

厚生労働科学研究費補助金(特別研究事業)
分担研究報告書

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) の医薬品におけるリスク評価に関する研究

佐藤 浩 長崎大学医学部附属動物実験施設 教授

齧歯類細胞を用いる生物由来製品のウイルス安全性に関する基礎的検討として、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) の国内野生株の分子系統樹を作成したところ海外で分離された株から遺伝的に相当離れていることが明らかになった。

【はじめに】

LCMV (リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス) は RNA ウイルス、アレナウイルス科に属し、人獣共通感染症の原因ウイルスのひとつである。本来マウスやハムスターなどのげっ歯類を宿主とするものの、ときにヒトにも伝播し、軽い発熱から髄膜炎に至る種々の重さの症状を呈することがある。人獣共通感染症としての LCMV の問題点は、2 つに大別される。第一に、ハムスター等のペットとして輸入される動物からヒト (国民全般) が感染する危険性が危惧されていること。第二に、医薬品製造用素材として利用されうげっ歯類由来初代細胞、ないしそれ由来の細胞株が汚染され、これが原因でヒト (多くの場合実験者) が感染するケースが欧米で報告されていることである (Bhatt, LAS, 1986; Dykewicz, JAMA, 1992)。医薬品の開発にあたっては、後者の問題点がきわめて重要であり、LCMV 汚染培養細胞を利用した医薬品開発は、開発者の安全という視点ばかりでなく、製品の安全性および信頼性の見地から決してあってはならないことと考える。

【検査・診断法の現状における問題点と改良について】

現在、動物個体の LCMV 感染の診断には、間接蛍光抗体法が主に用いられているが、生ウイルスそのものを抗原に用いるため、実験者への感染の危険性や動物実験施設内の動物への汚染事故の可能性があるほか、細胞の汚染そのものを検出できない、一定レベル (P2-P3) の設備を必要とする、などいくつかの問題点が存在する。これらを

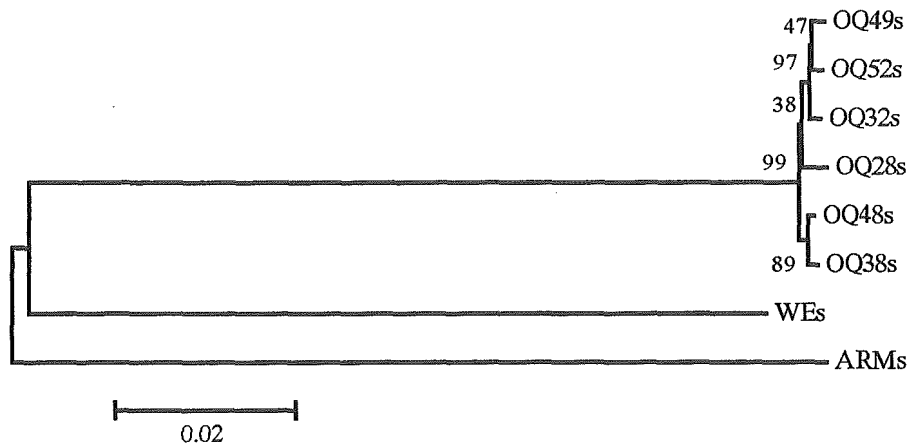
解決するものとしても、PCR 法によるウイルスゲノムの検出 (培養細胞に適用済)、さらにはウイルス抗原を発現する組換え診断用抗原の作製は大いに期待されるものである。

【LCMV とそのゲノム構造】

LCMV のプロトタイプは米国で分離された WE 株で、他にセントルイスの脳炎患者から分離された Armstrong 株がよく知られている。LCMV のゲノムは、2 つの文節からなる RNA から構成され、長鎖が L 鎖、短鎖を S 鎖と呼ばれている。中間のヘアピン構造部分と、両末端部分の数十種類の塩基が互いに相補的に結合しており、環状のゲノムとして観察されることがある。L 鎖は転写酵素となる L 蛋白と転写調節機能のある Z 蛋白をコードし、S 鎖は糖蛋白である Gp と核蛋白である Np をコードしている。Gp は翻訳後に Gp1 と Gp2 にクリーページされスパイクの主要な構成要素となる。S 鎖でコードされているこれら Gp および Np が主要な構造蛋白である。

