

で消化し、得られた断片を自動的に陰イオン交換カラムおよびアビジンカラムで ICAT 試薬反応ペプチドがアフィニティ精製可能な前処理システム (Vision system (3 式)) を構築した。Vision system で精製した画分を逆相 C18 nanoHPLC (LC Packing) でさらに精製し、溶出される各ピークを、直接 Q-TOF タイプの高性能質量分析器 (ABI QSTAR-XL, ESI/4 重極/TOF) でペプチドの同定、配列決定及び発現差解析を行うことができる Q-STAR-LC/MS/MS system (合計 9 台) を構築した。一方、同様に逆相 C18 nanoHPLC (LC Packing) で溶出される各ピークを Probot 分注器 (8 式) を用いて自動的に MALDI 用金属プレートに分注し、高性能 MALDI/TOF/TOF で同定および発現差解析を可能にする ABI4700-MALDI/TOF/TOF system (5 式) を構築した。Q-STAR system と ABI4700-MALDI system を同一検体を使用するので同定効率が向上するものと思われる。標準ペプチド (BSA trypsin fragments, 10fmol) を用いて、いずれの機器の性能を確認した。また、実際に、マウス血清を用いてアジレントイムノカラムで前処理し、アルブミンなどの主要な 5 種たんぱく質を除いた血清低濃度蛋白質画分を上述の Cleavable ICAT 試薬 (^{13}C , ^{12}C 標識) に反応させ、トリプシン処理、陰イオン交換カラム処理、アビジンカラム処理 (Vision Workstation System)、TFA 処理して得られた ICAT 試薬反応ペプチドを上述の nanoHPLC/ABI4700MALDI/TOF/TOF system で解析した結果、 ^{13}C , ^{12}C 標識された各ペプチドが 1 対 1 の割合で検出されることを確認した。検出感度、同定率は 2DPAGE 法よりはるかに優れていた。

今後、ヒト患者組織試料に本 ICAT 法を導入し、さらに後述する最新のバイオインフォマティクス技術の駆使により、一日に約 1 - 3 万のたんぱく質の同定と発現差解析が可能にしたい。

III: Ettan DIGE system の構築

従来の二次元電気泳動 (2DPAGE) 法を改良し、定

量性、迅速性を高めた Amsham 社製の Ettan DIGE system を構築した。正常・患者組織を異なる蛍光色素で分別標識後、二次元電気泳動を行い、得られたゲルを画像解析装置 (Typhoon 9400 Image analyzer) で発現差解析を行い、ロボット (Ettan Handling Workstation) を用いて必要なスポットを自動的に切り出し、トリプシン消化を行い、ABI-4700 および Ultraflux 用の MALDI 型プレートに分注するように設定した。

IV: SELDI/TOF system の構築

患者の体液 (主として血清) 中の疾患関連バイオマーカーの探索のために、SELDI/TOF system (PBS-II, サイファージェン社製) を構築した。本システムは各種チップ (ケミカルチップ、バイオチップ、抗体チップ等) をコーティングした金属プレート (SELDI-plate) に体液を反応させた後に洗浄し、特異的に吸着したバイオマーカー (たんぱく質) を MALDI-TOF タイプの MS (SELDI/TOF) で解析するものである。バイオマーカーの各種チップへの反応性は Biomex 2000 (分注・洗浄ロボット) を用いて迅速に調べることが可能である。また、バイオマーカーの同定のために、SELDI-plate が対応可能な ABI 社製精査用 QSTAR-XL (MALDI 型) を連結した。なお、複数のバイオマーカー探索を有効にするため、多変量解析ソフトも導入した。

V: 精査・研究探索用 MS system の構築

上述の大規模・迅速解析システムで得られた結果をさらに詳細に検討するために、精査および研究探索用の MS system を構築した。蛋白質複合体解析、翻訳後修飾解析、蛋白質相互作用解析等に利用する。

- (1) MALDI-Ion Trap-TOF (AXIMA-QIT) (2 式): 島津製作所製 2DLC も利用して、糖鎖解析を行う。納入された直後であるので未だ性能チェックは完了していない。

- (2) ESI-IonTrap-Q (LCQDeca XP)(3 式): 2DLC(microHPLC)に対応する。操作性に優れ、研究用にマニュアルで使用する。標準ペプチド(BSA trypsin fragments)を Magic C18 カラム(5 μ , 200 Å, 02 x 50mm, 0.1%ギ酸/0.005%HFBA, AcCN, 5-80%, 1 μ /min)で分画し、各ペプチドを LCQDeca XP で解析した。100fmol のペプチドが同定可であることを確認した。
- (3) ABI-4700 (1 式)。
- (4) Ultraflex (1 式):Bruker 社製。MALDI-TOF-TOF。
- (5) ABI-QSTAR-XL (1 式)

VI: プロテオームファクトリー統合型情報系(IT)システムの構築

本プロテオームファクトリーに必要な以下の6情報系(IT)システムの稼動・運用に必要なハードウェアおよびソフトウェアの納入を完了した (Fig. 38)。

- (1) 匿名化・臨床情報収集システム
- (2) 試料管理・機器管理システム(LIMS)
- (3) データマイニングシステム
- (4) データベースシステム
- (5) バックアップシステム
- (6) 高速ネットワークシステム

以下、具体的なサブシステム稼動状況について説明する。

- ・匿名化・臨床情報収集システムのセットアップは完了し、PF へのヒト検体及び臨床情報の登録を可能にした。
- ・LIMS の基本セットアップは完了し、実際のサンプル処理や測定の流れに柔軟に対応した実験情報の登録を可能にした。
- ・データマイニングシステム・データベースシステムの基本セットアップは完了。各種質量分析計(4700、QSTAR 等)の測定生データ収集から、

たんぱく質同定結果・発現変動結果のデータベース登録に至るデータ解析の全自動処理を可能にした。今後、実際に上記質量分析計によるMS及びMS/MS測定を実施して、システムの動作確認を行う予定である。また、NCBI等の外部公共データベースへのリンクも可能である。

- ・バックアップシステムの設定は完了し、PFにて生成される全てのデータ・情報の安全なバックアップ機能を整備した。
- ・高速ネットワークシステムのセットアップは完了し、各サブシステム間の連携が可能になった。今後、具体的な機器やPC・サーバとの接続を実施する予定。

一部を除いて、ほぼ、計画通り、患者組織試料の受け入れ、保管から、管理、粗分画、蛋白質抽出、各種MSによる解析システムおよびデータベース構築用インフォマティクスまでの一連のシステムに必要な機器類・ソフトの納入・設定ができた。また、標準サンプルを用いて高性能MS機器の性能チェックも完了した。さらに、前処理法、ICAT法も一部であるが検討した。平成16年4月1日より、実際にプロテオームファクトリーが開所し、実験者が入所するので、今後は、実際の生体試料を用いて各システムを稼動させる予定である。当面は、倫理委員会の審査が必要ない市販ヒト組織(血清等)、ヒト細胞株、動物組織を使用し、前処理方法の改良など技術的な問題点をさらに克服するつもりである。また、プロテオームファクトリーの倫理委員会が設立次第、病院からの患者組織試料も受け入れたい。疾患としては、臨床とモデル動物との乖離が大きく、現在、有効な治療法がない疾患を優先したい。現在、試料提供先の病院と具体的な疾患およびそれに伴うプロトコルを協議中である。

E. 結 論

疾患関連たんぱく質解析研究事業の初年度は、

以下にまとめたように、我が国の主要疾患に対する疾患プロテオミクス研究を推進するために必要不可欠な基礎的知見・情報の集積を図る得ると共に、ソフト面とハード面からその研究基盤を整備し、十二分に基盤技術を確立した。

① たんぱく質発現解析システムの構築：2D-LCを利用したたんぱく質の精細分離による解析システム、及びLC/MS/MSを用いたICAT法によるショットガンペプチド解析の基礎的検討を行った。

② たんぱく質発現情報と遺伝子発現情報比較システムの構築：疾患と関連するたんぱく質や遺伝子の発現量の変化、及びたんぱく質の翻訳後修飾について網羅的かつ効率的にプロファイリングするための自動化システムを構築した。

③ 疾患関連グライコーム解析技術の開発：LC/MS、LC/MS/MS、及び2D-GE等を用いた糖ペプチド、糖鎖、及びグライコフォーム解析に基づく疾患関連グライコプロテーム・グライコーム解析法の開発と実行可能性について検討し、1) ペプチド/糖ペプチドのLC/MS/MS測定において、糖鎖Bイオンを指標とした糖ペプチドイオンの特定、及び糖鎖構造推定とペプチド同定が可能であること、2) GCC-LC/MSを用いた糖鎖プロファイリング法と2D-GEによって、細胞発現たんぱく質結合糖鎖の差異解析と特定糖鎖を有するたんぱく質の同定が可能であること、3) 2D-GEとLC/MSによるゲル内糖たんぱく質糖鎖解析によって、グライコフォームプロファイリング及び糖鎖解析が可能であることを実証した。これらの方法は、疾患に関連する糖たんぱく質や結合糖鎖の探索に役立つものと期待される。

