

変異原と抗HIV薬の併用によるエイズ治療効果に関する数理的考察

原田, 耕治
豊橋技術科学大学大学院工学研究科

<https://hdl.handle.net/2324/1522090>

出版情報 : MI lecture note series. 60, pp.40-49, 2014-11-28. 九州大学マス・フォア・インダストリ
研究所
バージョン :
権利関係 :



変異原と抗 HIV 薬の併用によるエイズ治療効果に関する数理的考察 (A Mathematical Analysis of the Combined Effects of Anti-HIV Drugs and a Mutagen)

豊橋技術科学大学大学院工学研究科 原田耕治 (Harada Kouji)

概要 The multidrug therapy for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) is efficacious in suppressing viral production, whereby it can delay drug-resistant HIV strains emerging. However even this powerful therapy cannot completely eradicate HIV-1 population from infected individuals. The ultimate goal of antiretroviral therapy is to establish a treatment method to recover fully from AIDS. The lethal mutagenesis approach is a promising treatment method for complete cure from AIDS, and it plunges viral activities into chaos by inducing excess mutations by mutagenic activity in the HIV RNA genome. The study [1] discussed availability of a lethal mutagenesis treatment and established a theoretical basis for the treatment works successfully. However concurrently mathematical analyses revealed the treatment became successful only when virulence of a virus was relatively low. To develop a new treatment to tackle HIV having high virus virulence, this study examines combination effects of a mutagenic agent and existing anti-HIV drugs such as a reverse transcriptase inhibitor, a protease inhibitor, and proves the combinational drug treatments with a mutagen are superior to by use of a mutagen on a handling capacity of high virus virulence and treatment duration.

1 はじめに

エイズとは、その原因ウイルスである HIV により、CD4 陽性細胞が破壊されることによって免疫系が機能不全に陥り、それに伴い日和見感染症などの様々な合併症を発症した状態を指す。現在のエイズ治療は、3 種以上の抗 HIV 薬を組み合わせた多剤併用療法が主である。多剤併用療法はウイルス産生を抑制することで、薬剤耐性株の出現を遅らせることが可能である。しかしながら、ウイルスを体内から完全に排除することは難しく、一生涯の服用を必要とし、特に薬剤に対して強い副作用を呈する治療困難患者に対しては、最適な治療法とは言いがたい。このような背景から、完治を目指したエイズ治療法の開発が望まれている。

完治を目指した治療法の一つに“変異原”による突然変異生成の考えを応用したものがある。これは、変異原によりウイルスの補償能力を超えた過剰な変異をウイルスゲノムに起こすことによりウイルスの感染能力を奪い、体内のウイルス集団を崩壊へ導こうとするものである。変異原としてよく使用される化学物質は、ヌクレオシド類似物であり、ウイルスゲノム合成時にこれら類似物がゲノムに取り込まれる結果、複製のたびにウイルスゲノムに変異が積み上がることになる。

抗 HIV 戦略としての突然変異生成の有用性は、*in vitro* でのいくつかの実験結果によって支持されている。Lobe らは、変異原としてデオキシシチジン類似物を使用し、この変異原存在下で HIV-1 を CEM 細胞に感染させる継代実験において、9 から 24 継代の間に HIV-1 が感染能力を失い自壊に至ることを示した [2]。また同様の結果が、HIV 以外の RNA ウイルス（例えば、ポリオウイルス [3]、口蹄疫ウイルス [4]、ハンタウイルス [5]）でも確認されている。

これら *in vitro* 実験での成功を受けて、この抗 HIV 戦略の有用性を *in vivo* で確認するために、ヌクレオシド類似物である KP1212 とそのプロドラッグである KP1461 が開発された [6]。現在、第一相試験 [7] が終了し、第二相試験の結果が報告され始めている。第二相試験では、エイズ患者に対して 1 日 2 回 1600mg の KP1461 を 124 日にわたって投与を続けたが、これまでに得られた結果は否定的なものである [8]。具体的には、血漿中のウイルス量は低下せず、全体的な突然変異のレベルは上昇しなかった。ただし、HIV ゲノム中の突然変異のスペクトルには統計的に有意な変化