【研究方法・材料ならびに結果】

国内のある港湾の野生マウスより OQ 株 (28, 32, 38, 48, 49, 52) をそれぞれ分離し、それら OQ 株の S 遺伝子について他の二つのプロトタイプ株である WE 株、Armstrong 株と比較検討した結果、核酸およびアミノ酸レベルで相当多くの差異を認めた (図参照)。すなわちアミノ酸レベルにおいて、Gp では WE 株、Armstrong 株ともに 22 個、Np では WE 株は 14 個、Armstrong 株では 20 個の差異がみられた。



また、Tamura Nei の方法により計算し Neighbor joining 法で作図した LCMV の分子系統樹によれば（枝の数字は遺伝的距離を表し、分岐部の数字はブートストラップ（1000 回）で計算された確率）、国内分離の OQ 株は、WE、Armstrong のいずれの株からも遺伝的にかなり離れていることが今回はじめて明らかになった。

【考察】

研究結果から、国内分離株である OQ 株が海外で分離された WE、Armstrong のいずれの株からも遺伝的に相当離れていることが明らかにな

った。したがって、日本国内において、LCMV に感染したか否かを高感度かつ特異的に診断するためには、国内分離の OQ 株を用いた検査・診断用抗原の作製が実際上必要と考えられる。

現在、「国内分離株を用いてウイルスタンパクを発現させ、検査・診断用抗原とする」ことを主目的として研究を続けており、種々のデータを解析していく予定である。

厚生労働科学研究費補助金（特別研究事業）

分担研究報告書

生物由来製品に迷入する可能性のあるウイルス性人獣共通感染症に関する調査研究

分担研究者 山田章雄 国立感染症研究所獣医科学部長

研究要旨 生物由来製品には多くの動物由来材料が使用されているがこれらの材料には多様なウイルスの迷入あるいは混入の可能性があり。本研究では動物由来生物製剤あるいは医療材料におけるウイルス汚染およびその除去に関わる情報を得るために、文献的調査を行った。

A. 研究目的

動物由来材料は医薬品あるいは医療器具の生産において重要な地位を占めている。しかし、これらの材料は動物に由来するがゆえに既知の人獣共通感染症共通感染症の病原体、その動物種に固有の病原体、あるいはいまだにその存在が明らかでない病原体を有している可能性は否定できない。特にウイルスは内在性のウイルスが存在することや持続感染の可能性などから注意すべき病原体である。動物に由来する材料を用いたこれら医薬品等は通常の感染経路とは異なり、直接体内に導入される可能性のあることから、ウイルスの除去はきわめて重要である。本研究では文献調査を行い、動物由来材料を汚染する可能性のあるウイルスに関する情報を収集することを目的とした。

B. 研究方法

生物由来製品に迷入する可能性のある甚獣共通感染ウイルス

公表文献や国際獣疫事務局(OIE)等からの各種統計資料等を検討対象とし、生物由

来製品に迷入する可能性のある人獣共通感染ウイルスのリスク評価を行った。

C. 研究結果

1. 生物由来製品に迷入する可能性のある甚獣共通感染ウイルス

動物に感染するウイルスの種類は極めて多く、動物由来材料の汚染に関して可能性のある全てのウイルスについて調べることは不可能である。問題はこれら動物由来材料が仮にウイルスに汚染していたとした場合、製造過程におけるウイルス不活化あるいはウイルス除去・不活化の工程の評価をどの様に行うかということになる。

2. 動物由来材料のウイルス汚染のルート

動物がウイルスに持続感染も含め感染している場合と、製造工程でウイルスに汚染する場合が考えられる。前者に関してはそのリスクを評価するうえで、動物の地理的由来、動物種、年齢、使用臓器、飼養環境等を考慮する必要がある。例えば、胎児組織は胎盤で守られているため一般に新生仔、若年動物あるいは成熟動物と比較して、感染の危険は低い。一方、新生仔は腸管の吸

収性が亢進してことと免疫系が未発達なため感染症に罹患する確率が高い。使用する臓器では中枢神経系は一般にリスクが高い。後者においては材料の採取時あるいは製造工程で使用する添加物等からのコンタミネーションの可能性があげられる。

