

つ塩基性のタンパク質である。このような塩基性の性質から、多くのサイトカイン等がゲル等電点電気泳動では分離できないことが知られている。本研究では、モデル細胞として HL-60RG 細胞を用いて、培養上清中に産生されるヘパリンへの親和性の高い塩基性タンパク質の網羅的解析に無担体等電点電気泳動を適用したが、血球系細胞に多くの塩基性タンパク質の帰属を明らかにすることができた。今回、無担体等電点電気泳動法で帰属を推定できた塩基性のタンパク質 Myeloperoxidase (theoretical pI 9.19)、peptidylprolyl isomerase B (theoretical pI 9.33) などがあり、これらのタンパク質は SWISS-2DPAGE では分離できない。本法は、サイトカインや増殖因子等の塩基性の細胞由来タンパク質のプロファイリングに有用な手法であることが明らかにできた。

#### 4. 細胞由来生理活性タンパク質の高感度構造解析手法の開発

細胞・組織由来タンパク質の約 50%は糖鎖付加を受けているといわれている。糖鎖は細胞表面に多く存在し、細胞接着や認識等の細胞間相互作用に係わっている他、タンパク質の機能を様々な形で調節していることが知られている。また、糖鎖は組織間で異なっていること、発生・加齢や癌等の疾患に関連して変化することが明らかにされていることから、細胞組織利用医薬品において、タンパク質プロファイル評価はもちろん、糖鎖プロファイル評価、並びに糖鎖部分を含む目的タンパク質の特性解析は重要である。

我々は本研究において、タンパク質プロファイル評価のための 2D-GE、並びにゲルから回収された目的タンパク質の特性解析法の開

発を行ってきた。一般に、電気泳動法で分離されたタンパク質は、ゲル内消化、ペプチド抽出、MS/MS 分析、及び得られたプロダクトイオンを利用したタンパク質データベース検索によって同定されている。糖タンパク質の部位特異的不均一性の解析を行う場合、各糖鎖結合位置を含む糖ペプチドを等しい回収率で抽出する必要があるが、ゲル内消化後、ペプチド/糖ペプチドを抽出する方法では、回収率が不十分なうえ、ペプチド/糖ペプチドによって回収率が異なる場合がある。そこで、本研究では、SDS-PAGE で分離された糖タンパク質をゲルより丸ごと抽出した後、プロテイナーゼ消化を行い、得られたペプチド/糖ペプチドを分析する方法を検討した。可溶性 GPI 結合タンパク質は、ラット脳より分画し、SDS-PAGE で分離した。20~25 kDa 付近に検出されたバンドを 1% SDS を含むトリス塩酸緩衝液中で一晩激しく振とうすることによって、Thy-1 を丸ごと抽出することができた。

抽出された Thy-1 は、トリプシン、又は Asp-N で消化後、LC/MS によるペプチド/糖ペプチド分析に附した。LC/MS/MS を用いたペプチド/糖ペプチドマッピングによって結合糖鎖を解析する場合、無数のペプチドイオンの中から、いかに糖ペプチドのプリカーサーイオンを取り出すか、また、多数のプロダクトイオンスペクトルの中から、いかに糖ペプチドプロダクトイオンスペクトルを選び出すかが鍵となる。本研究では、質量分析装置に多段階 MS 測定が可能な IT 型装置を導入し、データベース検索、in-source CID、及び CID-MS/MS による neutral loss を利用することによって、糖ペプチドのスペクトルを見つけて出すことに成功した。

データベース検索を用いる方法では、検索

に使用するデータベースに結合糖鎖に関する情報を加えることによって、糖ペプチドが同定できることが報告されている。ITMSによる測定では、MS/MSによって peptide に GlcNAc が結合したプロダクトイオンが比較的強く検出され、さらに MS<sup>3</sup> では peptide+GlcNAc のペプチド部分の解裂が生じる。そこで、可変修飾として Asn 残基への GlcNAc に相当する 203 Da の分子量増加を加え、MS<sup>n</sup> で得られたすべてのプロダクトイオンについてデータベース検索を行った結果、糖鎖非結合ペプチドの同定結果に加え、糖ペプチドのアミノ酸配列、糖鎖結合位置、糖ペプチドのプリカーサーイオンの *m/z* 値、及び糖ペプチドの溶出時間に関する情報を得ることができた。この方法は、ペプチド同定結果に基づいたタンパク質検索結果も得ることができるため、未同定の糖タンパク質の糖鎖解析にも有用である。

