AdV 37		
NMSO 3 ³⁾	3.97 \pm 1.81*)	4.01 \pm 1.13	3.75 \pm 2.01	2.54 \pm 1.18	2.76 \pm 0.82	0.63	1,000
HPMPC ⁴⁾	6.34 \pm 2.32	8.11 \pm 1.32	7.54 \pm 1.87	4.98 \pm 2.13	5.01 \pm 1.78	0.24	184.8 \pm 10.5
ddC ⁵⁾	4.59 \pm 1.38	5.09 \pm 2.33	4.98 \pm 2.18	4.54 \pm 1.24	4.04 \pm 0.97	0.86	381.9 \pm 15.6

¹⁾ EC₅₀: 50% effective concentration, ²⁾ CC₅₀: 50% cytotoxic concentration, ³⁾ NMSO 3: sulfated sialyl lipid, ⁴⁾ HPMPC: (S)-1-[3-hydroxy-(2-phosphonmethoxypropyl)cytosine], ⁵⁾ ddC: 2,3-dideoxycytidine, zalcitabine.

*) : 平均値 \pm 標準偏差

希釈した薬剤 100 μl と 100 MTT ID₅₀ のウイルス 100 μl をそれぞれの well に加えた。薬剤の 1 希釈につき、各 6 well の細胞を使用した。次に、ウイルス非感染細胞の well を作製するため、薬剤 100 μl とウイルスの代わりに維持培地のみ 100 μl を加え、35°C、5% CO₂ 下で 7 日間培養し、MTT 法で各薬剤の抗ウイルス効果を判定した³⁾。そして、EC₅₀ (50% effective concentration), CC₅₀ (50% cytotoxic concentration), SI (selectivity index, CC₅₀/EC₅₀) を求めた。なお、同一ウイルスに対し 3 回実施し、その平均を EC₅₀, CC₅₀ とした。

3) 吸着阻害実験

AdV は低温(4°C)で細胞に付着するが、細胞内に侵入はしない。そして、細胞表面に付着した AdV は 35°C で細胞内への侵入が開始するとされている^{11)~13)}。以下の吸着阻害実験法は、他のウイルス¹⁴⁾¹⁵⁾についても行われている。はじめに、96 穴平底マルチウェルプレートに単層形成した HEp-2 細胞をあらかじめ 4°C に冷却しておく。維持培地で 100 $\mu\text{g/ml}$ から 5 倍階段希釈した NMSO 3 を 100 μl と 100 MTT ID₅₀ のウイルス 100 μl をそれぞれの well に加え、4°C で 90 分間培養する。ウイルス吸着後の 90 分後に培地と薬剤を除去し、さらに維持培地で各 well を 3 回洗浄する。そして、維持培地のみ 100 μl をそれぞれの well に加え、35°C、5% CO₂ 下で 7 日間培養する。培養後、抗ウイルスアッセイと同様に MTT 法を用いて、NMSO 3 の各濃度における抗ウイルス活性を生細胞の MTT formazan の形成量による OD 値によって決定する⁹⁾。各濃度での OD 値から、NMSO 3 のウイルス増殖を阻害する割合を求めた。なお、各濃度での OD 値は、同一ウイルスに対し 3 回実施し、その平均値とした。

III 結 果

1. MTT 法による各薬剤の抗 AdV 活性

NMSO 3, HPMPC, ddC は、5 種類すべての AdV 臨床分離株について増殖抑制効果を示した。EC₅₀ は NMSO 3 が 2.54~4.01 $\mu\text{g/ml}$ であり、HPMPC や ddC と比較し、低濃度で AdV の増殖を抑制していた(表 1)。したがって、NMSO 3 は 3 種の薬剤の中で抗ウイルス

表 2 AdV に対する各薬剤の selectivity index (SI)