3. ウイルス不活化の方法

ウイルスの感染価の低下は様々な物理化学処理により可能であるが、ウイルスの種類によりこれらの処理に対する抵抗性は異なる。

・熱処理

熱処理はウイルスの不活化に有効な方法であるが、製品の有効成分が蛋白である場合にはウイルス同様熱処理に感受性である場合もある。したがって、ウイルスを不活化できるが、有効成分に対する影響を極力低減できる条件を設定する必要がある。Parvovirusは熱処理に抵抗性であることが知られており、未精製の場合 80°C、2時間の加熱にも耐える。精製ウイルスでも 56°C、1時間の処理には耐えうるといわれている。従って、ウイルス不活化工程のバリデーションのためにスパイクするモデルウイルスとしては Parvovirus が推奨される。Parvovirus の場合でも 103°C、90秒あるいは 65°C、10時間の処理で 5.5log10 以上の不活化が可能である。電子レンジの原理に基いた高温での長短時間処理により、液状製品の連続処理を可能にする機器が実用化されているが、この手法では有効蛋白成分の失活を最小にしつつウイルス不活化ができるといわれている。

・酸・アルカリ処理

ウイルスは酸あるいはアルカリ処理によっても不活化されるが、Parvovirus は他

のウイルスに比べて抵抗性で pH 2-11 で安定であるので、注意が必要である。

・各種不活化剤処理

この処理は化学物質による不活化であるが、やはり Parvovirus が多くの不活化剤に抵抗性を示す。例えば 70%エタノール 20分の処理では感染価は 1log10 低下したのみであるが、エンベロープを有する Pseudorabies virus (Herpes virus)および TGEV (Coronavirus)は 5分の処理で 6.5あるいは 4.5 の力価低下を示した。また、Parvovirus はフェノール系、ヨード系の消毒剤にも抵抗性を示す。更に 4級アミンにも抵抗性である。

3. ウイルス除去

ウイルスの除去は限外濾過あるいはメンブランフィルター、イオン交換クロマトグラフィーなどで可能であるが、使用する緩衝液やレジンなどの影響を受けるので、バリデーションが必要である。しかしこれらの精製法を組み合わせた場合にはプリオンの除去もできる場合のあることが示されており、有効なウイルス除去法といえる。

表4に一般的ウイルスの除去あるいは不活化に必要な条件を示した。

表

・ウイルス除去あるいは不活化工程を設ける。

・製造工程におけるウイルス試験

ウイルス	低 pH	高 pH	有機 溶剤	56℃ 30分	0.2μm フィルター	0.025μm フィルター
Adenovirus	pH ≤ 3	pH ≥ 11	-	-	-	+
Herpesvirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Hepadnavirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Papovavirus	pH ≤ 3	pH ≥ 11	-	-	-	+
Parvovirus	pH ≤ 3	pH ≥ 11	-	-	-	+
Poxvirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	+	+
Bunyavirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Enterovirus	pH ≤ 3	±pH ≥ 11	-	-	-	+
Flavivirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Oblivious	pH < 4	pH > 9.5	-	-	-	+
Orthomyxovirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Paramyxovirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Retrovirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+

等を行うことにより、ウイルス感染

4. リスクの評価

動物材料を用いた生物由来製品のウイルス安全性を考える上では精度の高いリスク評価が重要である。リスク評価は以下の点について考慮する必要がある。

・使用材料中のウイルスの存在 実際にはウイルスの混入があるのかそれとも理論上のものか

・ウイルスの病原性

・製造過程でのウイルスの迷入の可能性とその病原性

5. リスクの軽減

ウイルスの混入のリスクを低減する対策を講じることが製品の安全性確保上極めて重要である。そのためには

・混入経路を断つ 製造に適した動物を用いる。

事故の確率を低減できる。

13. 5バリデーション

ウイルス除去あるいは不活化工程は関連ウイルスまたはモデルウイルスを用いたスパイク試験にてその有効性が検証されている必要がある。既に記したようにウイルスの様々な不活化、除去に対する感受性は異なっているので、どのようなウイルスをスパイク試験に使用するかはケースバイケースである。ウイルス除去あるいは不活化工程に求められる能力は、原材料に存在すると考えられる最大ウイルス量を上回るウイルス量を減少させられることである。これは材料中に存在する可能性のあるウイルス量の1000倍から10万倍のウイルス量を不活化あるいは除去できる能力であると考えられている。

D. 考察

生物由来製品に迷入する可能性のある甚獣 共通感染ウイルス

動物細胞、組織等を原料とする生物由来製品には原料となる動物に由来する病原体あるいは製造段階で使用する添加物等に存在する病原体が混入する可能性がある。製品の安全性を確保するためにはこれらの病原体の混入を極力最小限に止める必要がある。特にウイルスは持続感染の可能性があるので十分な注意が必要である。ウイルス安全性の確保は原料動物の選択、製造過程へのウイルス除去・不活化工程の設定、GMPの遵守によるウイルス迷入の排除等によって実現できる。このうちウイルスの除去・不活化工程に関してはその有効性が予めバリデーションされていなければならない。製品の使用形態も含め、その製造工程を鑑みたケースバイケースの対応が必要であると考えられる。