In-source CID を利用する方法では、*m/z* 204<sup>+</sup>(HexNAc<sup>+</sup>)、及び *m/z* 292<sup>+</sup>(NeuAc<sup>+</sup>)のマスクロマトグラムによって、ペプチド/糖ペプチドマップ上の糖ペプチド溶出時間を推定することができた。*m/z* 204<sup>+</sup>のマスクロマトグラムから、結合糖鎖の種類に関わらず糖ペプチドの溶出位置を推定することができ、また、*m/z* 292<sup>+</sup>のマスクロマトグラムからは、シアル酸を含む糖ペプチドの溶出位置の推定に有用であることが判った。また、GPI コア構造に由来する *m/z* 286<sup>+</sup>、及び 422<sup>+</sup>のマスクロマトグラムを利用して GPI 結合ペプチドを検出することができた。このように、In-source CID は、糖鎖構造に由来する適切なオキシニウムイオンを利用することにより、目的とする糖ペプチドを検出するのに役立つことが確認された。さらに、推定された糖ペプチドの溶出時間付近から糖ペプチドプロダクトイオンスペクトル

を選別することによって、糖ペプチドの結合糖鎖構造を明らかにすることができた。

CID-MS/MS を用いた neutral loss を利用する方法では、CID-MS/MS によって生じる糖鎖に相当するプリカーサーイオンとプロダクトイオンの差を用いて、糖ペプチドの検出を行った。Hex の 2 価イオンに相当する 81 u の neutral loss によって生じたプロダクトイオンを検出することによって、還元末端側に未置換の Hex を含む 2 価の糖ペプチドの溶出時間を推定することができた。さらに、推定溶出位置付近のプロダクトイオンスペクトルから糖ペプチドのプロダクトイオンスペクトルを選別し、結合糖鎖について解析することができた。Neutral loss 81 u のマスクロマトグラムは、特に高マンノース型糖鎖を含む糖ペプチドの検出に有効であることが判った。また、HexNAc, NeuAc, 及び Fuc を非還元末端側に持つ糖鎖が結合した糖ペプチドについても、適切な neutral loss を設定することによって、検出することができると考えられる。

ここで示した糖ペプチドを検出するための 3 方法は、N-結合型糖鎖を含む糖ペプチドだけでなく、O-結合型糖鎖の検出にも応用可能である。特に、データベース検索を用いる方法は、糖鎖結合位置についての情報が得られるため、O-結合型糖鎖を含む糖ペプチドのように糖鎖結合のための consensus 配列を持たない糖ペプチドを検出するのに有用であると思われる。また、3 方法で得られた結果を合わせることによって、糖ペプチドを見落とすことなく検出し、より完全に解析することが可能になると考えられる。

ラット脳 Thy-1 の部位特異的糖鎖構造は、精製された糖ペプチドから糖鎖を遊離後、ゲルろ過クロマトグラフィー、エキソグリコシ

ダーゼ消化, 及びメチル化分析等を行うことによってすでに解析されている. Asn23 には高マンノース型糖鎖(M5, 及び M6), Asn74 にはトリマンノシルコア構造に Fuc が結合したコンプレックス型糖鎖, 及び Asn98 には高マンノース型糖鎖(M5), 及びハイブリッド型糖鎖が結合していることが報告されている. 最近, 我々は, SDS-PAGE で分離された Thy-1 からゲル内 PNGase F 消化により糖鎖を遊離させ, 還元後, LC/liner ITMS-FT ICRMS を用いて糖鎖プロファイリングを行うことにより, Thy-1 には報告されている以上に, 非常に多種類の N-結合型糖鎖が結合していることを明らかにしている. 本研究では, LC/liner ITMS による連続スキャン分析を用いて, これら N-結合型糖鎖の部位特異的不均一性を解析した. その結果, 各結合位置において, 報告されている構造を含む多種類の糖鎖が結合していることが明らかとなった. 各結合位置において, トリプシン又は Asp-N 消化物のどちらかの糖ペプチドを解析することによってのみ確認された糖鎖構造があることから, 部位特異的不均一性について解析する場合, 試料量が許すならば, 複数のプロテイナーゼを用いて別々に調製された消化物を用いて分析することが望ましいと考えられる.