が観測された。なぜ in vitro での結果と異なり in vivo では成功しなかったのか、その理由はいまもはっきりしていない。

我々は、突然変異生成によるエイズ治療がなぜ in vivo で成功しないのかを理解する糸口を探るために、この治療法の適用限界が存在するのか、数理的に明らかにする必要があると考え、本論でいくつかの具体的検討を行った。その結果、変異原を利用した治療には対応可能なウイルス毒性に限界があることを指摘し、さらにその限界を乗り越えるために、変異原と二種の抗 HIV 薬の併用によるウイルス抑制効果について解析した。その結果、各薬剤を単剤として使用した場合と比較して、二剤を併用することでウイルス抑制に関して相乗効果が期待できることを明らかにした。

2 変異原の作用を考慮した HIV-1 複製モデル

本節では変異原作用下における HIV の感染・複製過程を数理モデル化する。提案モデルは、Perelson[9] および Wei[10] のモデルを参考にしている。

2.1 表現型

HIV-1 の形質として感染能力の有無とウイルス産生率の高低を考慮する。感染能力がありウイルス産生率の高い(低い) HIV-1 を V (v) とし、感染能力が欠如しているがウイルス産生率の高い(低い) HIV-1 を D (d) と表す。つまり HIV-1 の表現型は、 V, v, D, d の4つであり、 V を野生型とする。野生型を除くその他の表現型は、突然変異により HIV-1 の機能タンパク質を不活性化することで生まれる。例えば、HIV プロテアーゼの活性部位コード領域：Asp25-Thr26-Gly27 [11] に変異が起これば、HIV 粒子は感染能力を失いその結果、 V (v) は感染能力が欠如した D (d) となる。また HIV Tat は転写活性の調整に関与していることから [12]、その活性部位のコード領域に変異が起こればウイルスゲノムの産生率が落ち、ひいてはウイルス粒子の産生率が下がる。つまり V (D) は v (d) となる。

2.2 HIV-1 感染・変異・複製過程と数理モデル

図 1 は、HIV-1 が宿主細胞に感染後、変異、複製される過程を示している。未感染状態にあるフリーな HIV-1 は、その表現型によらず一定の割合 c で除去されるとする。一方、まだ HIV-1 が感染していない未感染細胞 (T) は、一定の割合 λ で骨髄から供給され、一定の割合 d で死んでいくとする。 $V(v)$ のフリーなウイルス粒子は、感染率 k で未感染細胞 T に吸着し、侵入する。細胞内に侵入したウイルスは、自身のゲノムである RNA(+) を放出し、逆転写酵素により DNA へと変換される。しかしながら、この変換は逆転写酵素の複製忠実度が低いいため、正確には行われない。提案モデルではこのことを考慮し、ウイルス V の RNA ゲノム (+) は、変異率 p_v, p_D で v または D のウイルス DNA に変換され、一方、ウイルス v の RNA ゲノム (+) は、変異率 q_v, q_d で V または d のウイルス DNA に変換されるとする。変換されたウイルス DNA は、宿主細胞の DNA に組み込まれプロウイルスとなる。一方、フリーなウイルス D, d は、感染能力を持たないため、今述べた感染と変異の過程を考慮する必要はない。 $V(D)$ のプロウイルスを抱えた感染細胞は、寿命 $1/\delta$ を迎えるまでの間に R 個のウイルス粒子を放出するとし、また $v(d)$ のプロウイルスを抱えた感染細胞は、 R より少ない r 個のウイルスを放出するとする。