E. 参考文献

1. Burstyn, DG and Hageman, TC. Strategies for viral removal and inactivation. *Dev. Biol. Stand.* 88, 73-79, 1996.
2. Rohwer, RG. Analysis of risk to biomedical products developed from animal sources (with special emphasis on the spongiform encephalopathy agents, scrapie and BSE). *Dev. Biol. Stand.* 88, 247-256, 1996
3. Foster, LG. Adventitious agents from animal-derived raw materials – a method of risk assessment. *Dev. Biol. Stand.* 88, 283-290, 1996.
4. Marcus-Sekura, CJ. Validation of removal of human retroviruses. *Dev. Biol. Stand.* 76, 215-223, 1991.
5. Note for guidance, validation of virus removal and inactivation procedures. *Biologicals*, 19, 247-251, 1991.
6. Buttener, M, Oehmig, A, Weiland, F, Rxiha, H-J, and Pfaff, E. Detection of virus or virus specific nucleic acid in foodstuff or bioproducts – hazards and risk assessment. *Arch. Virol.* S13, 57-66, 1997.
7. Werz, W. Hoffmann, H. Haberer, K. and Walter, JK. Strategies to avoid virus transmissions by biopharmaceutic products. *Arch. Virol.* S13, 245-256, 1997.
8. Scott, FW. Virucidal disinfectants and feline viruses. *Am. J. Vet. Res.* 41, 410-414, 1979.
9. Brown, TT. Laboratory evaluation of selected disinfectants as virucidal agents against porcine parvovirus, pseudorabies virus, and transmissible gastroenteritis virus. *Am. J. Vet. Res.* 42, 1033-1036, 1980.
10. Granoff, A and Webster, RG (Eds) *Encyclopedia of virology*. 2nd ed. Academic Press.
11. Knipe, DM. And Howley, PM (Eds) *Fields Virology*. 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins.
12. van Holten, RW. Autenrieth, S. Boose, JA. Hsieh, W-T. and Dolan, S. Removal of prion challenge from

globulin preparation by use of a size-exclusion filter. *Transfusion*, 42, 999-1004, 2002.

13. Blumel, J. Schmidt, I. Willkommen H. and Lower, J. Inactivation of parvovirus B19 during pasteurization of human serum albumin. *Transfusion* 42, 1011-1018, 2002.
14. Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. ICH, 1997.
15. Note for guidance on virus validation studies: The design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses. EMEA CPMP BWP, 268/95, 1996.

厚生労働科学特別研究補助金

14年度分担研究報告

動物を用いた細胞組織利用医薬品のウイルス安全性確保

山内一也 (財)日本生物科学研究所 主任研究員

研究結果の概要

ブタの臓器または細胞を用いた異種移植の研究が進展し、細胞移植では欧米ですでに臨床試験が行われている。これらの臓器、細胞は生物製剤として位置づけられるべきものであり、しかも動物の臓器、細胞が長期間、人体内に生着することによる、これまでにない新しいリスクを提示している。その観点から混入の可能性のあるウイルスの調査とその検出法についての調査を行った。

一方、ヒツジ、ヤギ、ウシなどの乳腺で医薬品蛋白を発現させる、いわゆる動物工場では、これら動物由来のウイルスのみならず、プリオン汚染の問題も抱えている。そこで、動物工場由来の医薬品のウイルス安全性確保の現状についての調査を行った。

研究により得られた成果の今後の活用・提供

ブタの臓器由来ウイルスのうち、とくにブタ内在性レトロウイルス(PERV)は今後、臨床試験の実施に際して、リスク評価とリスク管理に関わる大きな問題になる。本調査結果はそのための研究推進に役立つはずである。

プリオンに関しては、スパイク用プリオン株の確保とバリデーション・システムの確立に本調査結果が利用できる。

研究の実施経過

1. 動物を用いた細胞組織利用医薬品のウイルス安全性確保

異種移植におけるブタ由来ウイルス候補には、Picornaviridae, Caliciviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Coronaviridae, Paramyxoviridae, Rhabdoviridae, Bornaviridae, Orthomyxoviridae, Bunyaviridae, Arenaviridae, Reoviridae, Retroviridae, Circoviridae, Parvoviridae, Papovaviridae, Adenoviridae, Herpesviridae, Poxviridae, Desoxyviridae と多くのウイルス属のものがある。これらのほとんどは、SPFブタの隔離飼育により排除可能である。