GPI 構造は, In-source CID を用いて Asp-N 消化物のペプチド/糖ペプチドマップ上の GPI 結合ペプチドの溶出位置を推定し, そこから選び出したプロダクトイオンスペクトルを用いて明らかにすることができた. すでに報告されている 2 種類の GPI 構造が確認された他に, 新たに 2 種類の GPI 構造を見出した.

以上のように, 電気泳動によって分離された目的糖タンパク質をゲルから抽出した後に酵素消化する方法, 及びイオントラップ型質

量分析法を利用して糖鎖を特異的に解析する方法を用いることによって, これまで解析が困難であったゲル内糖タンパク質の糖鎖解析が可能となることを実証した.

## 5. 細胞・組織のがん化を予測する評価技術の開発に関する研究

ポリラクチドは, 広く臨床の場で用いられている生体吸収性のポリエステルである. 本研究において, PLLA プレートを埋植することによって BALB/cJ マウスではクロス模様を形成し接触阻害を抑制するといった細胞の形態に違いが出ることを明らかにした. その原因を確かめるために, GJIC 機能への影響について調べた. ギャップジャンクションは Cx 分子の C 末端領域の翻訳後のリン酸化によって制御されており, Cx 分子のリン酸化は GJIC の阻害と密接に関わっている. そのため, ギャップジャンクションは PLLA 誘導性腫瘍形成において主な役割を果たしているようである. Cx43 のタンパク質と mRNA の発現について検討を行ったところ, Cx43 の発現は PLLA を埋植した BALB/cJ マウス由来の細胞では対照の BALB/cJ マウス由来の細胞に比べて抑制されており, Cx43mRNA 発現も, PLLA を埋植した BALB/cJ マウス由来の細胞では抑制された. Cx43 の抑制が腫瘍形成に促進的に作用するとの報告もある. PLLA は, GJIC 阻害効果と Cx43 タンパク質量の低下を誘導し, 腫瘍形成能を高めるのかもしれない. TGF- $\beta$ 1 はリン酸化型 Cx43 を減少させることによって GJIC 機能を弱め, また ECM の発現を上昇させると言われている. TGF- $\beta$ 1 分泌量は PLLA を埋植した BALB/cJ マウス由来の細胞では対照の BALB/cJ マウス由来の細胞に比べて有意に上昇した. しかし, SJL/J マウスでは PLLA

埋植によってTGF- $\beta$ 1分泌量は逆に減少した。さらに、ジーンチップ解析より、主なECMタンパク質はPLLAを埋植したBALB/cJマウス由来の細胞では上昇することを見出した。

BALB/cJマウスにおいて、PLLAプレート埋植10ヶ月後に埋植部位に増殖した組織が形成されるが、この増殖組織をヌードマウスを用いて腫瘍形成試験を行った。PLLAを埋植したBALB/cJマウス由来の細胞を注入したヌードマウスにおいて大きくて急速な腫瘍増殖が観察された。しかしながら、これらの腫瘍細胞は軟寒天培養法ではコロニー形成は認められなかった。

以上のことから、PLLAはTGF- $\beta$ 1の分泌を上昇させ、GJICの阻害、ECMタンパク質とIGFBPの発現の上昇を引き起こし、腫瘍を形成することが示唆された。さらに、PLLAはCRIPとOPNの発現も上昇させた。最終的にこれら全ての因子が腫瘍形成を亢進させるのであろう(図66)。

## 6. 細胞が産生するタンパク質の体内動態解析法の開発に関する研究

細胞治療用細胞から分泌される生理活性タンパク質の多くは生理的条件下では通常nMオーダー以下の血液中濃度と考えられるので、磁性マイクロ粒子を用いたMSIAでは測定は困難と思われる。そこで、さらにより大きな表面積を有し、精製濃縮効率の改善が期待される熱応答性磁性ナノ粒子の応用を試みた。その結果、nMオーダーの濃度のインスリンを検出することができた。この熱応答性磁性ナノ粒子は貴重なサンプルであることから、研究期間中これ以上の検討はできなかったが、使用する抗体をさらに選別し、粗精製の条件を最適化することにより、サブnMという実

用的なレベルの感度を実現する方法になる可能性がある。

本研究によって様々な合成高分子化合物もタンパク質シグナルを増強することが明らかとなった。この増強現象は、高分子化合物の種類の違い、あるいはシグナル増強をうけるタンパク質の違いによって全く異なったものとなる。