以上の設定において、HIV-1 の感染・変異・複製過程を数理モデル化した。未感染 T 細胞数を

最後に、変異原 M の効用を表すパラメータ $\varepsilon_M (0 \leq \varepsilon_M \leq 1)$ をモデルに導入する。 ε は変異原の投与量を反映したパラメータである。変異原 M は、変異率を線形的に高めると仮定し、先の変異率、 p_v , p_D , q_v , q_d を ε_M の関数として次の式 (2.12-2.15) で再定義する。

$$p_v(\varepsilon_M) = p_v^0 + \varepsilon_M \Delta p_v, \quad (2.12)$$

$$p_D(\varepsilon_M) = p_D^0 + \varepsilon_M \Delta p_D, \quad (2.13)$$

$$q_v(\varepsilon_M) = q_v^0 + \varepsilon_M \Delta q_v, \quad (2.14)$$

$$q_d(\varepsilon_M) = q_d^0 + \varepsilon_M \Delta q_d, \quad (2.15)$$

ここで、 p_v^0 , p_D^0 , q_v^0 , q_d^0 は自然な変異率である。

次の節の数値シミュレーションで使用したパラメータ値を以下にまとめた。ここで変異率の値は、文献 [13]、その他のモデルパラメータの値は、文献 [14] を参考に決定した。 $\lambda = 2 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$, $d = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $\delta = 0.7 \text{ day}^{-1}$, $k = 10^{-7} \text{ copies}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$, $R = 100$, $r = 10$, $c = 13 \text{ day}^{-1}$, $p_v^0 = 0.05 \text{ day}^{-1}$, $p_D^0 = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $q_v^0 = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $q_d^0 = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $\Delta p_v = 0.15 \text{ day}^{-1}$, $\Delta p_D = 0.3 \text{ day}^{-1}$, $\Delta q_v = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $\Delta q_d = 0.3 \text{ day}^{-1}$ 。

3 変異生成アプローチによるエイズ治療の有効性を判断する数理的条件の導出

3.1 完治のための数理的条件

まず状態変数 $\mathbf{P}$ を次のように定める。

$$\mathbf{P} = (P_T, P_{T_v}, P_{T_v}, P_{T_D}, P_{T_d}, P_V, P_v, P_D, P_d), \quad (3.1)$$

また完治状態 $\mathbf{P}^*$ は式 (3.2) として定める。この状態は、ウイルスおよびウイルス感染細胞が消滅した状態を示している。

$$\mathbf{P}^* = \left(\frac{\lambda}{d}, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0\right). \quad (3.2)$$

なお、この完治状態 $\mathbf{P}^*$ は、常微分方程式 (2.1)-(2.11) の固定点でもある。またシミュレーション実験では、HIV-1 の野生型 V が感染した細胞 T_V が 1 個存在する状態 $\mathbf{P}_0$ を初期値とした。つまり、

$$\mathbf{P}_0 = \left(\frac{\lambda}{d}, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0\right). \quad (3.3)$$

完治状態 $\mathbf{P}^*$ において漸近安定性解析 [15] を行うことで、完治状態が安定化するための力学的条件 ($\mathbf{P}^*$ が漸近安定) が次の不等式 (3.4) として得られる。

$$h(\varepsilon_M, R) < g_M, \quad (3.4)$$

ここで関数 $h(\varepsilon_M, R)$ と定数 g_M はそれぞれ式 (3.5) と (3.6) で定義される。

$$h(\varepsilon_M, R) \equiv \frac{1}{2} \{h_+(\varepsilon_M) + \sqrt{h_-(\varepsilon_M)^2 + 4rRq_v(\varepsilon_M)p_v(\varepsilon_M)}\}, \quad (3.5)$$

$$g_M \equiv 1 + \frac{cd}{k\lambda}. \quad (3.6)$$

なお、関数 (3.5) の中の関数 $h_+(\varepsilon_M)$ と $h_-(\varepsilon_M)$ はそれぞれ式 (3.7) と (3.8) として与えられる。

$$h_+(\varepsilon_M) \equiv rQ_v(\varepsilon_M) + RQ_V(\varepsilon_M), \quad (3.7)$$

$$h_-(\varepsilon_M) \equiv rQ_v(\varepsilon_M) - RQ_V(\varepsilon_M). \quad (3.8)$$