薬剤	SI				
	AdV 3	AdV 4	AdV 8	AdV 19	AdV 37
NMSO 3	>251.8	>249.3	>266.6	>393.7	>362.3
HPMPC	29.1	22.7	24.5	37.1	36.8
ddC	83.2	75.2	76.6	84.1	94.5

効果が最も高かった。一方 CC₅₀ は、HPMPC が 184.8 $\mu\text{g/ml}$, ddC が 381.9 $\mu\text{g/ml}$ に対し、NMSO 3 は 1,000 $\mu\text{g/ml}$ でも細胞毒性がなかった(表 1)。つまり、NMSO 3 は宿主細胞に対する毒性が非常に弱かった。SI は、5 種類すべての AdV で NMSO 3 が最も高値であった。この結果は、NMSO 3 がより選択的に AdV の抑制効果が強く、薬剤としての安全性が高いということを示す(表 2)。

2. 吸着阻害実験の結果

NMSO 3 の細胞への吸着阻害効果は、吸着時のみに NMSO 3 を種々の濃度で存在させ、90 分間の吸着後、AdV と NMSO 3 を洗浄してから培養を行い決定している。5 種類すべての AdV の血清型で、ウイルスの増殖抑制効果があり、NMSO 3 が高濃度であるほど OD 値が大きく、抗 AdV 効果が高かった(図 2)。その増殖阻害の割合は、NMSO 3 濃度が 100 $\mu\text{g/ml}$ で 79~95%、20 $\mu\text{g/ml}$ で 72~89% であった。したがって、NMSO 3 は吸着時のみの存在で抗 AdV 効果があった。

IV 考 按

NMSO 3 はシアル酸誘導体であり、化合物の合成は本邦で行われた。RS ウイルス(RSV)¹⁵⁾、ロタウイルス¹⁶⁾にも低濃度での抗ウイルス効果が報告がされている。また、細胞毒性も極めて低い。その他、抗ウイルス効果はそれほど高くはないが、単純ヘルペスウイルス、インフルエンザウイルス A 型、ヒト免疫不全ウイルス(human immunodeficiency virus, HIV)についても、ウイルス増殖抑制効果がみられている。AdV については、我々の報告では標準分離株である AdV 2, 4, 8, 37 型に非常に低濃度で抗ウイルス効果を示し、今回同様、細胞毒

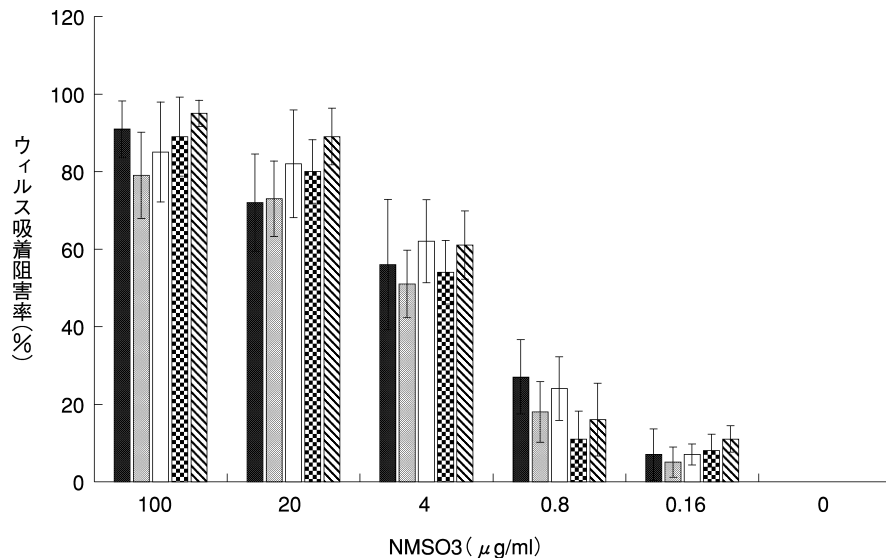


図 2 Sulfated sialyl lipid の AdV への吸着阻害効果.

