

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

目 次

課題番号

20030933A KH51041	臍帯血を用いた移植・再生医療に関する研究	梨井 康 …… 1
934A KH51042	組換えDNA食品遺伝子産物の慢性経口毒性評価モデルの確立	廣瀬 雅雄 …… 5
935A KH51043	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦 善治 …… 10
936A KH51044	細胞内脂質輸送系に着目した血清脂質改善薬の開発のための基礎的研究	最上 知子 …… 16
KH51045	粘膜インフルエンザワクチンの実用化に関する研究	佐多 徹太郎 …… 21
937A KH51046	日本人糖尿病感受性遺伝子に基づく脂肪細胞を分子標的とした糖尿病・肥満の予防及び治療薬の開発	門脇 孝 …… 24
938A KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチン開発のための基礎研究	竹森 利忠 …… 27
939A KH51048	ノーウォークウイルスの超高感度核酸定量システム、及びベッドサイド抗原検出システムの開発	武田 直和 …… 31
940A KH51049	ワクチン創製の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島 朝人 …… 38
941A KH51050	食品および環境中の食中毒原因菌の病原因子に対する免疫学的高感度検出法に関する研究	五十君 静信 …… 43
942A KH51051	安全なアジュバントを用いた粘膜ワクチンの開発に関する研究	後藤 紀久 …… 48
943A KH51052	リポソーム表面結合型抗原のアレルギー予防・治療への応用に関する研究	内田 哲也 …… 55
944A KH51053	肺炎球菌感染症の標準的抗体価測定方法の確立に関する研究	岡部 信彦 …… 61
945A KH51054	PPAR α をターゲットとした生活習慣病予防薬の開発	片山 茂裕 …… 64
946A KH51055	感染症領域における先端的遺伝子診断技術の開発に関する研究	薄井 貢 …… 68
947A KH51056	乳幼児下痢症の原因ウイルス検出法に関する研究	西尾 治 …… 71
948A KH51057	可溶性ウイルス受容体等によるウイルス吸着阻止を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口 文広 …… 77
949A KH51058	EPA・DHA含有エステル交換構造脂質の体脂肪蓄積抑制効果に関する研究	斎藤 衛郎 …… 86
950A KH51059	エネルギー消費調節機構に立脚した生活習慣病予防薬に関する基礎研究	大坂 寿雅 …… 89
951A KH51060	遺伝子解析によるヒトエンテロウイルス同定の標準化	清水 博之 …… 93
952A		

バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発

所属 大阪大学微生物病研究所

研究者 松浦 善治

研究要旨 HCV の感染機構を解析し、ヘパリン、成長因子、そして、ヒト血清成分が感染に関与することが示された。また、HCV 蛋白質を発現する高度弱毒化ワクチニアウイルスの免疫誘導能を評価するとともに、ポリメラーゼ阻害剤のスクリーニングを行った。

分担研究者

(1) 国立感染症研究所ウイルス第二部

鈴木 哲朗

(2) 大阪大学微生物病研究所

森石 恆司

(3) 三菱ウェルファーマ株式会社創薬第四研究所

新井 正明

A. 研究目的

C型肝炎は今や我が国の国民病であり、キャリアの発症予防やウイルスの積極的な排除法の確立が強く望まれている。我々はこれまでに、細胞培養のないC型肝炎ウイルス (HCV) の感染の初期過程を解析するため、HCV のエンベロープ蛋白を粒子表面に被ったシュードタイプウイルス及びレポーター遺伝子の活性を指標とする高感度な細胞融合検出系を構築した。これらのアッセイ系により、HCV は蛋白リセプターを介したエンドサイトーシスによって細胞内へ侵入し、それには二つのエンベロープ蛋白が必須であることを明らかにした。また、これまでHCVのリセプターではないかと考えられていたCD81以外の蛋白リセプターの存在が示唆された。本研究では、これらのアッセイ系を用いて感染の第一段階である肝細胞への吸着に関する細胞膜受容体を解明し、HCV感染の初期過程を分子レベルで明らかにすることを目的とする。