しかし、PERVは染色体に含まれるため、排除不可能で、異種移植の安全性確保における最重要課題となっている。現在、PERV検出の感度は50万個の細胞あたり10コピー程度であり、これをさらに高める努力が求められてい

る。また、臓器移植を行った場合、血液中におけるブタ細胞によるマイクロキメリズムがリスク評価における重要な問題となる。ここでは染色体セントロメア(またはミトコンドリア)のコピー数と PERV コピー数の比率からヒト細胞への PERV 感染の評価が試みられている。

動物工場由来医薬品におけるプリオンの問題については、用いるヒツジ、ヤギ、ウシを BSE およびスクレイピーの存在しない清浄国から入手すること、スパイクキングによるバリデーションの両面から対応が行われている。スパイクキングに用いる病原体は潜伏期の短いスクレイピー・ハムスター順化263K株、BSEマウス順化301V株が一般に用いられている。

2. 動物を用いた細胞・組織利用医薬品のウイルス安全性確保

動物を用いた細胞・組織加工医薬品のウイルス安全性確保についての調査研究を行った。その結果、ブタ由来製品での混入の可能性のあるウイルスの提示ができた。また、これらのウイルスに関しては SPFブタの使用によって排除可能なことが明らかにできた。

ブタ由来細胞組織利用医薬品を用いる場合最も懸念されている PERV の検出感度は、50万細胞あたり10コピー程度であること、この検出感度の向上が緊急の課題であることが示された。また、PERV のヒトへの感染性について検討が行われているが、その結論はまだ出されていない。

さらに、BSE 対策として原料の原産国を指定することによる安全性確保政策と、スパイクキングによる工程評価の両面から対応が検討されていることが明らかになった。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号、ページ、出版年
Tsutsumi T., Suzuki T., Shimoike T., Suzuki R., Moriya K., Shintani Y., Fujie H., Matsuura Y., Koike K., and Miyamura T.	Interaction of hepatitis C virus core protein with retinoid X receptor - α modulates its transcriptional activity.	<i>Hepatology</i>	35, 937-946, (2002)
Aizaki H., Otsuka M., Matsuda M., Li Y.W., Harada T., Kawakami H., Seki N., Matsuura Y., Miyamura T. and Suzuki T.	Characteristic gene expression in liver cell lines expressing entire polyprotein of hepatitis C virus.	<i>Hepatology</i>	6, 1431-1438, (2002)
Tsutsumi T., Suzuki T., Moriya K., Yotsuyanagi H., Shintani Y., Fujie H., Matsuura Y., Kimuta S., Koike K., and Miyamura T.	Intrahepatic cytokine expression and AP-1 activation in mice with transgene for hepatitis C virus core protein.	<i>Virology</i>	04, 415-424, (2002)
Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, Hino K, Mishiro S.	Genetic heterogeneity of hepatitis E virus recovered from Japanese patients with acute sporadic hepatitis.	<i>J Infect Dis.</i>	185: 1342-1345. (2002)
Ito, T., Kobayashi, Y., Morita, T., Horimoto, T., and Kawaoka, Y.	Virulent influenza A viruses induce apoptosis in chicken.	<i>Virus Res.</i>	84:27-35. (2002)
Kawana-Tachikawa, M. Tomizawa, J. Nunoya, T. Shioda, A. Kato, EE. Nakayama, T. Nakamura, Y. Nagai, and A. Iwamoto A.	An efficient and versatile mammalian viral vector system for major histocompatibility complex class I/peptide complexes.	<i>J Virol.</i>	76:11982-11988 (2002).
T. Bousse, T. Matrosovich, A. Portner, A. Kato, Y. Nagai, and T. Takimoto.	The long noncoding region of the human parainfluenza virus type 1 F gene contributes to the read-through transcription at the M-F gene junction.	<i>J Virol.</i>	76:8244-51 (2002)
T. Hirata, A. Iida, T. Iida, K. Kitazato, A. Kato, Y. Nagai and M. Hasegawa.	An improved method for recovery of F-defective Sendai virus expressing foreign genes from cloned cDNA.	<i>J Virol Methods.</i>	104:125-133 (2002)