④ 疾患関連たんぱく質の機能解析に向けた遺伝子発現制御系の開発：目的遺伝子をE1欠損領域に、tet-onシステムのための転写活性化因子のrtTA遺伝子をE3欠損領域に、転写抑制因子のtTS遺伝子を

E4領域と3'ITRの間の領域に同時に搭載させたアデノウイルスベクターを開発し、発現誘導能に極めて優れていることを明らかにした。さらに mutant rTAを用いることで、ドキシサイクリンに対する感受性が増大し、より低濃度の薬剤で目的遺伝子の発現制御が可能となった。また、発現制御型アデノウイルスベクターのファイバー領域にRGDペプチドを付与したり、35型アデノウイルスのファイバーに置換することにより、CAR陰性の細胞に対しても α vインテグリンやCD46を認識して効率良く目的遺伝子の発現制御が可能なベクターの開発に成功した。

⑤ 高脂血症ウサギの肝臓のプロテオーム解析を行い、興味ある知見を得た。

⑥ ヒト胃および血漿中には、活性型のオクタノイル化されたグレリンおよび非活性型である des-acyl ghrelin 以外に、グレリンと同等の活性を有する関連分子としてC末端部や脂肪酸修飾の異なる分子型が多種類存在することが明らかになった。

⑦ 痴呆症等に関する本研究事業の円滑な推進を図るための基盤整備を平成15年度においておこなった。

⑧ ポストゲノム時代に疾患に関連した遺伝子情報が集積した上で、これらの情報を疾患の診断及び治療にいかにかかすかが今後の課題になる。特に糖尿病の特徴は、患者数が多い（国内の糖尿病患者：740万人、潜在的には推計1620万人）上にさらに増加傾向にあり、特に患者の90%以上を占める2型糖尿病はインスリン分泌低下及びインスリン抵抗性が合併することで発症する多因子性疾患である。このため、本プロジェクトにて糖尿病患者由来サンプルを大規模に収集し、たんぱく質の網羅的同定を行い、それらの情報と臨床情報との関連性についてバイオインフォマティクス技術を用いて解析することは、遺伝子素因に環境因子の影響、細小血管症や

動脈硬化性疾患の有無が加味された上での、個々の患者の病態に合わせた新しい治療法の開発及び最適な治療法の選択に貢献することが期待される。

⑨ 小児の免疫アレルギー疾患の病態解明・薬物標的因子の探索において患者由来の血清及び尿のプロテオーム解析は非常に有望と考えられた。

⑩ 痴呆疾患や骨粗しょう症等の加齢関連疾患のたんぱく解析を行い疾患関連たんぱくの探索と新しい治療法の開発を試み、病院から研究所へのサンプル提供体制を確立した。

⑪ 手術後に迅速に、マクロ診断できるシステムを構築した。その結果、研究に供することができる残余検体を凍結できるようになった。

⑫ 微量試料前処理及び分離法を確立することにより、個人ごとに採取した尿や血漿由来の蛋白質・ペプチドをピコモルレベルで分離、分画することが可能になり、さらに、それらを用いて MALDI 及び ESI-MS/MS と配列データベース検索により蛋白質・ペプチドの同定を行うことができた。また、気相エドマン分解法と MALDI-MS の組み合わせによる新しい方法により、多数の蛋白質を効率よく同定できる方法を考案した。さらに、MS や MS/MS スペクトルで観測される同位体分布を理論分布と照合できる新しいソフトウェアの試作し、データのバリデーションに有効に利用できた。

⑬ 創薬ターゲット探索用データベース構築のために、疾患毎に、100 名以上の健常人・患者検体（組織+体液）の蛋白質発現差解析を可能にする前処理法、機器類・バイオインフォマティクス（解析ワークフロー（Fig. 1））を構築した。今後は、具体的な疾患を試料提供先の病院側と協議し、実際の患者試料の解析を行う予定である。

E. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1.論文発表

- 1) Nana KAWASAKI, Satsuki ITOH, Miyako OHTA, Takao HAYAKAWA: Microanalysis of N-linked Oligosaccharides in a Glycoprotein by Capillary Liquid Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, *Anal. Biochem.*, **316**, 15-22 (2003)
- 2) Shingo NIIMI, Tadashi OSHIZAWA, Teruhide YAMAGUCHI, Mizuho HARASHIMA, Taiichiro SEKI, Toyohiko ARIGA, Toru KAWANISHI, Takao HAYAKAWA: Specific Expression Of Annexin III In Rat Small Hepatocytes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **300**, 770-774 (2003)
- 3) Nana KAWASAKI, Miyako OHTA, Satsuki ITO, Takao HAYAKAWA: Analysis of glycopeptides and glycoproteins by liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Methods Molecular Biology*, **251**, 263-274 (2003)
- 4) Toshie KANEYASU-TOYODA, Teruhide YAMAGUCHI, Tadashi OSHIZAWA, Takao HAYAKAWA: CD31 (PECAM-1)-bright cells derived from AC133-positive cells in human peripheral blood as endothelial-precursor cells, *J. Cell Physiol.*, **195**, 119-129 (2003)
- 5) Y. Gotou, Shingo NIIMI, Takao HAYAKAWA, T. Miyashita, Preparation of lactose-silk fibroin conjugates and their application as a scaffold for hepatocyte attachment. *Biomaterials*, **25**,

- 1131-1140 (2003)
- 6) Tadashi OSHIZAWA, Teruhide YAMAGUCHI, K., Suzuki, Y., Yamamoto, Takao HAYAKAWA: Possible Involvement of Optimally Phosphorylated L-plastin in Activation of Superoxide Generating NADPH Oxidase. *J. Biochem.*, 134, 827-834 (2003)
 - 7) Toshie KANAYASU-TOYODA, Teruhide YAMAGUCHI, Tadashi OSHIZAWA, Eriko UCHIDA, Takao HAYAKAWA: The role of c-Myc on granulocyte colony-stimulating factor-dependent neutrophilic proliferation and differentiation of HL-60 cells. *Biochem. Pharmacol.* 66:133-140, (2003)
 - 8) Tetsu KOBAYASHI, Shingo NIIMI, Toru KAWANISHI, Masamichi FUKUOKA, Takao HAYAKAWA: Changes of Peroxisome Proliferator-activated Receptor-regulated Gene Expression and Inhibin/Activin-follistatin System Gene Expression in Rat Testis After an Administration of Di-n-butyl Phthalate, *Toxicol. Letter*, 138, 215-225 (2003)
 - 9) Kazufumi KATAYAMA, Koichiro WADA, Atsushi NAKAJIMA, Sachiko YOSHIDA, Hiroyuki MIZUGUCHI, Takao HAYAKAWA, Shinsaku NAKAGAWA, Takashi KADOWAKI, Ryoza NAGAI, Yoshinori KAMISAKI, Richard S. BLUMBERG, Tadanori MAYUMI: A Novel PPAR γ -Gene Therapy to Control Inflammation Associated with Inflammatory Bowel Disease, *Gastroenterology*, 124, 1315-1324 (2003)
 - 10) T. Morioka, H. Koyama, H. Yamamura, S. Tanaka, S. Fukumoto, M. Emoto, H. Mizuguchi, T. Hayakawa, I. Kojima, K. Takahashi, Y. Nishizawa : Role of H1-Calponin in Pancreatic AR42J Cell Differentiation into Insulin-producing Cells. *Diabetes.*, 52, 760-766 (2003)
 - 11) Yuji NAGAYAMA, Hiroyuki MIZUGUCHI, Takao HAYAKAWA, Masami NIWA, Sandra M. Mclachlan, Basil RAPOPORT: Prevention of Autoantibody-Mediated Graves'-like Hyperthyroidism in Mice with Interleukin-4, a Th2 Cytokine, *J. Immunol.*, 170, 3522-3527 (2003)
 - 12) Naoki OKADA, Yasushige MASUNAGA, Sayaka IYAMA, Takashi TSUDA, Naoki MORI, Akinori SASAKI, Yuka OKADA, Hiroyuki MIZUGUCHI, Takao HAYAKAWA, Shinsaku NAKAGAWA, Tadanori MAYUMI, Takuya FUJITA, Akira YAMAMOTO : Murine Dendritic Cells Transduced with Human gp100 Gene by RGD Fiber-mutant Adenovirus Vectors Are Highly Efficacious in Generating Anti-melanoma, *Gene Ther.*, 10, 1891-1902 (2003)
 - 13) Kita A., Uotani S., Kuwahara H., Takahashi R., Oshima K., Yamasaki H., Mizuguchi H., Hayakawa T., Nagayama Y., Yamaguchi Y., Eguchi K.: Vanadate enhances leptin-induced activation of JAK/STAT pathway in CHO cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 302, 805-809 (2003)
 - 14) Gao J-Q, Tsuda Y., Katayama K., Nakayama T., Yoshie O., Hatanaka Y., Tani Y., Mizuguchi H., Hayakawa T., Yoshie O., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S.: Antitumor effect by interleukin-11 receptor α -locus chemokine/CCL27, introduced into tumor cells through a recombinant adenovirus vector. *Cancer Res.*, 63, 4420-4425 (2003)
 - 15) Yuji Nagayama, Kazuhiko Nakao, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Masami Niwa: Enhanced antitumor effect of combined replicative adenovirus and non-replicative adenovirus expressing interleukin-12 in an