また、HCV コア蛋白質はウイルス粒子を構成するだけでなく、宿主細胞の機能を多様に調節して、脂肪肝や肝細胞癌の発症にも深く関与している。コア蛋白質は小胞体に局在し、C末端の疎水性領域が解裂されると核へ移行して分解される。我々はこれまでに、コア蛋白質がプロテアソームアクチベーターの一つである、PA28γと特異的に結合することにより、核内で分解されることを報告している。しかしながら、HCV コア蛋白質のプロセッシング機構に関しては不明な点が多い。そこで、コア蛋白質の成熟機構を詳細に解析し、プロセスされたコア蛋白質の細胞内局在と、その安定性を解析する。本研究はこれらのアッセイ系を用いて、感染の第一段階である宿主細胞への吸着侵入に関する受容体を解明し、HCV感染の初期過程を分子レベルで明らかにするとともに、その成績を基にした治療用ワクチンの開発と、HCVの増殖を阻害する薬剤の検索を目的とする。

B. 研究方法

1. HCV のエントリーリセプターの解析

これまでの成績から、ヒト肝癌由来の HepG2 細胞表面に HCV シュードタイプウイルスの感染を許容する何らかの蛋白質性のエントリーリセプター分子が存在することが推測される。そこで、HepG2 細胞からリセプター分子の発現クローニングを進める。

2. HCV コア蛋白質の核内移行と安定性の解析

コア蛋白質と結合する宿主因子として、プロテアソーム調節蛋白質 PA28 γ を単離した。酵母 2 ハイブリット法で単離したクローンには多くの偽陽性が含まれ、確実な結合を証明するためには、哺乳動物細胞内での局在の一致ならびに正常な発現レベルでの相互作用を検証する。

3. HCV コア蛋白質の成熟機構の解析

HCV のコア蛋白質は、前駆体蛋白質からシグナルペプチダーゼ (SP) により切り出され、さらにその C 末端膜貫通領域が切断されて、成熟型のコア蛋白質にプロセスされると考えられている。最近、蛋白質のシグナル配列が SP によって切断された後、そのシグナルペプチドをさらに小胞体の膜内で切断する膜内蛋白質分解酵素、シグナルペプチドペプチダーゼ (SPP) の存在が明らかにされた。HCV コア蛋白質の C 末端膜貫通領域の切断にも SPP が関与しているものと考えられており、SPP と HCV コア蛋白質の相互作用と SPP によるコア蛋白質の C 末端膜貫通領域のプロセスに必須な領域を解析した。

4. ワクチニアウイルスベクターの構築

ワクチニアウイルスのプロモーター mH5 の下流に HCV 遺伝子の全部又は一部が挿入されたトランスファーベクターを作成し、homologous recombination の手法を用いて DI_s に導入し、目的蛋白質の発現の確認を行った。また、これらの組換え DI_s の液性及び細胞性誘導能の検討を行った。液性免疫は組換えバキュロウイルスを用いて発現させた HCV 蛋白質を抗原として ELISA 法により、細胞性免疫は overlapping peptides を用いて ⁵¹Cr release による CTL assay 及び ELISPOT assay により測定した。

5. HCV 増殖阻害薬のスクリーニング

組換えバキュロウイルスによる HCV (Okayama 株) NS5B ポリメラーゼの発現精製、精製酵素を用いたスクリーニング系の構築を完了し、ポリメラーゼの基質であるヌクレオチドの類似体のスクリーニング及び得られたリード化合物からの合成展開を行った。結果として、ウリジン誘導体であり、

ポリヌクレオチド鎖合成停止化合物 (chain terminator) でもある compound-1 (D 体) と、その鏡像体である compound-2 (L 体) の 3 リン酸化体 (以下それぞれ compound-1-TP、compound-2-TP) が酵素スクリーニング系でそれぞれの IC₅₀ が 0.3 μ M と 3 μ M であることを見出した。通常生体内で用いられているヌクレオチドは D 体であり、L 体は、抗 HIV・HBV 剤である 3TC (ラミブジン) の例のように、選択毒性の面で有利であることが知られている。得られた化合物について、ヒト細胞株由来 RNA ポリメラーゼとの選択性試験、ヒト T 細胞由来細胞株である MT-2 細胞を用いた HCV 感染増殖阻害試験を行った。