## 7. 血管内皮前駆細胞の特性指標の解析に関する研究

幹細胞や前駆細胞を用いた細胞治療においてはその品質の確保や有効性の担保に細胞特性解析データに基づいた規格設定が必要となる。本研究では、末梢血あるいは臍帯血の造血幹細胞を分離し、その血管内皮前駆細胞(EPC)への分化誘導系を確立するとともに、その分化過程を詳細に解析することにより、EPCとしての有用性をあらかじめ判定できるような細胞指標の提示を試みようとしている。すでに報告した末梢血AC133陽性細胞からCD31強陽性のEPC誘導系を用いて、このCD31強陽性細胞のEPCとしての特性解析を行うとともにその品質や有効性の指標を明らかにすることを試みた。

まず臍帯血及び末梢血AC133陽性細胞からのin vitroでのEPC誘導に対する増殖因子の影響について解析した。特に、SCFやTPOなどのサイトカインの影響について解析したところ、VEGF単独に比較して、SCFやTPOを添加することにより細胞数の顕著な増加が認められ、さらにCD31強陽性細胞の比率の増加が認められた。細胞数の増幅に関してはSCFとTPOを相加的な影響を示すが、CD31強陽性細胞の出現に関して、SCFは殆ど影響しないにもかかわらず、TPOは顕著な促進効果を示した。これらの結果より、TPOはEPCの誘導に主な作用を持ち、SCFは血管内皮

前駆細胞よりも造血幹細胞や多能性造血細胞の増幅に主たる作用を持つのではないかと考えられた。両因子を同時に添加することにより、細胞数の増加と血管内皮前駆細胞の誘導の両方が亢進されると想定された。このTPOとSCFの作用をさらに解析するために、VEGF単独とSCF及びTPO存在下での血管内皮前駆細胞から血管内皮細胞への分化を解析したところ、SCFやTPOを添加したときにより強いeNOSやKDR陽性の接着細胞の誘導が認められた。また、臍帯血ACA133陽性細胞を培養した場合にはクラスター様の増幅が認められ、TPOとSCF添加によりeNOSやKDRの発現ばかりでなくクラスター数及びクラスターの大きさ（細胞数）も顕著に亢進していた。この結果から、AC133細胞からin vitroでのEPCの誘導にSCFやTPOが重要な働きをすることが明らかになった。EPCを血管再生治療に用いる場合、in vitroで増幅できればより高い治療効果が期待でき、本研究で示された結果はEPCの有用性確保のために重要な結果と考えられる。今後、増幅されたEPC機能的解析を行う予定である。

次にEPCはCD31強陽性であることをすでに報告しているが、品質や有用性評価指標としてのより広範な特性指標の解析を行った。特に、CD31強陽性細胞のコネキシン37、VE-カドヘリン、Lox-1、CD45などの発現について解析を行った。その結果、CD31強陽性細胞はLox-1弱陽性であり、血管内皮細胞への分化誘導にともないその発現が増強すること、VE-カドヘリン陰性、CD45陽性であることが示された。また、Cx37陽性細胞を分画してさらに培養を続けると接着性のKDR陽性細胞が出現してくることから、Cx37の発現がCD31強陽性と同様に非常に有用な特性指標になる可能性が高いことが示された。また、VE-カドヘリン陰性でCD45陽性であ

ることから、AC133陽性細胞から誘導されるCD31強陽性細胞はearly EPCとしての性質を持っているものと推定された。すなわち、CD31強陽性細胞は、AC133陽性の造血幹細胞から誘導されてきた初期のEPCであり、まだ捉えられていない成熟したEPCを経て血管内皮細胞へと分化する能力を有しているものと考えられる。

## 8. P19細胞由来細胞株の心筋細胞への分化誘導と相関する遺伝子の探索

本研究に用いた各細胞株は、心筋分化誘導における自動拍動能出現までの日数、収縮コロニーの数・大きさの分化能に大きな差があることが確認された。これは分化誘導に伴う遺伝子発現の差を反映しているものと考えられた。そこで、分化誘導に伴う心筋特異的遺伝子発現や分化誘導を行う前の遺伝発現の網羅的解析を行うとともに、分化能を決定づけている遺伝子群の探索を行った。