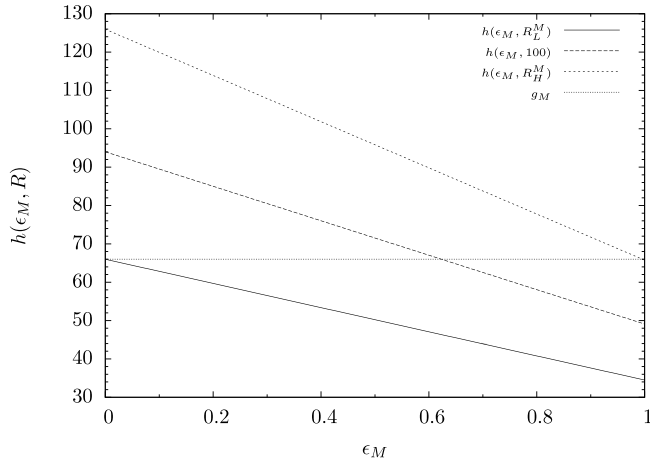


図 2: 変異誘導によるエイズ治療の限界: ウイルス産生率 R を 70.2, 100, 134 としたときの関数 $h(\epsilon_M, R)$ と g_M を描画したもの. ここで R_L^M と R_H^M はそれぞれ 70.2 と 134 である. 条件式 (3.4) より, ウイルス産生率 R が R_H^M 以下のとき変異誘導により治療が成功する.

3.2 変異誘導によるエイズ治療の限界

図 2 は, ウイルス産生率 R を変化させたときの関数 $h(\epsilon_M, R)$ と g_M を描画したものである. ここで $h(0, R) = g_M$ となる R を R_L^M とし, 同様に $h(1, R) = g_M$ となる R を R_H^M とすると, それらは次式 (3.9) と (3.10) で与えられる.

$$R_L^M = \frac{g_M(g_M - rQ_v(0))}{r(q_v(0)p_v(0) - Q_v(0)Q_v(0)) + g_MQ_v(0)}, \quad (3.9)$$

$$R_H^M = \frac{g_M(g_M - rQ_v(1))}{r(q_v(1)p_v(1) - Q_v(1)Q_v(1)) + g_MQ_v(1)}. \quad (3.10)$$

関数 $h(\epsilon_M, R)$ は ϵ_M に対して単調に減少するので, 完治状態とウイルス産生率 R の関係はつぎのようにまとめられる.

- ウイルス産生率 R が R_L^M 未満のとき, 変異原の効用 ϵ_M の値によらずウイルス集団は消滅する.
- ウイルス産生率 R が R_L^M 以上で R_H^M 未満のとき, 変異原の効用 ϵ_M の値に応じてウイルス集団を排除できる.
- ウイルス産生率 R が R_H^M 以上のとき, 変異原の効用のみではウイルス集団を排除できない.

このことから, ウイルス産生率 R_H^M は変異誘導によるエイズ治療の限界を示唆していると言える.

4 変異原と抗 HIV 薬の併用における効用についての検討

前節では, 変異原のみによるエイズ治療に限界があることを示した. そこで本節では, 変異原とその他の抗 HIV 薬の併用によるエイズ治療効果について検討する. ここで検討する抗 HIV 薬は, 逆転写酵素阻害剤 (RTI) とプロテアーゼ阻害剤 (PI) である. そして両薬剤を同時併用することで相乗的な治療効果が期待できることを示す.