C. 研究結果

1) HCV シュードタイプウイルスの吸着はヘパリンによって阻害されたが、逆に感染は増強された。このことはシュードタイプウイルスの吸着には硫酸多糖類が重要であるため、ヘパリン添加によって結合阻害が観察されるが、それ以降の膜融合や侵入過程でエンベロープ蛋白質の活性発現をヘパリンが増強している可能性が示唆された。各種動物血清のシュードタイプウイルスの感染における影響を調べたところ、ヒト血清がシュードタイプウイルスの感染性を特異的に増強することが示された。

2) HCV コア蛋白質は前駆蛋白質として発現された後、膜内切断酵素で切断され、成熟蛋白質として小胞体に留まり、一部は核へ移行することが明らかにされている。HCV コア蛋白質の宿主内標的蛋白質候補としてプロテアソームの活性化蛋白質である PA28 γ を同定し、PA28 γ が HCV コア蛋白質の安定性と細胞内局在を調節していることを明らかにした。また、コア遺伝子のフレームシフト産物である、F 蛋白質もプロテアソームによって分解を受けるものの、PA28 γ とは結合しないことから、PA28 γ とコア蛋白質の相互作用の特異性が示唆された。

3) ヒト肝臓より SPP 遺伝子をクローニングし、活性中心 (219 番目 Asp) を失活させた変異体 (SPP

D219A) を作製した。また、エピトープタグを付加した HCV コア蛋白質とその変異体を準備した。これらを培養細胞に発現させ、イムノブロット法と免疫沈降法により、コア蛋白質のプロセッシングならびに両者の相互作用を解析した。また、コア蛋白質と E1 蛋白質をシスに発現させ、E1 蛋白質の糖鎖付加の有無によって、コア蛋白質 C 末端膜貫通領域のシグナル活性を評価した。培養細胞に SPP と HCV コア蛋白質を発現させたところ、SPP とコア蛋白質は共沈し、さらに、SPP D219A はコア蛋白質のプロセッシングを抑制したことから、コア蛋白質は SPP と結合してプロセスを受けることを確認した。コア蛋白質の変異体を用いた解析から、SPP の切断に必須な領域は既報の成績と異なっており、コア蛋白質の C 末端膜貫通領域のみならず、その上流の少なくとも 3 つのアミノ酸が重要であることが示された。また、その領域はコア蛋白質の小胞体局在にも関与していた。さらに、SPP でプロセスされないコア蛋白質の変異体でも、E1 蛋白質のシグナル活性を保持していたことから、SPP によるプロセスとシグナル活性に必須な領域は異なることが示された。

4) DI 株に HCV の core-E1-E2 領域、NS3 領域、NS5A 領域及び全長に相当する遺伝子領域を組み込んだ組換え DI を作成し、それぞれの組換え DI を哺乳類細胞に感染させると目的蛋白が発現されることを確認した。core-E1-E2 領域を発現する組換え DI をマウスに投与した場合、core、E2 いずれの蛋白に対する抗体も検出されることから、組換え DI の投与により目的の組換え蛋白に対する液性免疫を誘導できることが確認された。また、core-E1-E2 領域及び NS5A 領域を発現する組換え DI を投与した場合、⁵¹Cr release による CTL assay 及び ELISPOT assay により目的蛋白に対する細胞性免疫が誘導されることを確認することができた。

5) ヒト肝癌細胞株である Huh7 細胞をセルスクレーパーで回収・遠心し、NP-40 を 0.5% 含む Lysis バッファーで懸濁後、ダウンスホモジナイザーで破碎した。続いて Lysate 中の核のみを沈殿しうる