まず、分化誘導後の心筋特異的遺伝子発現解析を行った。得られた7種の心筋特異的遺伝子発現の主成分分析を行った。主成分の寄与率は、算出された主成分が資料の情報をどれくらい説明しているかの目安を与える。すなわち主成分の妥当性を表す寄与率を見ると、第1主成分は7個ある資料のうち約4.5個の情報すなわち資料の本質の約65%を説明しており、第2主成分は約1.2個の情報すなわち資料の本質の約15%を説明し、この2つの主成分で資料の本質の80%以上が説明されると解釈される。算出された主成分の式を視覚化した図である変量プロットを見ると、第1主成分は各変量の係数全てが正に出ていることから心筋分化の指標となることが考えられる。GATA4とMEF2CとNkx2.5は心筋分化の比較的初期に機能する遺伝子であり、心筋線維

遺伝子の MLC2a、MLC2v、 $\alpha$ MHC、 $\beta$ MHC は心筋分化の比較的後期に発現が見られることが知られている。なかでも $\beta$ MHC はマウスでは胎生期の心筋に発現し、出生後は $\alpha$ MHC に置換される。また、心室筋においても胎生期には心房筋タイプの MLC2a の発現が認められるが、出生と共にすべての MLC2 が  $\nu$  タイプとなる。第 2 主成分では GATA4、MEF2C および Nkx2.5 の係数は負の値であり、心筋線維遺伝子の係数はすべて正の値である上、 $\beta$ MHC には $\alpha$ MHC よりも低い係数を割り当てられ、MLC2a も MLC2v より低い係数を割り当てられている。従って、第 2 主成分は心筋の発達段階の指標となることが考えられる。この主成分から各々のデータを見たものが主成分得点であり、これを心筋細胞分化の指標とした。

次に分化誘導を行う前の遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイを用いて解析した。得られたデータにフィルターをかけて心筋細胞分化との相関のあるものを抽出した。まず、遺伝子の発現が見られる Sequence Tag を選ぶためにフィルター①をかけた。次に、細胞株による遺伝子発現の差を比較するためには細胞株間で差があるものを選ぶ必要があるのでフィルター②をかけた。その次に、細胞株間での差が小さいと相関がないものまで相関があるとして抽出されてしまう危険性があるので細胞株間での差が平均で 50% ずつあれば大きな差が出ると仮定、すなわち最大の平均値と最小の平均値に 2.5 倍の差があればよいと仮定しフィルター③をかけた。最後に、フィルター④をとして定量性リアルタイム RT-PCR で得られた第 1 主成分の最大値、第 2 主成分の最大値、さらに自動拍動能出現までの日数、収縮コロニーの数に対してスピアマ

ンの順位相関係数を算出し、有意な相関があるものを選び出した。ここで、相関係数として順位相関を選択した理由は、分化前における特定の遺伝子発現が心筋分化に影響する場合、分化前の遺伝子発現量と分化効率は必ずしも線形の相関を示すとは限らないためであり、また、いくつかの飛離れた値が存在する場合には、例えば相関が線形であったとしても、ピアソンの積率相関係数などの間隔尺度・比尺度間の相関係数の場合はそれらの値に引きずられて不当に高い相関係数が得られてしまうからである。

スピアマンの順位相関係数を評価した結果、表1に示すようなCPCと名付けた24遺伝子が抽出された。これらCPC遺伝子群の発現量は、分化誘導刺激が存在しない状態にあるP19細胞由来細胞株における心筋細胞分化ポテンシャルの指標となる。また、同時に、CPC遺伝子群は各種幹細胞もしくは前駆細胞における心筋細胞分化ポテンシャルの指標となる可能性がある。CPC遺伝子の多くは心筋細胞分化と直接関連付けられた報告がこれまでなされていない、機能未知の蛋白質をコードするものであった。本研究における遺伝子探索では分化誘導前の遺伝子プロファイルの差異に基づいて心筋細胞分化予測マーカー遺伝子を抽出している点に特徴がある。細胞組織利用医薬品として心筋細胞に分化する前の前駆細胞等を用いて治療を行う場合に、今回明らかにした遺伝子群の産物とその特性指標として利用できるものと期待される。さらに、探索された遺伝子の多くが膜タンパク質であることから前駆細胞の分離にも有用である可能性がある。