- immunocompetent mouse model, *Gene Ther.*, **10**, 1400-1403 (2003)
- 16) Itoh A., Okada T., Mizuguchi H., Hayakawa T., Mizukami H., Kume A., Takatoku M., Komatsu A., Hanazono Y., Ozawa K. A soluble CAR-SCF fusion protein improves adenoviral vector-mediated gene transfer to c-Kit-positive hematopoietic cells. *J. Gene Med.*, **5**, 929-940 (2003)
- 17) Akiko ISHII-WATABE, Eriko UCHIDA, Akiko IWATA, Ryuji NAGATA, Kouei SATOH, Kejun FAN, Mitsuhiro MURATA, Hiroyuki MIZUGUCHI, Nana KAWASAKI, Toru KAWANISHI, Teruhide YAMAGUCHI, Takao HAYAKAWA: Detection of Replication-Competent Adenoviruses Spiked into Recombinant Adenovirus Vector Products by Infectivity-PCR, *Mol. Therapy*, **8** (6), 1009 - 1016 (2003)
- 18) Okada N., Masunaga Y., Okada Y., Iiyama S., Tsuda T., Matsubara A., Mori N., Mizuguchi H., Hayakawa T., Fujita T., Yamamoto A. Gene transduction efficiency and the state of maturation in mouse dendritic cells infected with conventional or RGD fiber-mutant adenovirus vectors. *Cancer Gene Ther.*, **10**, 421-431 (2003)
- 19) Kunihiro Tanaka, Shinichiro Towata, Kazuhiko Nakao, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Masami Niwa¹, Nobuko Ishii, Yuji Nagayama : Thyroid Cancer Immuno-Therapy with Retroviral and Adenoviral Vectors Expressing Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor and Interleukin-12 in a Rat Model, *Clinical Endocrinology*, **59**, 734-742 (2003)
- 20) Yuka Okada, Naoki Okada, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Tadanori Mayumi, Nobuyasu Mizuno : An investigation of adverse effects caused by the injection of high-dose TNF α -expressing adenovirus vector into established murine melanoma. *Gene Ther.* **10**, 700-705 (2003)
- 21) Fuminori SAKURAI, Hiroyuki MIZUGUCHI, Takao HAYAKAWA: Efficient gene transfer into human CD 34⁺ Cells by an Adenovirus type 35 vector, *Gene Ther.*, **10**, 1041-1048 (2003)
- 22) Naoya KOIZUMI, Hiroyuki MIZUGUCHI, Akiko Watabe-ISHII, Eriko UCHIDA, Naoki UTOGUCHI, Yoshiteru WATANABE, Takao HAYAKAWA: Generation of Fiber-Modified Adenovirus Vectors Containing Heterologous Peptides in both HI Loop and C-terminus of the Fiber Knob, *J. Gene Med.*, **5**, 267-276 (2003)
- 23) Zhi-Li Xu, Hiroyuki MIZUGUCHI, Tadanori MAYUMI, Takao HAYAKAWA : Woodchuck Hepatitis Virus Post-transcriptional Regulation Element Enhances Transgene Expression from Adenovirus Vectors, *Biochim Biophys Acta.*, **1621**, 266-271 (2003)
- 24) Zhi-Li Xu, Hiroyuki MIZUGUCHI, Tadanori MAYUMI, Takao HAYAKAWA: Regulated Gene Expression from Adenovirus Vectors: A Systematic Comparison of Various Inducible Systems, *Gene.*, **309**, 145-151 (2003)
- 25) R. Nakano, T. Nakagawa, S. Imazu, K. Katayama, H. Mizuguchi, T. Hayakawa, Y. Tsutsumi, S. Nakagawa, T. Mayumi: A novel T7 system utilizing mRNA coding for T7 RNA polymerase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **301**, 974-978 (2003)
- 26) Fuminori SAKURAI, Hiroyuki MIZUGUCHI, Teruhide YAMAGUCHI, Takao HAYAKAWA: Characterization of in vitro and in vivo gene transfer properties of adenovirus subtype 35 vector, *Mol. Ther.*, **8**, 813-821 (2003)
- 27) Hiroyuki MIZUGUCHI, Zhi-Li Xu, Fuminori

- Sakurai, Tadanori MAYUMI, Takao HAYAKAWA: Tight positive regulation of transgene expression by a single adenovirus vector containing both the rTA and tTS expression cassettes in separate genome regions. *Hum. Gene Ther.*, **14**, 1265-1277 (2003)
- 28) K., SATOH, Akiko IWATA, M., MURATA, M., HIKATA, Takao HAYAKAWA, Teruhide YAMAGUCHI; Virus Concentration Using Polyethyleneimine-conjugated Magnetic Beads for Improvement of Sensitivity in Nucleic Acid Amplification Tests. *J. Viol. Methods.*, **114**, 11-19 (2003)
- 29) Akiko IWATA, K., SATOH, M., MURATA, M., HIKATA, Takao HAYAKAWA, Teruhide YAMAGUCHI; Virus Concentration Using Sulfated Magnetic Beads to improve Sensitivity in Nucleic Acid Amplification Tests. *Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 1065-1069 (2003)
- 30) Koizumi N., Mizuguchi H., Sakurai F., Yamaguchi T., Watanabe Y., Hayakawa T. Reduction of natural adenovirus tropism to mouse liver by fiber-shaft exchange in combination with both CAR- and av integrin-binding ablation. *J. Virol.*, **77**, 13062-13072 (2003)
- 31) Abiru N., Sun F., Kawasaki E., Yamasaki H., Oshima K., Nagayama Y., Mizuguchi H., Hayakawa T., Miao D., Liu E., Eisenbarth G.S., Eguchi K. *In vivo* expression of B:9-23 peptide/I-A⁹⁷ complex may abrogate the inhibition of diabetes induced by RGD-fiber-mutant adenovirus in NOD mice. *Annals N.Y. Acad. Sci.* **1005**, 218-221 (2003)
- 32) Nana KAWASAKI, Noritaka HASHII, Satsuki ITOH, Masashi HYUGA, Toru KAWANISHI, Takao HAYAKAWA: Glycome analysis by oligosaccharide profiling using liquid chromatography/ mass spectrometry, *J. Electrophoresis*, **48**, 5-10 (2004)
- 33) Kazufumi Katayama, Koichiro Wada, Hiroyuki Miyoshi, Kozo Ohashi, Masashi Tachibana, Rie Furuki, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Atsushi Nakajima, Takashi Kadowaki, Yasuo Tsutsumi, Shinsaku Nakagawa, Yoshinori Kamisaki, Tadanori Mayumi ; RNA interfering approach for clarifying PPAR γ pathway using lentiviral vector expressing short hairpin RNA, *FEBS Lett* , **560**, 178-182 (2004)
- 34) Okada N., Gao J-Q., Sasaki A., Niwa M., Okada Y., Nakayama T., Yoshie O., Mizuguchi H., Hayakawa T., Fujita T., Yamamoto A., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S. Anti-tumor activity of chemokine is affected by both kinds of tumors and the activation state of the host's immune system: implications for chemokine-based cancer immunotherapy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **317**, 68-76 (2004)
- 35) Jun OKABE, Akiko EGUCHI, Renu WADHWA, Randeep RAKWAL, Rumi TSUKINOKI, Takao HAYAKAWA and Mahito NAKANISHI: Limited Capacity of the Nuclear Matrix to Bind Telomere Repeat Binding Factor TRF1 May Restrict the Proliferation of Mortal Human Fibroblasts, *Human Molecular Genetics*, **13**, 1-9 (2004)
- 36) Okada Y., Okada N., Mizuguchi H., Takahashi K., Hayakawa T., Mayumi T., Mizuno N. Optimization of antitumor efficacy and safety of *in vivo* cytokine gene therapy using RGD fiber-mutant adenovirus vector for preexisting murine melanoma. *Biochim. Biophys. Acta*, **1670**, 172-180 (2004)
- 37) Nakamura T., Peng K-W., Vongpunsawad S.,