低速で遠心し、PBS(-)で洗浄した。得られた核に各 10 μ M のヌクレオチド及び α -³²P-UTP を添加して 10 分間 37°C でインキュベート後、RNA を精製・抽出した。精製 RNA 溶液を DE81 ペーパーにスポットして乾燥後、リン酸バッファーで洗浄して、液体シンチレーターで取り込まれた ³²P をカウントした。陰性対照としては、RNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン D を NTP と同時に添加したものを用いた。結果として、核中の RNA ポリメラーゼによって RNA 合成が開始されること、及びその反応がアクチノマイシン D ではほぼ完全に阻害されることを確認した。この調整細胞核を用いて、compound-1,2-TP が宿主 RNA ポリメラーゼへ及ぼす影響を測定した結果、compound-1-TP の IC₅₀ は 10 μ M、compound-2-TP の IC₅₀ は 100 μ M であった。それぞれの精製 HCV ポリメラーゼに対する IC₅₀ は compound-1 が 0.3 μ M、compound-2 が 3 μ M であるため、選択性はいずれも約 30 倍となり、期待された L 体化による選択毒性の向上は、達成されていないことが判明した。ヒト T 細胞由来細胞である MT-2 細胞に、C 型肝炎患者血清を感染後、CO₂ インキュベーターで 32°C、3 日間培養した。その後 compound-1, -2 を添加して 3 日間培養し、更に培地 (薬剤添加) を各 well 等量加えて 4 日間培養した。各 well の細胞から全 RNA を回収し、5'非翻訳領域のアンチセンスプライマーを用いて逆転写後、同じく 5'非翻訳領域を増幅する nested-RT-PCR 法で限界希釈検出を行い、HCV ゲノム量の変化を assay した。

D. 考察

HCV 研究の最重要課題は、信頼できる細胞培養系の開発である。我々が開発した HCV シュードタイプウイルスは、これまでの精製エンベロープ蛋白質を用いた結合アッセイや PCR でようやくウイルスの複製が検出できる細胞培養系に比べ、吸着ならびに侵入のステップを定量的に解析できる点で優れている。今回、ヘパリン、FGF そしてヒト血液成分が HCV シュードタイプウイルスの感染に重要

な役割を演じていることが示された。HCV コア蛋白質の SPP によるプロセス、ならびにコア蛋白質の小胞体局在を規定する領域が同定された。また、小胞体から遊離したコア蛋白質は核内で PA28 γ 依存的に分解されることが示された。

組換えウイルスをマウスに投与することにより、HCV 蛋白に対する液性及び細胞性免疫を誘導することができるという結果が得られた。弱毒化ワクチニアウイルスは、親株のワクチニアウイルスと異なりヒト生体内で増殖しないため、安全な組換えワクチンとして有望であると考えられており、これらの組換えウイルスの C 型肝炎治療用のワクチンとしての応用を検討したい。

HCV 由来 RNA ポリメラーゼをターゲットとした酵素スクリーニングより得られた二つのウリジン誘導體 compound-1,2 について、1) ヒト培養細胞由来 RNA ポリメラーゼ阻害アッセイと、2) 感染細胞を用いたウイルス増殖阻害アッセイを行った。これらの化合物は生体内で用いられるヌクレオシドと異なり、3'位に OH 基を持たないため、RNA ポリメラーゼによって合成中の核酸鎖に取り込まれることでそれ以降の合成を停止する。1) では、生体内で用いられるタイプの光学異性体である D 体の compound-1 に対して、用いられない L 体である compound-2 のヒト RNA ポリメラーゼ阻害能が低く、結果として抗 HCV 作用との選択性が向上していることが期待されたが、予想に反してどちらもほぼ同様に 30 倍の選択性を示した。この事実は、これらの化合物のヒト RNA ポリメラーゼ阻害反応の機序が RNA 伸長の停止 (chain termination) であると考えた場合、HCV・ヒト由来両 RNA ポリメラーゼの、L 体の誤使用率がほぼ同等であることを示している。今回の実験に用いた化合物は既に化学的に 3 リン酸化されたものであることを考え合わせると、生体における D 体・L 体の選択が RNA 合成時ではなく、主にヌクレオシドの 3 リン酸化反応時に行われていることを示唆していると考えられた。2) においては、HCV が持続的に感染している細胞で、これらの化合物が HCV

増殖を阻害することを示した。ただしこの系でのウイルス増殖は、患者体内でのイベントと比較したとき、あまり効率が良いとは考えられず、今後 sub-genomic replicon 等の比較的活発に複製がおこっている細胞系での確認が必要となろう。また、細胞障害性試験の結果は、リンパ球系・肝細胞系培養細胞の、compound-1,2 処理方法の何らかの相違を示していると考えられる。可能性としては、化合物の細胞内への輸送・化合物の 3 リン酸化等が考えられるが、実際の抗 HCV 剤の効果発現部位であるべき肝細胞での細胞内輸送不全・3 リン酸化効率低下は致命的となりうるため、今後の解析の結果が待たれる。