## 9. 肝幹細胞の特性指標に関する研究 アネキシン3Aの特性指標としての有用性

2-AAF/CCl<sub>4</sub> 投与した oval cell の出現を伴うラット肝再生モデル肝臓における検討から、特に中心静脈域で小型血球様細胞の顕著な出現の増加がみられ、この細胞は AnxA3 とアルブミンを強く発現していることが明らかになった。したがって、AnxA3 は肝幹細胞のマーカーとして有用である可能性が示唆された。

AnxA3 は正常肝臓において肝細胞と異なる細胞において一部発現している。中心静脈域において AnxA3 陽性、アルブミン陰性の細胞は肝細胞索に沿って存在しているように観察されることから類洞内皮細胞の可能性が考えられる。門脈域においてもその周囲を取り囲むようにして少数の AnxA3 陽性アルブミン陰性の細胞が存在するが、この細胞と中心静脈域との異同については不明である。

一方、以下に述べる点から、今回その存在を確認した小型血球様の肝幹細胞は一般的に提唱されている oval cell と同じではないように思われる。まず、oval cell の由来はヘリング管と考えられているが、今回観察された小型血球様の肝幹細胞は中心静脈域に強い局在がみられる。また、データは示していないが、2-AAF/CCl<sub>4</sub> 投与後出現する AnxA3 およびアルブミン共陽性の小型血球様細胞は造血幹細胞のマーカーである CD34 についても陽性であり、その消長はこの AnxA3 陽性細胞と同様である。したがって、この細胞は骨髄由来細胞である可能性が極めて高く、oval cell の一部は骨髄細胞に由来するという最近の知見と一致する。

肝幹細胞のマーカーとして AnxA3 を用いる場合、その局在は細胞表面であることが望ましい。なぜなら、細胞を破壊することなく抗体を用いたフローサイトメーターの解析によりその存在を確認できるからである。我々の

小型肝細胞を用いた検討結果から、AnxA3 は主として肝細胞膜に局在することが確かめられている。また、他の Anx についても免疫化学的解析および抗体を用いた機能阻害の検討から細胞膜表面に存在することが明らかになっている。今後、小型血球様の肝幹細胞における AnxA3 の局在についても詳細に検討する必要がある。

AnxA3 が小型血球様の肝幹細胞の機能に及ぼす影響についても興味の対象である。これに関連し、我々は他の細胞も用いて AnxA3 が増殖を促進させる方向に作用することを示唆する結果を得ている。今回得られた結果から、2-AAF/CCl<sub>4</sub> 投与後出現する小型血球様の肝幹細胞は増殖・分裂を盛んに繰り返すことは明らかである。したがって、AnxA3 は小型血球様の肝幹細胞が有する高い増殖能の賦与に寄与しているのかもしれない。

#### 1.0. ヒト骨芽細胞の増殖能や骨分化能の加齢による影響

加齢に伴う骨形成能の低下のメカニズムについては、未だ明かとなっていない。この骨形成能の低下に関わる分子や遺伝子を解析することは、骨再生能の低い患者に効果のある医薬品、生体材料の開発にとって重要である。そこで本研究では、年齢の異なるヒト骨芽細胞の分化機能発現について微小集積培養法を用いて検討した。

骨芽細胞の増殖能について検討したところ、増殖における年齢の差は認められなかった。初期分化マーカーである ALPase 活性を評価したところ、1D は活性が高く、16Y、41Y は活性が低く、年齢の差が顕著に認められた。マウス由来骨芽細胞 MC3T3-E1 は継代数が増えると、ALPase 活性や最終分化マーカーのオステオカルシンの発現

が低下することが報告されている。また、ラット骨芽細胞においても、juvenile（若年）の石灰化能はadult（成体）の40倍程度高いことが報告されている。本実験結果でも、ヒト骨芽細胞は年齢が高くなると、骨分化能が低下することが示唆された。これより、ラット、マウス、ヒトの骨芽細胞は種に関係なく、年齢が上がると骨形成能は低下することが明らかとなった。以上のことから、ヒト骨芽細胞の石灰化は初期分化マーカーのALPase活性が大きく関与していると考えられる。