4.1 変異原と逆転写酵素阻害剤を併用した場合

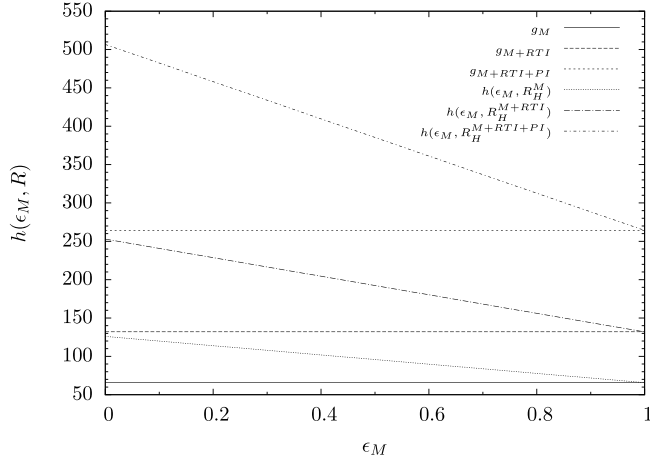


図 3: 変異原と抗 HIV 薬の併用によるエイズ治療の限界：変異原の効用 ϵ_M が最大 (=1) のとき，変異原単独による治療では，ウイルス産生率 R が R_H^M (= 134) 以上のウイルスを抑制できないが，変異原に 2 種類の抗 HIV 薬を併用した場合， R_H^M 以上のウイルスを抑制可能である．この場合の限界は $R_H^{M+RTI+PI}$ (=539) である．

逆転写酵素阻害剤は，HIV 逆転写酵素を標的としそのポリメラーゼ活性を抑制する．その結果，ウイルス DNA の合成率が低下しウイルス感染細胞の産生が抑制される．ここでは，逆転写酵素阻害剤の効用を表すパラメータ ϵ_{RTI} ($0 \leq \epsilon_{RTI} \leq 1$) を新たに導入する．パラメータ ϵ_{RTI} をモデルに導入するため，時間発展方程式 (2.1) から (2.5) を更新する必要がある．未感染 $CD4^+T$ 細胞の時間発展方程式 (2.1) は，方程式 (4.1) のように更新される．

$$\frac{dP_T}{dt} = \lambda - dP_T - k(P_V + P_V)P_T + \epsilon_{RTI}kP_VP_T + \epsilon_{RTI}kP_VP_T, \quad (4.1)$$

一方，ウイルス感染細胞に関する時間発展方程式 (2.2) から (2.5) は，それぞれ (4.2) から (4.5) に更新される．

$$\frac{dP_{T_V}}{dt} = (1 - \epsilon_{RTI})Q_V(\epsilon_M)kP_VP_T + (1 - \epsilon_{RTI})q_V(\epsilon_M)kP_VP_T - \delta P_{T_V}, \quad (4.2)$$

$$\frac{dP_{T_V}}{dt} = (1 - \epsilon_{RTI})p_V(\epsilon_M)kP_VP_T + (1 - \epsilon_{RTI})Q_V(\epsilon_M)kP_VP_T - \delta P_{T_V}, \quad (4.3)$$

$$\frac{dP_{T_D}}{dt} = (1 - \epsilon_{RTI})p_D(\epsilon_M)kP_VP_T - \delta P_{T_D}, \quad (4.4)$$

$$\frac{dP_{T_d}}{dt} = (1 - \epsilon_{RTI})q_d(\epsilon_M)kP_VP_T - \delta P_{T_d}, \quad (4.5)$$

ここで HIV の表現型変化は，逆転写酵素阻害剤の阻害効果が十分でなく逆転写酵素の活性化に伴い副次的に起こることを考えると，表現型変化を表すすべての項に項 $(1 - \epsilon_{RTI})$ を乗じる必要がある．