E. 結論

1. HCV の感染に硫酸多糖類、成長因子ならびにヒト血清成分の関与が示唆された。
2. コア蛋白質の成熟・分解機構を解析した。
3. HCV 蛋白を発現する組換え DIIs の取得に成功した。この組換えウイルスをマウスに投与したところ、液性及び細胞性免疫の誘導が確認された。
4. 精製 HCV-RNA ポリメラーゼを用いた *in vitro* のアッセイ系での IC₅₀ がそれぞれ 0.3 μ M、3 μ M のウリジン誘導體である compound-1,2 は、HCV 増殖阻害活性を示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Moriishi K, and Matsuura Y. Mechanism of hepatitis C virus infection. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 14, 285-297 (2003).

Moriishi K., Okabayashi T., Nakai K., Moriya K., Koike K., Murata S., Chiba T., Tanaka K., Suzuki R., Suzuki T., Miyamura T., and Matsuura Y. PA28 γ -dependent nuclear retention and degradation of HCV core protein. *J. Virol.*, 77, 10237-10249 (2003).

Uno-Furuta S., Matsuo K., Tamaki S., Takamura

- S., Kamei A., Kuromatsu I., Kaito M., Matsuura Y., Miyamura T., Adachi Y., and Yasutomi Y. Immunization with recombinant Calmette-Guerin bacillus (BCG)-hepatitis C virus (HCV) elicits HCV-specific cytotoxic T lymphocytes in mice. *Vaccine*, **21**, 3149-3156 (2003).
- Watanabe H., Saito T., Shinzawa H., Okumoto K., Hattori E., Adachi T., Takeda T., Sugahara K., Ito JI., Saito K., Togashi H., Suzuki R., Hayashi M., Miyamura T., Matsuura Y., and Kawata S. Spontaneous elimination of serum hepatitis C virus (HCV) RNA in chronic HCV carriers: A population-based cohort study. *J. Med. Virol.*, **71**, 56-61 (2003).
- Aizaki H., Nagamori S., Matsuda M., Kawakami H., Hashimoto O., Ishiko H., Kawada M., Matsuura T., Hasumura S., Matsuura Y., Suzuki T., and Miyamura T. Production and release of infectious hepatitis C virus from human liver cell cultures in the three-dimensional radial-flow bioreactor. *Virology*, **314**, 16-25 (2003).
- Tsutsumi T., Suzuki T., Shimoike T., Suzuki R., Moriya K., Shintani Y., Fujie H., Matsuura Y., Koike K., and Miyamura T. Hepatitis C Virus Core Protein Activates ERK and p38 MAPK in Cooperation with Ethanol in Transgenic Mice. *Hepatology*, **34**, 820-828 (2003).
- Nishimura T., Fukata Y., Kato K., Yamaguchi T., Matsuura Y., Kamiguchi H., and Kaibuchi K. CRMP-2 regulates polarized Munb-mediated endocytosis for axon growth. *Nature Cell Biology*, **5**, 819-826 (2003).
- Sacco R., Tsutsumi T., Suzuki R., Otsuka M., Aizaki H., Sakamoto S., Matsuda M., Seki N., Matsuura Y., Miyamura T., and Suzuki T. Anti-apoptotic regulation by hepatitis C virus core protein through upregulation of inhibitor of caspase-activated Dnase. *Virology*, **317**, 24-35 (2003).
- Yamamoto H., Ihara M., Matsuura Y., and Kikuchi A. Sumoylation is involved in β -catenin-dependent activation of Tcf-4. *EMBO J.*, **22**, 2047-2059 (2003).
- Nishimura T., Fukata Y., Kato K., Yamaguchi T., Matsuura Y., Kamiguchi H., and Kaibuchi K. CRMP-2 regulates polarized Munb-mediated endocytosis for axon growth. *Nature Cell Biology*, **5**, 819-826 (2003).
- Abe T., Takahashi H., Hamazaki H., Miyano-Kurosaki N., Matsuura Y., and Takaku H. *J* Baculovirus induces an innate immune response and confers protection from lethal influenza virus infection in mice. *Immunol.*, **171**, 1133-1139 (2003).
- Tani H., Limn C.-K., Yap C.-C., Onishi M., Nozaki M., Nishimune Y., Okahashi N., Kitagawa Y., Watanabe R., Mochizuki R., Moriishi K., and Matsuura Y. *In vitro* and *in vivo* gene delivery by recombinant baculoviruses. *J. Virol.*, **77**, 9799-9808 (2003).
2. 学会発表
- Nishimura Y., Moriishi K., and Matsuura Y., Interaction of HCV NS5A protein with amphiphysin 2. 22nd Annual Meeting of American Society for Virology, Davis, USA, July 12-16, 2003.
- Mori Y., Okabayashi T., Moriishi K., and Matsuura Y., Nuclear Localization of Flavivirus core proteins. 同上
- Moriishi K., Okabayashi T., Nakai K., Suzuki R., Suzuki T., Miyamura T., and Matsuura Y., PA28 γ -dependent nuclear retention and