#### E. 結論

- 1) ウイルス等の感染性危険因子の高感度検出のための基盤技術の開発や評価方法に関する研究として、新たに開発した PEI 磁気ビーズによるウイルス濃縮法の機構解析を行い、陽イオン解離基を高密度に持つ PEI が濃縮に有用であること、抗体が同時に濃縮されることなどを明らかにした。また、これらの解析結果の応用として抗ウイルス抗体を添加して濃縮を行うことがさらなる高感度化につながることを明らかになった。さらに、PEI 磁気ビーズはヒトウイルスである HBV や HCV の濃縮にも適応可能であることを明らかにした。
- 2) 同一起源の細胞の形質変化を遺伝子発現解析を行うことにより明らかにすることができた。また、遺伝子発現情報の相関性を解析することにより、細胞の分類も可能であることが示された。細胞の遺伝的安定性に関する解析法として、マイクロアレイを用いた CGH 法の有用性について検討を行い、簡便性にかつ再現良く欠失や増幅を検出することが可能であることが明らかになった。
- 3) 細胞特性評価の一環として、無担体等電点電

気泳動と SDS-PAGE を組み合わせた手法の有用性について検討を行い、これまでのゲル 2 次元電気泳動では分離できない塩基性のタンパク質の解析に有用であることを明らかにした。

- 4) 目的タンパク質の特性解析を基本とした細胞治療用医薬品の品質評価法を確立するため、LC/MS による電気泳動ゲル中の糖タンパク質の特性解析を検討し、タンパク質のゲルからの抽出法の改良、及びイオントラップ型質量分析法を利用した糖特異的検出法を用いることによって、糖タンパク質の高感度部位特異的糖鎖解析が可能となることを明らかにした。
- 5) BALB/cL マウスの易発癌系統と発癌しにくい系統の 2 種類のマウスを用いて、ポリ-L-乳酸 (PLLA) によるがん化について *in vivo* で解析し、複数のタンパク質の発現ががん化の予測指標となる可能性を示唆することができた。
- 6) 熱応答性磁性ナノ粒子を利用した質量分析イムノアッセイ (MSIA) が細胞由来目的タンパク質等の体内動態解析手法として有用であることを示した。また、各種合成高分子をマトリックス溶液に添加することにより、それ自身のシグナルを出すことなく目的タンパク質のシグナルを増強することができ、質量分析の高感度化が可能であることを明らかにした。
- 7) ヒト血液幹細胞からより多くの血管内皮前駆細胞を分化誘導する条件を明らかにするとともに、血管内皮前駆細胞の細胞指標として、CD31 に加え Cx37 が有用であることを明らかにした。
- 8) 心筋細胞への分化能を有するマウス胚性腫瘍細胞及びその亜株を用いて心筋分化能の



解析及びマイクロアレイによる遺伝子発現プロファイル解析を行い、心筋分化能に関連する遺伝子群を見出した。

9) 再生肝モデル動物を用いて肝幹細胞の特性指標として、AnxA3 の有用性について示すことができた。

10) ヒト骨芽細胞の増殖能は年齢による差異はないが、分化能が加齢と共に低下することを見出し、骨芽細胞を用いた治療においては品質評価として分化能を考慮することが必要性を明らかにした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表及び著書

- 1) Okada Y., Okada N., Mizuguchi H., Takahashi K., Takao HAYAKAWA, 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)
- 2) 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 $\gamma$  pathway using lentiviral vector expressing short hairpin RNA, *FEBS Lett*, 560, 178-182 (2004)
- 3) Nakamura T., Peng K-W., Vongpunsawad S., Harvey M., Mizuguchi H., Takao HAYAKAWA, Cattaneo R., Russell S.J. Antibody-targeted cell fusion, *Nature Biotech.*, 22, 331-336 (2004)
- 4) Okada N., Gao J-Q., Sasaki A., Niwa M., Okada Y., Nakayama T., Yoshie O., Mizuguchi H., Takao HAYAKAWA, 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)
- 5) Katayama K., Wada K., Miyoshi H., Ohashi K., Tachibana M., Furuki R., Mizuguchi H., Takao HAYAKAWA, Nakajima A., Kadowaki T., Tsutsumi Y., Nakagawa S., Kamisaki Y., Mayumi T. : RNA interfering approach for clarifying the PPAR $\gamma$  pathway using lentiviral vector expressing short hairpin RNA., *FEBS Letters*, 560(1-3): 178-182, (2004)
- 6) Gao J-Q, Alexandre L.S., Tsuda Y., Katayama K., Eto Y., Sekiguchi F., Mizuguchi H., Takao HAYAKAWA, 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)
- 7) Kawai H., Suzuki T., Kobayashi T., Mizuguchi H., Takao HAYAKAWA, Kawanishi T. Simultaneous imaging of initiator / effector caspase activity and mitochondrial membrane potential during cell death in living HeLa cells. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1693, 101-110 (2004)
- 8) Gao J-Q., Inoue S., Tsukada Y., Katayama K., Eto Y., Kurachi S., Mizuguchi H., Hayakawa T., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S. High gene expression of the mutant adenovirus vector, both in vitro and in vivo, with the insertion of integrin-targeting peptide into the fiber. *Pharmazie*, 59,