- Harvey M., Mizuguchi H., Hayakawa T., Cattaneo R., Russell S.J. Antibody-targeted cell fusion, *Nature Biotech.*, 22, 331-336 (2004)
- 38) Gao J-Q, Alexandre L.S., Tsuda Y., Katayama K., Eto Y., Sekiguchi F., Mizuguchi H., Hayakawa T., Nakayama T., Yoshie O., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S. Tumor-suppressive activities by chemokines introduced into OV-HM cells using fiber-mutant adenovirus vectors. *Pharmazie.*, 59, 238-239 (2004)
- 39) Tetsu Kobayashi, Hiroshi Kawai, Takuo Suzuki, Toru Kawanishi, and Takao Hayakawa, Improved sensitivity of insulin in MALDI-TOF MS by premixing matrix CHCA with transferrin, *Rapid Communication in Mass Spectrometry* (in press)
- 40) Eto Y., Gao J-Q, Sekiguchi F., Kurachi S., Katayama K., Mizuguchi H., Hayakawa T., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S. Neutralizing antibody evasion ability of adenovirus vector induced by the bloconjugation of MPEG-SPA. *Biol. Pharm. Bull.*, (in press)
- 41) Masashi HYUGA, Satsuki ITO, Nana KAWASAKI, Miyako OHTA, Akiko ISHII, Sumiko HYUGA and Takao HAYAKAWA: Analysis of Site-Specific Glycosylation in Recombinant Human Follistatin Expressed In Chinese Hamster Ovary Cells, *Biologicals*, (in press)
- 42) Masashi HYUGA, Sumiko HYUGA, Nana KAWASAKI, Miyako OHTA, Satsuki ITOH, Shingo NIIMI, Toru KAWANISHI, Takao HAYAKAWA: Enhancement of hepatocyte growth factor-induced cell scattering in N-acetylglucosaminyltransferase III-transfected HepG2 cells, *Biol. Pharm. Bull.* (in press)
- 43) 早川 堯夫 : バイオ創薬におけるレギュラトリーサイエンスの新展開、*衛研報告*、121、128-143 (2003)
- 44) 早川 堯夫 : バイオテクノロジー応用医薬品、臨床試験、内藤周幸編、pp.155-179 (2003)、薬事日報社、東京
- 45) 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、*蛋白質核酸酵素*、48、1653-1662 (2003)
- 46) 水口裕之、早川 堯夫 : アデノウイルスベクター - 最近の進歩、*分子細胞治療*、2(3)、200-207 (2003)
- 47) 早川 堯夫、永田龍二: 細胞・組織加工医薬品・医療機器の品質管理、*Clinical Neuroscience* (in Japanese) 21(10)、1195-1197 (2003)
- 48) 早川 堯夫 : 品質 (Quality) 分野[バイオ]、*ICH 6 最前線 - 国際調和の新潮流-*、日刊薬業別冊、特別企画、pp.137-144 (2003)、(株)じほう、東京
- 49) 早川 堯夫、石井明子 : バイオ医薬品の現状と将来、*J.Integrated Med.*、14(2)、142-143 (2004)
- 50) 早川 堯夫 : 米国における新薬開発の動向、*大阪医薬品協会会報*、662、1-18 (2004)
- 51) 早川 堯夫 ; バイオ創薬の新たな展開と効果的な推進に向けて、*Drug Delivery System*、19(2)、18 (2004)
- 52) 水口裕之、早川 堯夫 ; アデノウイルスベクター : *Meblo*、21(4)、8-16 (2004)
- 53) 早川 堯夫、永田龍二: バイオリジクスの品質と安全性評価、*薬の安全性* (長尾 拓編)、pp.33-51 (2004) 南山堂、東京
- 54) Shishido T, Tasaki K, Takeishi Y, Takasaki S, Miyamoto T, Itoh M, Takahashi H, Kubota I, Ito T, Katano Y, Wakabayashi I, Tomoiike H. Chronic hypertriglyceridemia in young watanabe heritable hyperlipidemic rabbits impairs endothelial and medial smooth muscle

- function. *Life Sci.* 2004;74:1487-1501.
- 55) Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem*, 278: 64- 70, 2003.
- 56) Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Moriyama S, Takahashi A, Kawauchi H, Kangawa K. Peptide purification, complementary deoxyribonucleic acid (DNA) and genomic DNA cloning, and functional characterization of ghrelin in rainbow trout. *Endocrinology*, 144: 5215- 5226, 2003.
- 57) Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Kangawa K. Identification of tilapia ghrelin and its effects on growth hormone and prolactin release in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 135: 421- 429, 2003.
- 58) Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Kangawa K. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity. *J Endocrinol*, 176: 415- 423, 2003.
- 59) Minamino N., Tanaka J, Kuwahara H, Kihara T, Satomi Y, Matsubae M, Takao T. Determination of endogenous peptides in the porcine brain: Possible construction of Peptidome, a fact database for endogenous peptides. *J Chromatogr B*, 792: 33-48, 2003.
- 60) Kuwahara H, Tanaka-Isoyama J, Kihara T, Matsubae M, Matsui Y, Takao T, Isoyama M, Minamino N. Efficient data acquisition system for Peptidome database. Peptide Science 2003, Ed. by Ueki M, *The Japan Peptide Society*, p.465-466, 2004
- 61) 磯山 (田中) 純子、桑原大幹、木原孝洋、南野直人 : 生体内ペプチドのファクトデータベース「ペプチドーム」と蛋白質代謝のメタボローム : *炎症と免疫*, 11: 657-664, 2003.
- 62) 南野直人 : ペプチドーム解析, *ファルマシア*, 39: 1157-1162, 2003.
- 63) Tsuda, M., Shigemoto-Mogami, Y., Koizumi, S., Mizokoshi, A., Kohsaka, S., Michael W. Salter and Inoue, K.: P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature* 14; 778-83, 2003
- 64) Sasaki, Y., Hoshi, M., Akazawa, C., Nakamura, Y., Tsuzuki, H., Inoue, K. and Kohsaka, S.: Selective expression of Gi/o-coupled ATP receptor P2Y12 in microglia in rat brain. *Glia* 44: 242-250, 2003
- 65) Hirasawa, T., Wada, H., Kohsaka, S. and Uchino, S.: Inhibition of NMDA receptors induces delayed neuronal maturation and sustained proliferation of progenitor cells during neocortical development. *J. Neurosci. Res.* 74: 676-687, 2003
- 66) Ohsawa, K., Sasaki, Y., Kohsaka, S. and Imai, Y.: Macrophage/Microglia-specific protein Iba1 binds to fimbrin and enhances its actin-bundling activity. *J. Neurochem.* 88: 844-856, 2004
- 67) Nishikawa, K., Li, H., Kawamura, R., Osaka, H., Wang, Y.L., Hara, Y., Hirokawa, T., Manago, Y., Amano, T, Noda, M., Aoki, S. and Wada, K.: Alterations of structure and hydrolase activity of parkinsonism-associated human ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 variants., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 304, 176-183, 2003
- 68) Osaka, H., Wang, Y.L., Takada, K., Takizawa, S., Setsuie, R., Li, H., Sato, Y., Nishikawa, K., Sun, Y.J., Sakurai, M., Harada, T., Hara, Y., Kimura, I., Chiba, S., Namikawa, K., Kiyama, H., Noda, M., Aoki, S. and Wada, K.: Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 binds to and