■: アデノウイルス (AdV) 3 型, ▒: AdV 4 型, □: AdV 8 型, ▣: AdV 19 型, ▤: AdV 37 型

性も低かった⁹⁾。しかし、結膜炎患者から分離した AdV 臨床分離株での検討はしていない。AdV は、それぞれの血清型の標準株から変異を起こし、同一血清型に複数の遺伝子型が存在する。青木¹⁰⁾の報告から、臨床分離株の多くは標準株とは異なる遺伝子型を示している。遺伝子型が異なる臨床分離株は、標準株と比較し病原性が高かったり、結膜への接着の親和性が增强している可能性があると考えられ、薬剤の抗ウイルス効果が劣ることが予測される。

今回、結膜炎患者から分離した AdV 株を用いて、NMSO3 の抗ウイルス効果を検討した。血清型は、AdV 3, 4, 8, 19, 37 型とした。この 5 つの血清型は、AdV 結膜炎患者から非常に多く分離される血清型であり、全体の 95% 以上を占める¹⁰⁾。我々が以前に検討した AdV 標準分離株での NMSO3 の EC₅₀ 値は 0.21~1.41 µg/ml であった⁹⁾。今回検討した臨床分離株の EC₅₀ 値は 2.54~4.01 µg/ml であり、やや大きい EC₅₀ 値を示した。この EC₅₀ 値の違いの理由は不明であるが、臨床分離株は標準分離株と比較し、病原性や宿主細胞への親和性が高かったのではと予想される。しかし、抗 AdV 効果があり、NMSO3 の細胞毒性は極めて低いため、今後の進展について問題はないものと思われる。

また、AdV 標準株の検討⁹⁾と同様に、AdV 臨床分離株の NMSO3 の抗 AdV 効果の作用機序はウイルス吸着阻害であった。RSV¹⁵⁾やロタウイルス¹⁶⁾の抗ウイルス作用機序も、ウイルス吸着阻害であると報告されている。我々は AdV 4 型の標準分離株について、ラジオアイソトープでラベルしたウイルス粒子を精製し、NMSO3 がウイルス粒子の細胞表面への binding を阻害していることを証明した⁹⁾。今回使用した AdV 臨床分離株については、その実験は行っていないが、同じ AdV であ

るということ、吸着時のみの存在で抗ウイルス効果があったことから、臨床分離株についても同様であると思われる。ウイルス吸着阻害の詳細な作用機序は不明である。我々のラジオアイソトープラベルしたウイルス粒子での検討では、NMSO3 はウイルス側に作用して吸着阻害を示すという結果であった⁹⁾。また、NMSO3 はシアル酸誘導体である。シアル酸は AdV のウイルス吸着時のレセプターになり得る¹⁷⁾。したがって、レセプターが関与している可能性がある。しかし、AdV すべての血清型のレセプターは明らかになっておらず、シアル酸以外にも AdV のレセプターが報告¹⁸⁾されている。今後のさらなる検討が必要である。

NMSO3 の抗ウイルス作用機序がウイルス吸着阻害ということは、AdV が宿主細胞に侵入する時点で作用する。さらに、一度細胞内に侵入したウイルスが細胞外に放出され、再感染していく時点でも抗ウイルス効果を示す。したがって、NMSO3 は AdV の感染予防と AdV 感染症の治療という点で有効な薬剤となる可能性がある。特に、感染予防という点では伝染性疾患の対策、特に AdV 結膜炎の院内感染への対策にも役立つ可能性がある。

これまでの報告で、抗 AdV 効果が示す薬剤として HPMPC と ddC がある。HPMPC は、欧米において抗サイトメガロウイルス (CMV) 剤として、ddC は後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) の逆転写酵素阻害剤として本邦でも使用されている。特に、HPMPC はウサギ眼感染実験モデルに点眼することで、結膜擦過物の AdV の感染価が低下したとの報告²⁴⁾がある。しかし、両薬剤とも AdV 治療薬としては認可されていない。HPMPC と ddC は、ともに核酸誘導体である。核酸誘導体はウイルスのみならず、