Kato, Y. Ohnishi, M. Hishiyama, M. Kohase, S. Saito, M. Tashiro, and Y. Nagai.	The amino-terminal half of Sendai virus C protein is not responsible for either counteracting the antiviral action of interferons or down-regulating viral RNA synthesis.	<i>J Virol.</i>	76:7114-7124 (2002)
T. Tokusumi, A. Iida, T. Hirata, A. Kato, Y. Nagai and M. Hasegawa.	Recombinant Sendai viruses expressing different levels of a foreign reporter gene.	<i>Virus Res.</i>	86:33-38 (2002)
M. Kano, T. Matano, A. Kato, H. Nakamura, A. Takeda, Y. Suzaki, Y. Ami, K. Terao and Y. Nagai.	Primary replication of a recombinant Sendai virus vector in macaques.	<i>J Gen Virol.</i>	83:1377-1386 (2002)
S. Saito, T. Ogino, N. Miyajima, A. Kato and M. Kohase.	Dephosphorylation failure of tyrosine-phosphorylated STAT1 in IFN-stimulated Sendai virus C protein-expressing cells.	<i>Virology,</i>	293:205-209 (2002)
Kurihara, T., Miyazawa, T., Miyagawa, S., Tomonaga, K., Hazama, K., Yamada, J., Shirakura, R., and Matsuura Y.	Sensitivity to human serum of gammaretroviruses produced from pig endothelial cells transduced with glycosyltransferase genes.	<i>Xenotransplantation</i>	in press
Iwata, A., Satoh, K., Murata, M. Hikata, M., Hayakawa, T., Yamaguchi, T.	Virus concentration using sulfonated magnetic beads to improve sensitivity in nucleic acid amplification tests.	<i>Biol. Pharm. Bull.</i>	in press
Satoh, K., Iwata, A., Murata, M., Hikata, M., Hayakawa, T., Yamaguchi, T.	Virus Concentration Using Polyethyleneimine-conjugated Magnetic Beads for Improvement of Sensitivity in Nucleic Acid Amplification Tests.	<i>J. Virol. Method.</i>	in press
Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., Oshizawa, T., Kogi, M., Uchida, E., Hayakawa, T.	The role of c-Myc on granulocyte colony-stimulating factor-dependent neutrophilic proliferation and differentiation of HL-60 cells.	<i>Biochem. Pharm</i>	in press
Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., Oshizawa, T., Hayakawa, T.	CD31 (PECAM-1)-bright cells derived from AC133-positive cells in human peripheral blood as endothelial-precursor cells.	<i>J. Cell Physiol.</i>	195, 119-129 (2003)
Xu, Z., Mizuguchi, H., Ishii-Watabe, A., Uchida, E., Mayumi, T., Hayakawa, T.	Strength evaluation of transcriptional regulatory elements for transgene expression by adenovirus vector.	<i>J. Control Release</i>	81, 155-163 (2002)

Omori, M., Mizuguchi, H., Ohsawa, K., Kohsaka, S., Hayakawa, T., Abe, K., Shibasaki, F.	Modification of a fiber protein in an adenovirus vector improves in vitro gene transfer efficiency to the microglial cell line.	<i>Neurosci. Lett.</i>	324, 145-148 (2002)
Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., Oshizawa, T., Kogi, M., Uchida, E., Hayakawa, T.	Role of the p70 S6 kinase cascade in neutrophilic differentiation and proliferation of HL-60 cells -A study of transferrin receptor-positive and -negative cells obtained from dimethyl sulfoxide- or retinoic acid-treated HL-60 cells.	<i>Arch Biochem Biophys</i>	405, 21-31 (2002)
Mizuguchi, H., Hayakawa, T.	Adenovirus vectors containing chimeric type 5 and type 35 fiber proteins exhibit altered and expanded tropism and increase the size limit of foreign genes.	<i>Gene</i>	285, 69-77 (2002)
Takahashi, M., Seki, N., Ozaki, T., Kato, M., Kuno, T., Nakagawara, T., Watanabe, K., Miyazaki, K., Ohira, M., Hayashi, S., Hosoda, M., Tokita, H., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Todo, S., Nakagawara, A.	Identification of the p33 ^{ING1} -regulated genes which include <i>cyclin B1</i> and proto-oncogene <i>DEK</i> by using cDNA microarray in a mouse mammary epithelial cell line NmuMG.	<i>Cancer Res.</i>	62, 2203-2209 (2002)
Mizuguchi, H., Hayakawa, T.	Enhanced anti-tumor effect and reduced vector dissemination with fiber-modified adenovirus vectors expressing herpes simplex virus thymidine kinase.	<i>Cancer Gene Ther.</i>	9, 236-242 (2002)
Mizuguchi, H., Hayakawa, T.	The tet-off system is more effective than the tet-on system for regulating transgene expression in a single adenovirus vector.	<i>J. Gene Med.</i>	4, 240-247 (2002)
Nakagawa, T., Takahashi, M., Ozaki, T., Watanabe, K., Todo, S., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Nakagawara, A.	Autoinhibitory regulation of p73 by Δ Np73 to modulate cell survival and death through p73-specific target element within the Δ Np73 promoter.	<i>Molecular and Cellular Biology,</i>	22, 2575-2585 (2002)