- stabilizes monoubiquitin in neurons. *Hum. Mol. Genet.*, 12, 1945-1958, 2003
- 69) Harada, C., Harada, T., Quah, H.M.A., Maekawa, F., Yoshida, K., Ohno S., Wada, K., Parada, L.F., Tanaka, K.: Potential role of glial cell line-derived neurotrophic factor receptors in Muller glial cells during light-induced retinal degeneration. *Neuroscience*, 122, 229-235, 2003.
- 70) Harada, T., Harada, C., Wang, Y.L., Osaka, H., Amanai, K., Tanaka, K., Takizawa, K., Setsuie, R., Sakurai, M., Sato, Y., Noda, M. and Wada, K.: Role of ubiquitin carboxy terminal hydrolase-L1 in neural cell apoptosis induced by ischemic retinal injury in vivo. *Am. J. Pathol.*, 164, 59-64, 2004
- 71) Castegna, A., Thongboonkerd, V., Klein, J., Lynn, B., Wang, Y.L., Osaka, H., Wada, K. and Butterfield, D.A.: Proteomic Analysis of the Brain Proteins in the Gracile Axonal Dystrophy (gad) Mouse, a Syndrome That Emanates from Dysfunctional Ubiquitin Carboxyl-Terminal Hydrolase L-1, Reveals Oxidation of Key Proteins. *J. Neurochem.* (in press)
- 72) Komaki, H., Akanuma, J., Iwata, H., Takahashi, T., Mashima, Y., Nonaka, I. and Goto, Y.: A novel mtDNA C11777A mutation in Leigh syndrome. *Mitochondrion* 2: 293-304, 2003.
- 73) Fernandez-de-Cossio J, Gonzalez J, Satomi Y, Betancourt L, Ramos Y, Huerta V, Amaro A, Besada V, Padron G, Minamino N, Takao T: ISOTOPICA: a Tool for the Calculation and Viewing of Complex Isotopic Envelopes. accepted
- 74) Konishi A, Shimizu S, Hirota J, Takao T, Fan Y, Matsuoka Y, Zhang L, Yoneda Y, Fuji Y, Akoultchi AI, Tsujimoto Y: Involvement of histone H1.2 in apoptosis induced by DNA double-strand breaks. *Cell*, 114: 673-688, 2003.
- 75) Minamino N, Tanaka J, Kuwahara H, Kihara T, Satomi Y, Matsubae M, Takao T. Determination of endogenous peptides in the porcine brain: Possible construction of Peptidome, a fact database for endogenous peptides. *J Chromatogr B*, 792: 33-48, 2003.
- 76) Kuwahara H, Tanaka-Isoyama J, Kihara T, Matsubae M, Matsui Y, Takao T, Isoyama M, Minamino N. Efficient data acquisition system for Peptidome database. Peptide Science 2003, Ed. by Ueki M, *The Japan Peptide Society*, p.465-466, 2004
- 77) Takao T: Proteomics Research by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *The review of laser engineering*, 31: 13-15, 2003
- 78) Tsuchiya K, Kawano Y, Kojima T, Nagata K, Takao T, Okada M, Shinohara H, Maki K, Toyama-Sorimachi N, Miyasaka N, Watanabe M, Karasuyama H: Molecular cloning and characterization of TPP36 and its isoform TPP32, novel substrates of Abl tyrosine kinase. *FEBS Letters* 537: 203-209, 2003
- 79) Mizushima N, Kuma A, Kobayashi Y, Yamamoto A, Matsubae M, Takao T, Natsume T, Ohsumi Y, Yoshimori T: Mouse Apg16L, a novel WD-repeat protein, targets to the autophagic isolation membrane with the Apg12-Apg5 conjugate. *Journal of Cell Science* 16: 1679-1688, 2003
- 80) Oshiumi, H., M. Matsumoto, K. Funami, and T. Seya. 2003. TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3-mediated interferon-beta induction. *Nature Immunol.* 4: 161-167.
- 81) Uehori, J., S. Tsuji, M. Matsumoto, C. Kawata, T.

- Takeuchi, S. Akira, I. Azuma, K. Toyoshima, and T. Seya. 2003. Simultaneous blocking of human Toll-like receptors 2 and 4 suppresses myeloid dendritic cell activation induced by Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin peptidoglycan. *Infect. Immun.* 71: 4238-4249.
- 82) Oshiumi, H., K. Shida, M. Sasai, T. Fujita, M. Matsumoto, and T. Seya. 2003. TIR-containing adapter molecule (TICAM)-2, a bridging adapter recruiting to toll-like receptor 4 TICAM-1 that induces interferon-beta. *J. Biol. Chem.* 278: 49751-49762.
- 83) Matsumoto, M., K. Funami, H. Oshiumi, A. Yamamoto, and T. Seya. 2003. Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J. Immunol.* 171: 3154-3162.
- 84) Begum, N. A., M. Kobayashi, Y. Moriwaki, M. Matsumoto, I. Azuma, K. Toyoshima, and T. Seya. 2004. Mycobacterium bovis BCG cell wall-specific differentially expressed genes identified by differential display and cDNA subtraction in human macrophages. *Infect Immun.* 72(2):937-48.
- 85) Akazawa T., H. Masuda, Y. Saeki, M. Matsumoto, K. Takeda, S. Akira, I. Azuma, K. Toyoshima, and T. Seya. 2003. Adjuvant-mediated tumor regression and tumor-specific cytotoxic response are impaired in MyD88-deficient mice. *Cancer Res.* (64:757-764).
2. 学会発表
- 1) 川崎ナナ、伊藤さつき、蜂須賀暁子、橋井則貴、澤田純一、川西 徹、早川堯夫：2次元電気泳動及びLC/MSを用いたグライコーム解析。「糖鎖によるたんぱく質と分子複合体の機能調節」**第一回夏期シンポジウム**、2003年、浜松
- 2) 川崎ナナ：糖たんぱく質の質量分析。**横浜バイオテクノロジー懇談会平成15年度第1回リカレント講座「マススペクトロメトリーとプロテオミクスー蛋白質研究の最前線」**、2003年、横浜
- 3) 川崎ナナ、早川堯夫：LC/MSを用いた糖鎖のプロファイリングと構造解析。**第53回電気泳動学会シンポジウム**、2003年、大阪
- 4) Takao Hayakawa: New Challenging Areas of Biologicals and Related Issues, *The 6th International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, 2003, Osaka,
- 5) 小泉直也、増山 茜、近藤昌夫、藤井まき子、水口裕之、早川堯夫、中島恵美、宇都口直樹、渡辺善照；ヒト胎盤由来細胞へのアデノウイルスベクターによる遺伝子導入効率の検討；**日本薬劑学会第19年会**、2003年4月、京都
- 6) 高 建青、形山和史、Alexandre Learth Soares、水口裕之、早川堯夫、中山隆志、義江 修、堤康央、真弓忠範、中川晋作；ケモカイン及びサイトカイン発現アデノウイルスベクターの併用による癌遺伝子治療の最適化；**日本薬劑学会第19年会**、2003年4月、京都
- 7) 早川堯夫：バイオ医薬品における製造法変更の諸問題、**第9回動物細胞工学シンポジウム**、日本細胞動物工学会、2003年4月22日、東京工大、東京
- 8) Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa；Characterization of In Vivo Gene Transfer Property of an Adenovirus Serotype 35 Vector. *American Society of Gene Therapy, 6th Annual Meeting*, 2003. 6., Washington DC
- 9) Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa；Efficient Gene Transfer into

- Human CD 34⁺ Cells and Cultured Blood Cell Lines by an Adenovirus Serotype 35 Vector. *American Society of Gene Therapy, 6th Annual Meeting*, 2003. 6., Washington DC
- 10) 佐々木明德、岡田直貴、大久保米起、岡田裕香、中山隆志、義江 修、水口裕之、早川堯夫、中川晋作、真弓忠範、藤田卓也、山本 昌；樹状細胞免疫療法の有効性改善を目指したケモカイン発現ベクターの併用；**第 19 回日本 DDS 学会**、2003 年 6 月 19-20 日、京都
 - 11) 飯山さやか、岡田直貴、舛永安繁、西田雅也、岡田裕香、水口裕之、早川堯夫、中川晋作、真弓忠範、藤田卓也、山本 昌；IL-12 遺伝子を導入した樹状細胞の表現型と腫瘍免疫誘導能の解析；**第 19 回日本 DDS 学会**、2003 年 6 月 19-20 日、京都
 - 12) 細野哲司、水口裕之、石井(渡部)明子、山口照英、早川堯夫；siRNA 発現アデノウイルスベクターによる RNAi 効果に関する検討；**第 19 回日本 DDS 学会**、2003 年 6 月 19-20 日、京都
 - 13) 櫻井文教、水口裕之、山口照英、早川堯夫；35 型アデノウイルスベクターの in vivo 遺伝子発現及び体内動態に関する検討；**第 19 回日本 DDS 学会**、2003 年 6 月 19-20 日、京都
 - 14) 古木理恵、形山和史、立花雅史、大橋興三、堤康央、中川晋作、水口裕之、早川堯夫、真弓忠範；改良型アデノウイルスベクターを用いた胎盤への遺伝子導入；**第 19 回日本 DDS 学会**、2003 年 6 月 19-20 日、京都
 - 15) 衛藤佑介、関口文子、高建青、形山和史、堤康央、櫻井文教、水口裕之、早川堯夫、真弓忠範、中川晋作；遺伝子治療の最適化を目指したポリエチレングリコール修飾アデノウイルスベクターの血中滞留性に関する検討；**第 19 回日本 DDS 学会**、2003 年 6 月 19-20 日、京都
 - 16) 小林 哲、河合 洋、鈴木琢雄、川西 徹、早川堯夫；Protein signal enhancement in MALDI-TOF MS、**第 52 回質量分析総合討論会**、2003、6、名古屋
 - 17) 早川堯夫；生物由来製品、**第 4 1 回 JAPIC 講演会**、2003 年 7 月 28 日、薬学会館、東京
 - 18) Kazufumi Katayama, Koichiro Wada, Atsushi Nakajima, Sachiko Yoshida, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Masashi Tachibana, Shinsaku Nakagawa, Takashi Kadowaki, Yoshinori Kamisaki, Richard S. Blumberg, Tadanori Mayumi；A novel direction for gene therapy of inflammatory bowel disease (IBD).；**30th Annual Meeting and Exposition, Controlled Release Society, Glasgow**, 2003. 7., Scotland
 - 19) Zhi-Li Xu, Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Tadanori Mayumi, Takao Hayakawa；Improved tetracycline-inducible regulation system by a single self-containing adenovirus vector；**第 9 回日本遺伝子治療学会**；2003 年 7 月 18-20 日、東京
 - 20) Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa；Characterization of In vivo Gene Transfer Property of an Adenovirus Serotype 35 Vector；**第 9 回日本遺伝子治療学会**；2003 年 7 月 18-20 日、東京
 - 21) Naoya Koizumi, Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Yoshiteru Watanabe, Takao Hayakawa；Reduced natural adenovirus (Ad) transduction to mouse liver by Ad vectors containing CAR-binding ablated Ad type 5 fiber knob, Ad type 35 fiber shaft, and Ad type 5 penton base with the deletion of RGD motif；**第 9 回日本遺伝子治療学会**；2003 年 7 月 18-20 日、東京
 - 22) Akiko Ishii-Watabe, Eriko Uchida, Akiko Iwata, Kouei Satoh, Kejun Fan, Mitsuhiro Murata, Hiroyuki Mizuguchi, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, Teruhide Yamaguchi, Takao