- degradation of HCV core protein. 同上
- Abe T., Moriishi K., and Matsuura Y.,
Induction of innate immune response in mouse
by Baculovirus. 同上
- Matsuura Y., Gene delivery by pseudotyped
baculoviral vectors., Fourth
International Virus Assembly Symposium.
Sardegna, Italy, Sept. 20-24, 2003.
- Okamoto K., Moriishi K., and Matsuura Y.,
Intramembrane proteolysis and ER retention
of HCV core protein. 10th International
Meeting on HCV and Related Viruses, Kyoto,
Japan, December 2-6, 2003.
- Mori Y., Moriishi K., and Matsuura Y.,
Characterization of JEV mutant lacking NLS of
core protein. 同上
- Nishimura Y., Okamoto T., Moriishi K., and
Matsuura Y., Interaction of amphiphysin II
with HCV NS5A protein. 同上
- Moriishi K., Moriya K., Koike K., Suzuki
R., Suzuki T., Miyamura T., and Matsuura
Y., PA28 γ -dependent nuclear retention and
degradation of HCV core protein. 同上
- Murakami K., Inoue Y., Ishii K., Yoshizaki S.,
Aizaki H., Suzuki T., and Miyamura T.,
Dynamics of HCV Replication in the Three-
dimensional Radial Flow Bioreactor
System. 同上
- Machida S., Ishii K., Suzuki R., Suzuki
T., Akatsuka T., and Miyamura T., HCV
Core Protein Preferentially Down-regulates
CD48 Expression on Human B Cells. 同上
- 町田早苗、石井孝司、鈴木亮介、赤塚俊隆、鈴木
哲朗、宮村達男：C型肝炎ウイルス Core 蛋白
による B 細胞表面分子の発現変化 第 51 回日
本ウイルス学会総会、京都、平成 15 年 10 月
27-29 日、同上
- 谷 英樹、林 昌宏、葉 真珠、大西正剛、野崎
正美、西宗義武、岡橋暢夫、北川善紀、宮本
大伸、渡辺理恵、望月理加、森石恆司、松浦
善治：バキュロウイルスベクターによる *in*
vitro および *in vivo* 遺伝子導入、同上
- 岡本貴世子、森石恆司、松浦善治：シグナルペプ
チドペプチダーゼによる HCV コア蛋白質のプ
ロセッシング、同上
- 森石恆司、岡本貴世子、望月理加、鈴木亮介、鈴
木哲朗、森屋恭爾、小池和彦、宮村達男、松
浦善治：C型肝炎ウイルスコア蛋白質の成熟・
分解の分子機構 同上
- 西村順裕、岡本 徹、森石恆司、松浦善治：C型
肝炎ウイルス NS5A 蛋白質と相互作用する
amphiphysin II splicing variants. 同上
- 森 嘉生、岡林環樹、森石恆司、趙 子江、脇田
隆宇、保井孝太郎、長谷部 太、只野昌之、
小西英二、松浦善治：コア蛋白質の核移行シ
グナルを変異させた日本脳炎ウイルスの生物
学的性状 同上
- 村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、井上 寧、小
俣和彦、Su Su Hmwe、相崎英樹、鈴木哲朗、
宮村達男：三次元培養肝細胞を用いた感染 HCV
クローンの経時的変化の解析 同上
- 石井孝司、町田早苗、鈴木亮介、吉崎香子、鈴木
哲朗、赤塚俊隆、宮村達男：高度弱毒化ワク
チニアウイルス DIs 株のウイルスベクターと
しての応用 同上

G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

平成16年9月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社