Nagayama, Y., Kita-Furuyama, M., Ando, T., Nakao, K., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Eguchi, K., Niwa, M.	A novel murine model of Graves' hyperthyroidism with intramuscular injection of adenovirus expressing the thyrotropin receptor.	<i>J. Immunol.</i> ,	168, 2789-2794 (2002)
Okada, Y., Okada, N., Nakagawa, S., Mizuguchi, H., Kanehira, M., Nishino, N., Takahashi, K., Mizuno, N., Hayakawa, T., Mayumi, T.	Fiber-mutant technique can augment gene transduction efficacy and anti-tumor effects against established murine melanoma by cytokine-gene therapy using adenovirus vectors.	<i>Cancer Letter</i>	177, 57-63 (2002)
Okada, Y., Okada, N., Nakagawa, S., Mizuguchi, H., Takahashi, K., Mizuno, N., Fujita, T., Yamamoto, A., Hayakawa, T., Mayumi, T.	Tumor necrosis factor α -gene therapy for an established murine melanoma using RGD (Arg-Gly-Asp) fiber-mutant adenovirus vectors.	<i>Jpn. J. Cancer Res.</i>	93, 436-444 (2002)
Mizuguchi, H., Hayakawa, T.	Improvement of adenovirus vectors for gene transfer.	<i>Animal Cell Technology : Basic and Applied Aspects</i>	12, 1-5 (2002)
Hayakawa, T.	Perspective on assessing comparability of biotechnology products -A view from Japan-. Biologics 2000	<i>Dev. Biol. Stand</i>	109, 27-40 (2002)
Kawamata, Y., Nagayama, Y., Nakao, K., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Sato, T., Ishii, N.	Receptor-independent augmentation of adenovirus-mediated gene transfer with chitosan in vitro.	<i>Biomaterials</i>	23, 4573-4579 (2002)
Mizuguchi, H., Koizumi, N., Hosono, T., Ishii-Watabe, A., Uchida, E., Utoguchi, N., Watanabe, Y., Hayakawa, T.	CAR- or α v integrin-binding ablated adenovirus vectors, but not fiber-modified vectors containing RGD peptide, do not change the systemic gene transfer properties in mice.	<i>Gene Ther.</i> ,	9, 769-776 (2002)
Uchida, E., Mizuguchi, H., Ishii-Watabe, A., Hayakawa, T.	Comparison of the efficiency and safety of non-viral vector-mediated gene transfer into a wide range of human cells.	<i>Biol. Pharm. Bull.</i>	25, 891-897 (2002)

Akuta, T., Eguchi, A., Okuyama, H., Senda, T., Inokuchi, H., Suzuki, Y., Nagoshi, E., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Takeda, K., Hasegawa, M., Nakanishi, M.	Enhancement of phage-mediated gene transfer by nuclear localization signal.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun</i>	297, 779-786 (2002)
Morioka, T., Koyama, H., Yamamura, H., Tanaka, S., Emoto, M., Imamura, T., Miyazono, K., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Kojima, I., Takahashi, K., Nishizawa, Y.	Expression and its role of calponin in pancreatic AR42J cell differentiation into insulin-producing cells.	<i>Diabetes.</i>	52, 760-766 (2003)
Nakano, R., Nakagawa, T., Imazu, S., Katayama, K., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Tsutsumi, Y., Nakagawa, S., Mayumi, T.	A novel T7 system utilizing mRNA coding for T7 RNA polymerase.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i>	301, 974-978 (2003)
Hayakawa, T.	Regulating biotechnology products. -Comparability of biotechnology products and cell substrates.	<i>10th International conference of drug regulatory authorities (ICDRA)</i>	65-67 (2002)
Katayama, K., Wada, K., Nakajima, A., Yoshida, S., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Nakagawa, S., Kadowaki, T., Nagai, R., Kamisaki, Y., Blumberg, R. S., Mayumi, T.	A novel PPAR γ -gene therapy to control inflammation associated with inflammatory bowel disease	<i>Gastroenterology</i>	in press
Koizumi, N., Mizuguchi, H., Utoguchi, N., Watanabe, Y., Hayakawa, T.	Generation of fiber-modified adenovirus vectors containing heterologous peptides in both the HI Loop and C-terminus of the fiber knob.	<i>J. Gene Med.</i>	in press
Okada, Y., Okada, N., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Mayumi, T., Mizuno, N.	An investigation of adverse effects caused by the injection of high-dose TNF α -expressing adenovirus vector into established murine melanoma.	<i>Gene Ther</i>	in press