宿主細胞の核酸合成まで阻害してしまうことがある。つまり、宿主細胞、特に眼組織への細胞毒性が問題となる可能性が高い。Romanowski ら¹⁹⁾は臨床治験の段階で、HPMPC 点眼による副作用が出現したとしている。また、Hillenkamp ら²⁰⁾²¹⁾も AdV 結膜炎患者に HPMPC の点眼をした際、その治療効果は明らかではなく、点眼の副作用も指摘している。こういった副作用は HPMPC の細胞毒性によるものと予測される。その他、抗 AdV 効果を示す化合物の報告はあるものの、核酸誘導体が多く、細胞毒性による生体への副作用が懸念される。しかし、NMSO 3 は核酸誘導体ではなくシアル酸誘導体であり、*in vitro* での細胞毒性も極めて低いという結果であった。

以上から、NMSO 3 は低濃度で抗ウイルス効果を示し、抗ウイルス薬の問題点である細胞毒性も非常に弱いという点から安全性も高く、また、吸着阻害という抗ウイルス作用機序から予防と治療という点で効果があり、臨床の場での使用が大いに期待できる化合物である。AdV は眼感染症の他、呼吸器感染症や胃腸炎も惹き起こすウイルスであり、他科領域での AdV 感染症も重要視されており、特に、免疫抑制状態の患者の AdV 感染症は生命予後にも関わってくる。したがって、全身疾患での AdV 感染症の治療薬としても期待される。NMSO 3 は、AdV に対する動物実験での抗ウイルス効果の検討は行われていない。これまで、コットラット²²⁾やウサギ²³⁾での眼感染モデルを使つての抗ウイルス効果を検討した報告があり、今後、こういった *in vivo* 実験や臨床治験での有効性が確認されなければならない。NMSO 3 の AdV 感染症の治療薬としての開発が待たれるところである。