漸近安定性解析 [15] により，完治状態 $\mathbf{P}^*$ が力学的に安定になる条件は式 (4.6) と (4.7) で与えられることが明らかとなった．

$$h(\varepsilon_M, R) < g_{M+RTI}, \quad (4.6)$$

そこで,

$$g_{M+RTI} \equiv 1 + \frac{g_M}{1 - \varepsilon_{RTI}} \approx \frac{g_M}{1 - \varepsilon_{RTI}} \quad (4.7)$$

図3によれば、逆転写酵素阻害剤がウイルス抑制に有効なとき ($\varepsilon_{RTI} > 0$), g_{M+RTI} の値は g_M の値より2倍以上大きくなる。よって、逆転写酵素阻害剤と変異原の併用で抑制可能なウイルス産生率の上限値である R_H^{M+RTI} ($h(1, R) = g_{M+RTI}$ を満足する R) は、変異原単独で抑制可能なウイルス産生率の上限値 R_H より大きくなる。したがって、逆転写酵素阻害剤と変異原の併用による治療は、変異原単独では完治を望めない産生率の高い(毒性の強い)ウイルスを体内から排除することを可能とする。実際、Tapia らは、逆転写酵素阻害剤 AZT 単独、または AZT と変異原 (5-OHdC) の存在下で、HIV-1 をヒト末梢血単核球 (PBMC) に感染させ連続継代したとき、AZT 単独ではウイルス量が低下しないが、AZT と 5-OHdC を併用使用した場合、数継代でウイルス量がゼロとなることを示している [16].

4.2 変異原とプロテアーゼ阻害剤を併用した場合

HIV プロテアーゼは、HIV-1 のポリタンパク質上にある Tyr/Phe-Pro 配列 (この配列は、Gag p17 と p24 間、pol p6 とプロテアーゼ遺伝子間、およびプロテアーゼと逆転写酵素の遺伝子間にある) を認識し、その位置でポリタンパク質を切断し、ウイルス成熟に必須なウイルスタンパク質を作り出す。それゆえこの切断プロセスは、感染性のある孫ウイルス粒子を生成するために欠かすことができない。一方 HIV プロテアーゼ阻害剤は、プロテアーゼの活性部位に結合し、この切断活性を阻害することでウイルス成熟を抑制し、孫ウイルスから感染能力を奪う。

ここでプロテアーゼ阻害剤の効用 ε_{PI} ($0 \leq \varepsilon_{PI} \leq 1$) を元のモデル (2.1-2.15) に導入する。 ε_{PI} により感染性ウイルス V と v のウイルス産生率 R と r は ε_{PI} だけ低減する。したがって、時間発展方程式 (2.8-2.11) は、それぞれ式 (4.8-4.11) に更新される。

$$\frac{dP_V}{dt} = (1 - \varepsilon_{PI})R\delta P_{TV} - kP_V P_T - cP_V, \quad (4.8)$$

$$\frac{dP_v}{dt} = (1 - \varepsilon_{PI})r\delta P_{Tv} - kP_v P_T - cP_v, \quad (4.9)$$

$$\frac{dP_D}{dt} = R\delta P_{TD} + \varepsilon_{PI}R\delta P_{TV} - cP_D, \quad (4.10)$$

$$\frac{dP_d}{dt} = r\delta P_{Td} + \varepsilon_{PI}r\delta P_{Tv} - cP_d. \quad (4.11)$$

ここで式 (4.10) と (4.11) の第2項は、プロテアーゼ阻害剤活性によって孫ウイルスが感染能力を奪われたことを表している。

漸近安定性解析 [15] の結果、変異原 M とプロテアーゼ阻害剤 PI の併用により完治状態 $\mathbf{P}^*$ が力学的に安定になる条件は、不等式 (4.12) となるのがわかる。

$$h(\varepsilon_M, R) < g_{M+PI}, \quad (4.12)$$

そこで

$$g_{M+PI} \equiv \frac{g_M}{1 - \varepsilon_{PI}}. \quad (4.13)$$

興味深いことに、式 (4.13) は逆転写酵素阻害剤の場合の式 (4.7) と近似的に同形である。よって、完治状態 $\mathbf{P}^*$ を安定化させる効果に関して、プロテアーゼ阻害剤と逆転写酵素阻害剤の間にほぼ違いは無い。