- Hayakawa ; Detection of Replication-Competent Adenoviruses Spiked in Recombinant Adenovirus Vector Products by Infectivity-PCR Combined with Glass Beads-Based DNA Extraction ; **第9回日本遺伝子治療学会** ; 2003年7月18-20日、東京
- 23) Jian-Qing Gao, Yasuhiro Tsuda, Kazufumi Katayama, Takashi Nakayama, Yutaka Hatanaka, Yoichi Tani, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Osamu Yoshie, Yasuo Tsutsumi, Tadanori Mayumi, Shinsaku Nakagawa ; Anti-tumor effect by a CC chemokine, CCL27, introduces into tumor cells through a recombinant adenovirus vector. ; **第9回日本遺伝子治療学会**; 2003年7月18-20日、東京
- 24) 新見伸吾、押澤 正、山口照英、原島 瑞、関泰一郎、有賀豊彦、川西 徹、早川堯夫 : ラット肝細胞におけるアネキシンIIIの特異的な発現、**第10回肝細胞研究会**、2003年7月、東京
- 25) 原島 瑞、新見伸吾、長岡陽子、関泰一郎、有賀豊彦、川西 徹、早川堯夫 : 初代培養ラット肝細胞においてプロテアソーム特異的阻害剤であるラクタシスチンはグルココルチコイド依存的なチロシンアミノトランスフェラーゼの誘導を阻害する、**第10回肝細胞研究会**、2003年7月、東京
- 26) Kanayasu-Toyoda, T., Oshizawa, T., Suzuki, T., Uchida, E., Hayakawa, T., Yamaguchi, T. Role of PKC ζ on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils. **The 6th World Congress on Inflammation.**, 2003. 8. 5 , Vancouver, Canada
- 27) 早川堯夫、水口裕之 ; 創薬研究に役立つ新規アデノウイルスベクター ; **創薬薬理フォーラム第11回シンポジウム** ; 2003年9月4-5日、東京
- 28) 早川堯夫 : バイオロジクスのトランスレーショナルリサーチにおける基本的要素、**創薬薬理フォーラム第11回シンポジウム**、2003年9月4日、東京
- 29) 水口裕之、櫻井文教、渡辺善照、早川堯夫 ; 感染能を欠損させたアデノウイルスベクターの開発 - ターゲティングベクターの開発に向けて - ; **第62回日本癌学会総会** ; 2003年9月25-27日、名古屋
- 30) 萩山裕之、上阪 等、水口裕之、早川堯夫、宮坂信之 ; アデノウイルスベクター発現カセット改変による滑膜線維芽細胞における導入遺伝子の発現効率の向上 ; **第31回日本臨床免疫学会総会** ; 2003年10月9-10日、東京
- 31) Noritaka Hashii, Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Masashi Hyuga, Toru Mawanishi, Takao Hayakawa: Oligosaccharide profiling of cell membrane by LC/MS. ; **第76回日本生化学会大会** ; 2003年10月15-18日、横浜
- 32) Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Akiko Hachisuka, Reiko Teshima, Jun-ichi Sawada, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Analysis of IgLON family protein in rat brain by gel electrophoresis and capillary LC/MS. ; **第76回日本生化学会大会** ; 2003年10月15-18日、横浜
- 33) Kayoko Takagi, Reiko Teshima, Haruyo Okunuki, Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa, Jun-ichi Sawada: Digestive stability and allergenic potential of chicken egg white ovomucoid and their pepsin-fragments. ; **第76回日本生化学会大会** ; 2003年10月15-18日、横浜
- 34) Hiroyuki Mizuguchi , Zhi-Li Xu , Fuminori Sakurai , Teruhide Yamaguchi , Tadanori Mayumi , Takao Hayakawa: Development of capsid-modified single adenovirus vectors displaying tight tetracycline-inducible gene expression and broader tropism ; **第76回日本生化学会大会** ; 2003年10月15-18日、横浜

- 35) Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Jin Yuan, Satsuki Itoh, Akira Harazono, Akiko Ishii, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Isotope tag method for quantitative oligosaccharide analyses by LC/MS. ; **第76回日本生化学会大会**; 2003年10月15-18日、横浜
- 36) Akiko Ishii-Watabe, Edwin Chang, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa, John Cooke: Transcriptional profiling in nicotine-treated human microvascular endothelial cells. ; **第76回日本生化学会大会**; 2003年10月15-18日、横浜
- 37) Niimi S, Oshizawa T, Yamaguchi T, Harashima M, Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T: Specific expression of annexin III in rat small hepatocytes. ; **第76回日本生化学会大会**; 2003年10月15-18日、横浜
- 38) Harashima M, Nagaoka Y, Niimi S, Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T: The mechanism of inhibition of dexamethasone-dependent induction of tyrosine aminotransferase activity by lactacystin, a proteasome specific inhibitor. ; **第76回日本生化学会大会**; 2003年10月15-18日、横浜
- 39) Kanayasu-Toyoda, T., Oshizawa, T., Suzuki, T., Uchida, E., Hayakawa, T., Yamaguchi, T Role of PKC ζ on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils. ; **第76回日本生化学会大会**; 2003年10月15-18日、横浜
- 40) 水口裕之、櫻井文教、山口照英、早川堯夫; 35型アデノウイルスを基本骨格としたベクターの開発とその遺伝子導入特性; **第51回日本ウイルス学会学術集會・總會**; 2003年10月27-29日、京都
- 41) 早川堯夫: 米国における新薬開発の動向、**第3回創薬基盤技術の開発に関するシンポジウム**、2003年11月18日、大阪
- 42) 有川稔多加、豊田淑江、山口照英、小村健、早川堯夫、森田育男; 血管内皮細胞化に伴う各種コネクシンの発現変化、**第24回日本炎症・再生医学会**、2003. 11. 26、京都
- 43) 岡田裕香、鈴木加恵、田中早紀、高橋幸一、水野亘恭、岡田直貴、水口裕之、早川堯夫、真弓忠範; 改良型アデノウイルスベクターを用いたメラノーマ遺伝子治療の最適化; **第53回日本薬学会近畿支部總會・大会**; 2003年11月、大阪
- 44) 早川堯夫: バイオリジクスのウイルス安全性、**第18回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー**、HS財団、2004年1月20日、東京
- 45) 川崎ナナ: 糖鎖関連医薬品の現状と課題、**第3回糖鎖科学名古屋拠点研究会**、2004年、名古屋
- 46) 早川堯夫: バイオリジクスの進展に向けて、**バイオリジクスフォーラム第1回学術シンポジウム**、2004年2月13日、東京
- 47) 櫻井文教、水口裕之、川端健二、佐々木朋美、福島敬、山口照英、早川堯夫; 35型アデノウイルスベクターによる遺伝子導入におけるCD46の関与; **第8回遺伝子医療研究会**; 2004年3月6日、大阪
- 48) 早川堯夫: 国際化時代におけるバイオ創薬の推進とレギュラトリーサイエンス、**日本薬学会第124年会**、2004年3月29日、大阪
- 49) 橋井則貴、川崎ナナ、伊藤さつき、日向昌司、川西 徹、早川堯夫: 糖鎖プロファイリングを用いた差異解析に基づくグリコーム解析法の開発、**日本薬学会第124年会**; 2004年3月、大阪
- 50) 伊藤さつき、川崎ナナ、橋井則貴、蜂須賀暁子、手島玲子、澤田純一、川西 徹、早川堯夫: 2次元電気泳動とLC/MSを用いたラット脳内GPIアンカー型たんぱく質の解析、**日本薬学会第124年会**; 2004年3月、大阪
- 51) 原園 景、川崎ナナ、川西 徹、早川堯夫: LC/MS/MSによるapolipoprotein B100の部位