文 献

- Gordon YJ, Romanowski EG, Araullo-Cruz TP, Seaberg L, Erzurum S, De Clercq E, et al : Inhibitory effect of (S)-HPMPC, (S)-HPMPA, and 2'-nor-cyclic-GMP on clinical ocular adenoviral isolates is serotype-dependent *in vitro*. *Antiviral Res* 16 : 11-16, 1991.
- Gordon YJ, Romanowski EG, Araullo-Cruz TP : Topical HPMPC inhibits adenovirus type 5 in the New Zealand rabbit ocular replication model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35 : 4135-4143, 1994.
- Kodama E, Shigeta S, Suzuki T, De Clercq E : Application of a gastric cancer cell line (MKN-28) for anti-adenovirus screening using the MTT method. *Antiviral Res* 31 : 159-164, 1996.
- Romanowski EG, Gordon YJ : Efficacy of topical cidofovir on multiple adenoviral serotypes in the New Zealand rabbit ocular model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 460-463, 2000.
- 金子久俊, 藤原聡之, 森 修一, 茂田士郎 : MTT法を用いたアデノウイルスに対する抗ウイルス薬の検討. *日眼会誌* 104 : 786-791, 2000.
- 茂田士郎 : DNA ウイルスに対する抗ウイルス剤とその標的. *BIO Clinica* 16 : 1168-1174, 2001.
- Mentel R, Kinder M, Wegner U, Janta-Lipinski M, Matthes E : Inhibitory activity of 3'-fluoro-2'-deoxythymidine and related nucleoside analogues against adenovirus *in vitro*. *Antiviral Res* 34 : 113-119, 1997.
- Mentel R, Wegner U : Evaluation of 2'-3'-dideoxycytidine against adenovirus infection in a mouse pneumonia model. *Antiviral Res* 47 : 79-87, 2000.
- Kaneko H, Kato K, Mori S, Shigeta S : Antiviral activity of NMSO 3 against adenovirus *in vitro*. *Antiviral Res* 52 : 281-288, 2001.
- 青木功喜 : レッド・アイの時代は終わっていない. *眼科診療プラクティス* 37 : 108-119, 1998.
- Defer C, Belin MT, Caillet-Boudine ML, Boulanger P : Human adenovirus-host cell Interactions : Comparative study with members of subgroup B and C. *J Virol* 64 : 3361-3673, 1990.
- Greber UF, Suomalainen M, Stidwill RP, Bocke K, Ebersold MW, Helenius A : The role of the nuclear pore complex in adenovirus DNA entry. *EMBO J* 16 : 5998-6007, 1997.
- Hong SS, Karayan L, Tournier J, Curiel DT, Boulanger PA : Adenovirus type 5 fiber knob binds to MHC alpha 2 domain at the surface of human epithelial and B lymphoblastoid cells. *EMBO J* 16 : 2294-2306, 1997.
- Hosoya M, Balzarini J, Shigeta S, DeClercq E : Differential inhibitory effects of sulfated polysaccharides and polymers on the replication of various myxoviruses and retrovirus, depending on the composition of the target amino acid sequence of the viral envelope glycoproteins. *Antimicrob. Agents. Chemother* 35 : 2515-2520, 1991.
- Kimura K, Mori S, Tomita K, Ohno K, Takahashi K, Shigeta S, et al : Antiviral activity of NMSO 3 against respiratory syncytial virus infection *in vitro* and *in vivo*. *Antiviral Res* 47 : 41-51, 2000.
- Takahashi K, Ohashi K, Abe Y, Mori S, Taniguchi K, Shigeta S, et al : Protective efficacy of a sulfated sialyl lipid (NMSO 3) against human rotavirus-induced diarrhea in a mouse model. *Antimicrob Agents Chemother* 46 : 420-424, 2002.
- Arnberg N, Edlund K, Kidd AH, Wadell G : Adenovirus type 37 uses sialic acid as a cellular receptor. *J Virol* 74 : 42-48, 2000.
- Bergelson JM, Cunningham JA, Droguett G, Kurt-Jones EA, Krithivas A, Hong JS, et al : Isolation of a common receptor for Cocksackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science* 275 : 1320-1323, 1997.

- 19) **Romanowski EG, Gordon YJ, Araullo-Cruz T, Yates KA, Kinchington PR** : The antiviral resistance and replication of cidofovir-resistant adenovirus variants in the New Zealand White rabbit ocular model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 1812—1815, 2001.
 - 20) **Hillenkamp J, Reinhard T, Ross RS, Bohringer D, Carlsburg O, Roggendorf M**, et al : The effects of cidofovir 1 % with and without cyclosporin a 1 % as a topical treatment of acute adenoviral keratoconjunctivitis : A controlled clinical pilot study. *Ophthalmology* 109 : 845—850, 2002.
 - 21) **Hillenkamp J, Reinhard T, Ross RS, Bohringer D, Carlsburg O, Roggendorf M**, et al : Topical treatment of acute adenoviral keratoconjunctivitis with 0.2% cidofovir and 1 % cyclosporine : A controlled clinical pilot study. *Arch Ophthalmol* 119 : 1487—1491, 2001.
 - 22) **Tsai JC, Garlinghouse G, McDonnell PJ, Trousdale MD** : An experimental animal model of adenovirus-induced ocular disease. The cotton rat. *Arch Ophthalmol* 110 : 1167—1170, 1992.
 - 23) **Gordon YJ, Romanowski EG, Araullo-Cruz T** : Topical HPMPC inhibits adenovirus type 5 in the New Zealand rabbit ocular replication model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35 : 4135—4143, 1994.
-