4.3 変異原, 逆転写酵素阻害剤, プロテアーゼ阻害剤を併用した場合

変異原, 逆転写酵素阻害剤およびプロテアーゼ阻害剤の併用効果を調べるため, それらすべての作用を考慮した数理モデル ((4.1 - 4.5) および (4.8 - 4.11)) を検討する. このモデルに対して漸近安定性解析を実行し, 完治状態 P^* が安定となる条件式 (4.14) を導出した.

$$h(\varepsilon_M, R) < g_{M+RTI+PI}, \quad (4.14)$$

そこで

$$g_{M+RTI+PI} \equiv \frac{1}{(1-\varepsilon_{PI})} \left(1 + \frac{g_M}{(1-\varepsilon_{RTI})} \right) \approx \frac{g_M}{(1-\varepsilon_{RTI})(1-\varepsilon_{PI})}. \quad (4.15)$$

式 (4.15) の分母は, 変異原と 2 種類の抗 HIV 剤の併用がウイルス抑制に関して相乗効果を生み出すことを意味している.

4.4 治療期間

図 4 は, 薬剤の組み合わせが異なる 4 種類の治療法 (変異原のみ, 変異原+逆転写酵素阻害剤 (またはプロテアーゼ阻害剤), 変異原+逆転写酵素阻害剤+プロテアーゼ阻害剤) を感染が成立した状態に適用した時のウイルス量 (P_V) 変化を示している. 変異原のみを使用した場合, 完治までにおよそ 30 日かかるが, 変異原および 2 剤ではおよそ 10 日で完治する. このことから, 治療期間に関して後者の治療法が前者より優れており, また毒性が強いウイルスへの対応能力からも後者の治療法が優れていると結論できる.

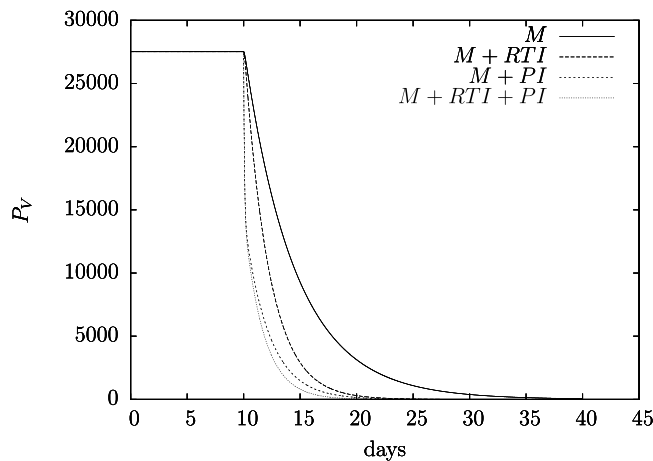


図 4: 治療期間: 薬剤と変異原の組み合わせが異なる 4 種類の治療法 (変異原のみ, 変異原+RTI (または PI), 変異原+RTI+PI) を感染状態に適用したときのウイルス量 (P_V) 変化. 変異原及び薬剤の効用パラメータ ($\varepsilon_M, \varepsilon_{RTI}, \varepsilon_{PI}$) の値はすべて 0.5)

参考文献

- [1] Kouji Harada. Self-destruction dynamics of HIV-1 quasi-species population in the presence of mutagenic activities. Procedia Computer Science, Vol. 22, pp. 12591265, 2013.