Nagayama, Y., Nakao, K., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Niwa, M.	Enhanced antitumor effect of combined replicative adenovirus and non-replicative adenovirus expressing interleukin-12 in an immunocompetent mouse model.	<i>Gene Ther</i>	in press
Nagayama, Y., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Niwa, M., McLachlan, S. M., Rapoport, B.	Prevention of autoantibody-mediated Graves'-like hyperthyroidism in mice with interleukin-4, a Th2 Cytokine	<i>J. Immunol</i>	in press
Okada, N., Masunaga, Y., Iiyama, S., Tsuda, T., Mori, N., Sasaki, A., Okada, Y., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Nakagawa, S., Mayumi, T., Fujita, T., Yamamoto, A.	Murine dendritic cells transduced with human gp100 gene by RGD fiber-mutant adenovirus vectors are highly efficacious in generating anti-melanoma immunity	<i>Cancer Gene Ther</i>	in press
Xu, Z, Mizuguchi, H., Mayumi, T., Hayakawa, T.	Regulated gene expression from adenovirus vectors: A systematic comparison of various inducible systems.	<i>Gene</i>	in press
Sakurai, F., Mizuguchi, H., Hayakawa, T.	Efficient gene transfer into human CD 34 ⁺ cells by an adenovirus type 35 vector.	<i>Gene Ther.</i>	in press
Niimi, S., Hyuga, M., Kazama, H., Inagawa, M., Seki, T., Ariga, T., Kobayashi, T., Hayakawa, T.	Activins A, AB and B inhibit hepatocyte growth factor synthesis by MRC-5 human lung fibroblasts.	<i>Biol. Pharm. Bull.</i>	25,1405-1408 (2002)
水口裕之, 早川堯夫	in vitro ライゲーションを利用したアデ ノウイルスベクターの作製・増殖法	<i>実験医学</i>	20, 1799-1804 (2002)
早川堯夫, 石井(渡部)明子	生物薬品の開発の現状とトランスレーシ ョナルリサーチへの条件	<i>医学のあゆみ</i>	200, 539-543 (2002)
早川堯夫, 石井(渡部)明子	先端的バイオリジクス開発の現状と新た なバイオ創薬に向けての課題	<i>医薬品研究</i>	33, 693-729 (2002)
早川堯夫	バイオテクノロジー応用医薬品	<i>臨床試験</i>	印刷中
水口裕之, 早川堯夫	遺伝子機能解析のための遺伝子導入ベク ター -ウイルスベクターを中心として	<i>蛋白質・核酸・酵素</i>	印刷中
早川堯夫, 山口照英, 石井(渡 部)明子, 押澤正	核酸増幅法によるウイルスゲノム等検出 に関するフィージビリティスタディ	<i>医薬品研究</i>	33, 275-284 (2002)
早川堯夫, 山口照英, 押澤正	日局生物薬品の品質・安全性確保に関す る研究 -ウイルス安全性確保の基本要件	<i>医薬品研究,</i>	33, 210-230 (2002)

山口照英	ヒト由来細胞・組織利用医薬品等の品質 及び安全性確保について	ファルマシア	38, 523-525 (2002)
堀本泰介、八田正人、河岡義裕	香港トリインフルエンザ事情	インフルエンザ	3(2):64-67 (2002)
堀本泰介、河岡義裕	インフルエンザ制圧をめざして	臨床とウイルス	30(3):139-14 6.(2002)
堀本泰介、五藤秀男、高田礼人、 河岡義裕	ウイルスの病原性発現における糖蛋白質 の役割	<i>Molecular Medicine</i> 臨時増刊号「免疫 2003	39:212-226 (2002)
堀本泰介、河岡義裕	インフルエンザの流行病学：新型インフル エンザの襲来はあるか？	臨床と研究	79(12):97-10 2 (2002)

20020091

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.107－P.113の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。