- 特異的糖鎖構造解析。 *日本薬学会第 124 年会*、; 2004 年 3 月、大阪
- 52) 石井明子、内田恵理子、岩田明子、永田龍二、佐藤功栄、范 可君、村田充弘、水口裕之、川崎ナナ、川西 徹、山口照英、早川堯夫; アデノウイルスベクターに混入する増殖性アデノウイルスの迅速高感度検出法の開発; *日本薬学会第 124 年会*、; 2004 年 3 月、大阪
- 53) 小泉直也、水口裕之、櫻井文教、近藤昌夫、山口照英、渡辺善照、早川堯夫; CAR、インテグリン、ヘパラン硫酸との結合性を除去したアデノウイルスベクターの体内動態; *日本薬学会第 124 年会*、; 2004 年 3 月、大阪
- 54) 櫻井文教、水口裕之、川端健二、佐々木朋美、福島敬、山口照英、早川堯夫; 35 型アデノウイルスベクターによる遺伝子導入における CD46 の関与; *日本薬学会第 124 年会*、; 2004 年 3 月、大阪
- 55) 細野哲司、水口裕之、福島敬、佐々木朋美、石井(渡部)明子、形山和史、中川晋作、山口照英、真弓忠範、早川堯夫; siRNA 発現アデノウイルスベクターによる RNAi 効果に関する検討; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 56) 平田圭一、宇都口直樹、松山淳史、水口裕之、早川堯夫、丸山一雄; トランスフェリン修飾リポソームを用いたアデノウイルスベクターの感染能制御に関する基礎検討; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 57) 岡田裕香、岡田直貴、水口裕之、鈴木加恵、田中早紀、高橋幸一、早川堯夫、真弓忠範、水野亘恭; 腫瘍特異的プロモーターを搭載した RGD ファイバーミュータントアデノウイルスベクターのメラノーマ自殺遺伝子治療における有用性; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 58) 井上恵美子、岡田直貴、飯山さやか、松井あや、岡田裕香、水口裕之、早川堯夫、中川晋作、真弓忠範、藤田卓也、山本 昌; 抗原遺伝子と IL-12 遺伝子を共導入した樹状細胞の T 細胞感作・活性化能; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 59) 森 直樹、岡田直貴、是友良介、岡田裕香、中山隆志、義江 修、水口裕之、早川堯夫、中川晋作、真弓忠範、藤田卓也、山本 昌; リンパ組織移行性を増強した樹状細胞ワクチンの創製; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 60) 佐々木明德、岡田直貴、丹羽正和、岡田裕香、中山隆志、義江 修、畑中 豊、谷 洋一、水口裕之、早川堯夫、中川晋作、真弓忠範、藤田卓也、山本 昌; ケモカイン発現ベクターの腫瘍内投与を併用した樹状細胞ワクチンの抗腫瘍効果; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 61) 大橋興三、形山和史、和田孝一郎、三好浩之、水口裕之、立花雅史、古木理恵、中島 淳、門脇孝、堤康央、中川晋作、早川堯夫、真弓忠範; shRNA 発現レンチウイルスベクターを用いた PPAR・ノックダウン法の確立; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 62) 形山和史、三好浩之、水口裕之、立花雅史、大橋興三、古木理恵、川端健二、堤康央、中川晋作、早川堯夫、真弓忠範; shRNA 発現レンチウイルスベクターの作製と機能評価; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 63) 衛藤佑介、倉知慎之輔、高建青、形山和史、堤康央、水口裕之、早川堯夫、中川晋作、真弓忠範; ポリエチレングリコール修飾アデノウイルスベクターの体内動態に関する検討; *日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 64) 小林 哲、河合 洋、鈴木琢雄、川西 徹、早川堯夫; MALDI-TOF MS におけるたんぱく質のシグナル増強、*日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 65) 川崎ナナ; 糖たんぱく質性医薬品の質量分析、*日本薬学会第 124 年会*、2004 年 3 月、大阪
- 66) 桑原大幹、田中純子、木原孝洋、松八重雅美、

- 高尾敏文、磯山正治、南野直人：ペプチドームデータベースの効率的な構築法について、第40回日本ペプチド討論会、平成15年10月、千葉
- 67) Kohsaka, S., Ohsawa, K., Sasaki, Y., Honda, S., Imai, Y. and Inoue, K.: Activation of Microglia by Extracellular ATP through Gi/o-coupled P2Y12 receptor. *The 6th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry*, Hong Kong, 2.4-7, 2004.
- 68) Wada, K.: Pathophysiological role of ubiquitin C-terminal hydrolase L1 in neurodegeneration. Symposium on the Ubiquitin-proteasome System and Neurological Diseases, *46th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry*, Niigata, 9.26, 2003
- 69) Kaplan, M.P., Wood, M.A., Kurihara, L.J., Wada, K., Sekiguchi, M., Takada, K., Abel, T., A role for ubiquitin C-terminal hydrolase 3 (UCH-L3) in learning and memory, *33rd Annual Meeting of Society for Neuroscience*, New Orleans, LA, 11.10, 2003.
- 70) Goto, Y., H, Mimaki, M., Sudo, A., Akanuma, J., Komaki, H., Nishino, I., Nonaka, I.: Overview of 200 patients. *5th Japanese-French Workshop on Muscular Dystrophies*, Tokyo, 6.13, 2003
- 71) 大澤圭子、高坂新一：ATPのミクログリアへの多彩な作用 第46回日本神経化学会大会シンポジウム「神経系における細胞外ATP機能の多様性」、新潟、9.24, 2003
- 72) 高坂新一：ニューロン機能を制御するミクログリア 第76回日本生化学会大会 大会教育セミナー、横浜、10.16, 2003
- 73) 和田圭司：精神神経難病の克服と脳の健やかさをめざして、九州大学生体防御医学研究所セミナー、7.11, 2003
- 74) 和田圭司：精神神経疾患と生命工学的創薬、国立精神・神経センター神経研究所・早稲田大学大学院理工学研究科合同シンポジウム「システムとしての脳のはたらきを探る」、10.1, 2003
- 75) 和田圭司：パーキンソン病と脱ユビキチン化酵素 UCH-L1、慶應ニューロサイエンス研究会、11.22, 2003
- 76) 後藤雄一：ミトコンドリアびよの治療、第46回日本小児神経学会総会イブニングトーク、5.23, 2003
- 77) 里見佳典、藤田哲史、田村義典、高尾敏文：Peptide Mass Fingerprinting by Combination of Gas-phase Edman Degradation and MALDI-MS. *第51回質量分析総合討論会*（平成15年5月、筑波）
- 78) Satomi Y, Hirota J, Takao T: Specific Fragmentation on an N,N,N-Trimethyllysine in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *51st ASMS Conference on Mass Spectrometry & Allied Topics*, Montreal, 2003
- 79) Yoshinari K, Ohtake A, Sano A, Kobayashi K, Nagai S, Satomi Y, Takao T: Application of a Molecular Orbital Model for Interpreting Fragmentation Profile of Peptides in MS/MS. *51st ASMS Conference on Mass Spectrometry & Allied Topics*, Montreal, 2003
- 80) Fukuda H, Shindo M, Nonaka T, Fujita S, Tamura Y, Takao T: Improved Sensitivity in Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry by Using a Ceramic Carbon Plate. *51st ASMS Conference on Mass Spectrometry & Allied Topics*, Montreal, 2003
- 81) Satomi Y, Matsubae M, Fernandez-de-Cossio J, Takao T: Mass Spectrometry for Peptidomic Analysis. *第76回日本生化学会大会*（平成15年10月、横浜）