- [2] Lawrence A. Loeb, John M. Essigmann, Farhad Kazazi, Jue Zhang, Karl D. Rose, and James I. Mullins. Lethal mutagenesis of HIV with mutagenic nucleoside analogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 96, No. 4, pp. 14921497, 1999.
- [3] Shane Crotty, Craig E. Cameron, and Raul Andino. RNA virus error catastrophe: Direct molecular test by using ribavirin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 98, No. 12, p. 68956900, 2001.
- [4] Saleta Sierra, Mercedes Dvila, Pedro R. Lowenstein, and Esteban Domingo. Response of foot- and-mouth disease virus to increased mutagenesis: Influence of viral load and fitness in loss of infectivity. *Journal of Virology*, Vol. 74, No. 18, p. 83168323, 2000.
- [5] William E. Severson, Connie S. Schmaljohn, Ali Javadian, and Colleen B. Jonsson. Ribavirin causes error catastrophe during hantaan virus replication. *Journal of Virology*, Vol. 77, No. 1, pp. 481488, 2003.
- [6] Kevin S. Harris, William Brabant, Sheila Styrchak, Alexander Gall, and Richard Daifuku. KP-1212/1461, a nucleoside designed for the treatment of HIV by viral mutagenesis. *Antiviral Research*, Vol. 67, No. 1, pp. 19, 2005.
- [7] Patrick G Clay and Marypeace McRae and Jean-Pierre Laurent. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of KP-1461 in phase I clinical studies: A single oral dose study in non-HIV-infected adults, and a 14-day dose-escalating study in highly antiretroviral-experienced HIV-infected adults. *Journal of the International Association of Physicians in AIDS Care*, Vol. 10, No. 4, pp. 232238, 2011.
- [8] James I. Mullins, Laura Heath, James P. Hughes, Jessica Kicha, Sheila Styrchak, Kim G. Wong, Ushnal Rao, Alexis Hansen, Kevin S. Harris, Jean-Pierre Laurent, Deyu Li, Jeffrey H. Simpson, John M. Essigmann, Lawrence A. Loeb, and Jeffrey Parkins. Mutation of HIV-1 genomes in a clinical population treated with the mutagenic nucleoside KP1461. *PLoS One*, Vol. 6, No. 1, p. e15135, 2011.
- [9] Alan S. Perelson, Avidan U. Neumann, Martin Markowitz, John M. Leonard, and David D. Ho. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science*, Vol. 271, No. 5255, pp. 15821586, 1996.
- [10] Xiplng Wei, Sajal K. Ghosh, Maria E. Taylor, Victoria A. Johnson, Emiiio A. Eminl, Paul Deutsch, Jeffrey D. Lifson, Sebastian Bonhoeffer, Martin A. Nowak, Beatrice H. Hahn, Michael S. Saag, and George M Shaw. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature*, Vol. 373, No. 6510, pp. 117122, 1995
- [11] Peter P. Mager. The active site of HIV-1 protease. *Medicinal Research Reviews*, Vol. 21, No. 4, pp. 348353, 2001.
- [12] Jonathan Karn. Tackling tat. *Journal of Molecular Biology*, Vol. 293, No. 2, pp. 235254, 1999.
- [13] L M Mansky and H M Temin. Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *Journal of Virology*, Vol. 69, No. 8, pp. 50875094, 1995.

- [14] DUNCAN S. Callaway and ALAN S. Perelson. HIV-1 infection and low steady state viral loads. *Bulletin of Mathematical Biology*, Vol. 64, No. 1, pp. 2964, 2002.
- [15] Kathleen T. Alligood, Tim D. Sauer, and James A. Yorke. *Chaos: An Introduction to Dynamical Systems*. Springer-Verlag, New York, 2000.
- [16] Natalia Tapiaa, Guerau Fernndeza, Mariona Pareraa, Gemma Gmez-Marianob, Bonaventura Cloteta, Miguel Quiones-Mateuc, Esteban Domingob, and Miguel Angel Martnez. Combination of a mutagenic agent with a reverse transcriptase inhibitor results in systematic inhibition of HIV-1 infection. *Virology*, Vol. 338, No. 1, pp. 18, 2005.