- 82) 瀬谷司 : Toll-like receptor adapters participating in selection of pathways for anti-viral type interferon induction (シンポジウム) , **第 33 回日本免疫学会総会**, 2003.
- 83) 松本美佐子 : ヒト樹状細胞における TLR3 の発現と機能解析, **第 33 回日本免疫学会総会**, 2003.
- 84) 舟見健児 : TLR3 の細胞内局在, 及び機能部位解析, **第 33 回日本免疫学会総会**, 2003.
- 85) 上堀淳二 : 樹状細胞成熟化におけるアシル化 MDP の作用機構の解析, **第 33 回日本免疫学会総会**, 2003.
- 86) 石井一夫 : BCG-CWS 刺激による樹状細胞の発現プロファイル解析, **第 33 回日本免疫学会総会**, 2003.
- 87) 笹井美和 : Toll-like receptor 3 のアダプター分子 TICAM-1 に結合する分子の単離とその機能解析, **第 33 回日本免疫学会総会**, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

- 1) 友池仁暢、大和田一雄、伊藤恒賢、
遺伝性食後高中性脂肪血症家兔、
特許第 3 3 4 5 6 4 3 号
- 2) Hitonobu Tomoike, Kazuo Owada, Tsunetaka Ito.
Hereditary post prandial hyper-triglyceridemic
rabbit model. US Patent No. 6, 515, 196 B2

2. 実用新案登録

特になし

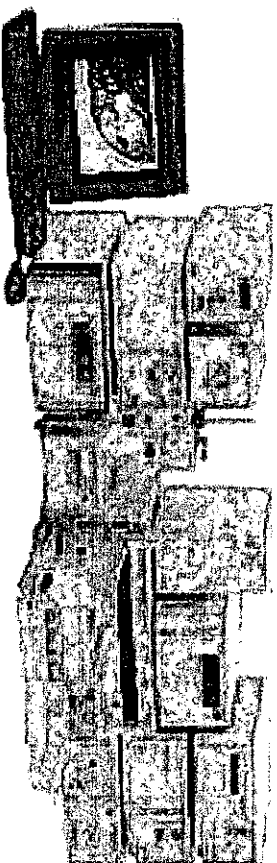
3. その他

特になし

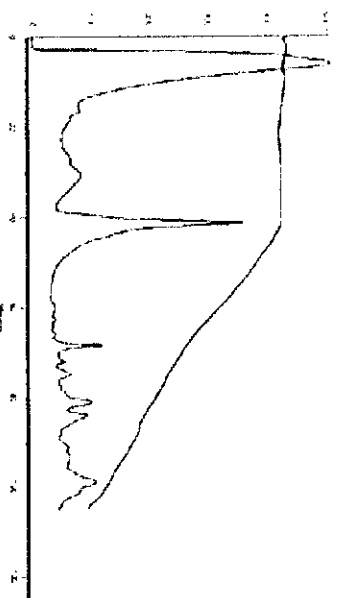
Fig. 1 二次元電気泳動の代替としての2次元LCによるタンパクの分離

ProteoSep Technology

タンパク質 2D-LC 解析システム (MS機器)

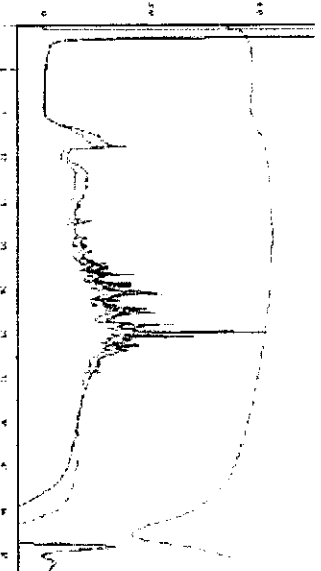


Chromato Focusing
(or Gel Filtration, SCX)



一次元目

RP Chromatography

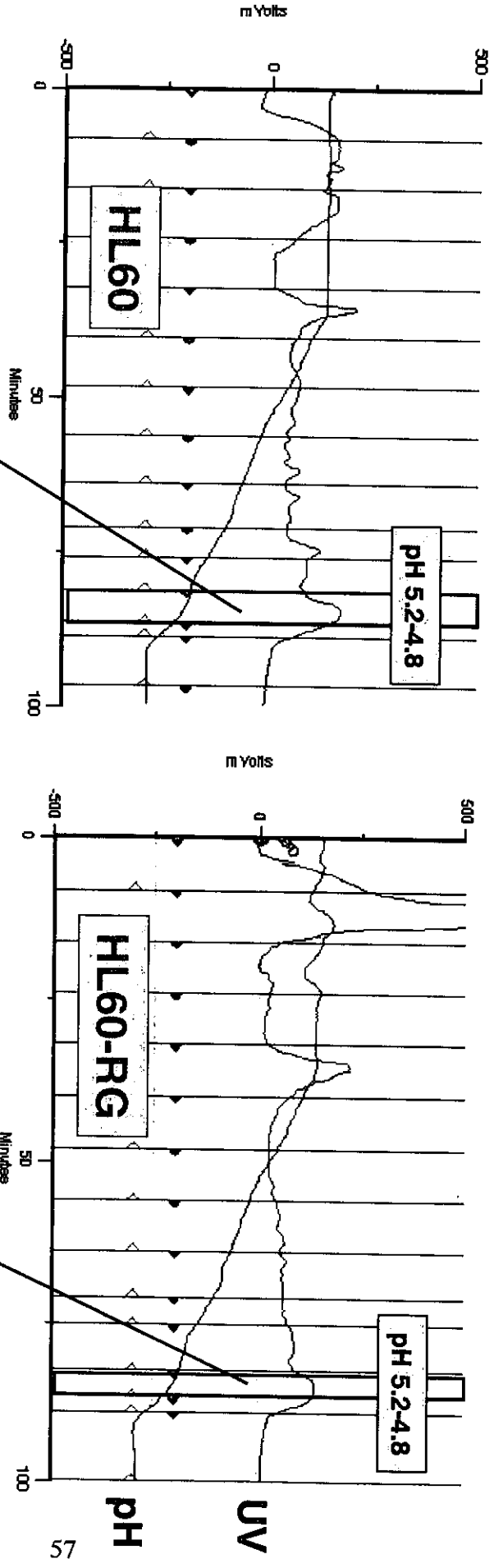


二次元目

UV or 蛍光
Detection

Fig. 2 2次元液体クロマトグラフィーを利用した細胞破碎液タンパク質の分離

(1次元目 ピクロストファーカシングによる分離)



(2次元目 逆相クロマトによる分離)

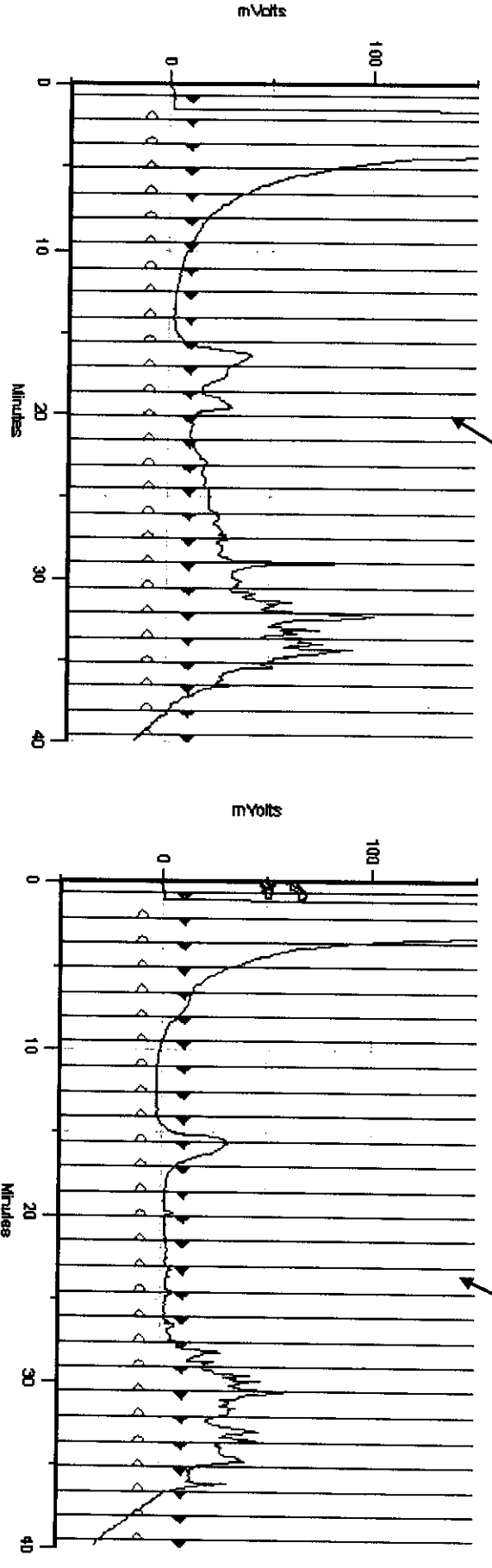


Fig. 3 デイアミンシナル蛍光ラベル化による定量比較