- 571-572 (2004)
- 9) Masashi HYUGA, Sumiko HYUGA, Nana KAWASAKI, Miyako OHTA, Satuki ITOH, Shingo NIIMI, Toru KAWANISHI, and Takao HAYAKAWA: Enhancement of hepatocyte growth factor-induced cell scattering in N-acetylglucosaminyltransferase III-transfected HepG2 cells, *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 781-785 (2004)
  - 10) Hiroshi Kawai, Takuo Suzuki, Tetsu Kobayashi, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa and Toru Kawanishi: Simultaneous imaging of initiator/effector caspase activity and mitochondrial membrane potential during cell death in living HeLa cells, *Biochim. Biophys. Acta*, 1693, 101-110 (2004)
  - 11) Shingo NIIMI, Masashi HYUGA, Mizuho HARASHIMA, Taiichiro SEKI, Toyohiko ARIGA, Toru KAWANISHI, and Takao HAYAKAWA: Isolated small rat hepatocytes express both Annexin III and terminal differentiated hepatocyte markers, tyrosine aminotransferase and tryptophan oxygenase, at the mRNA level, *Biol. Pharm. Bull.*, 27(11), 1864-1866, (2004)
  - 12) 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)
  - 13) 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*, 32, 70-77 (2004)
  - 14) Eto Y., Gao J-Q, Sekiguchi F., Kurachi S., Katayama K., Mizuguchi H., Takao HAYAKAWA, Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S. Neutralizing antibody evasion ability of adenovirus vector induced by the bioconjugation of MPEG-SPA. *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 936-938 (2004)
  - 15) Tetsuji HOSONO, Hiroyuki MIZUGUCHI, Kazufumi KATAYAMA, ZHI-LI XU, Fuminori SAKURAI, Akiko ISHII-WATABE, Kenji KAWABATA, Teruhide YAMAGUCHI, Shinsaku NAKAGAWA, Tadanori MAYUMI, Takao HAYAKAWA : Adenovirus Vector-Mediated Doxycycline-Inducible RNA Interference, *Hum Gene Ther.*, 15, 813-819 (2004)
  - 16) Hiroyuki Mizuguchi and Takao HAYAKAWA, Targeted adenovirus vectors. *Hum. Gene Ther.*, 15, 1034-1044 (2004)
  - 17) Koizumi, N., Mizuguchi H., Kondoh, M., Fujii, M., Takao HAYAKAWA, Watanabe, Y. Efficient gene transfer into human trophoblast cells with adenovirus vector containing chimeric type 5 and 35 fiber protein. *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 2046-2048 (2004)
  - 18) Satoru Kamoda, Chie Nomura, Mitsuhiro Kinoshita, Saori Nishiura, Rika Ishikawa, Kazuaki Kakehi, Nana Kawasaki and Takao HAYAKAWA, Profiling Analysis of Oligosaccharides in Antibody Pharmaceuticals by Capillary Electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, 1050, 211-216(2004)
  - 19) Eriko Uchida, Koei Sato, Akiko Iwata, Akiko Ishii-Watabe, Hiroyuki Mizuguchi, Mikio Hikata, Mitsuhiro Murata, Teruhide Yamaguchi, and Takao HAYAKAWA: An improved method for detection of replication-competent retrovirus in retrovirus vector

- products, *Biologicals*, 32, 139-146 (2004)
- 20) Satoru KAMADA, Chie NOMURA, Mitsuhiro KINOSHITA, Saori NISHIURA, Rika ISHIKAWA, Kazuaki KAKEHI, Nana KAWASAKI, and Takao HAYAKAWA: Profiling analysis of oligosaccharides in antibody pharmaceuticals by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 48, 163-168 (2004)
- 21) Satsuki ITOH, Akira HARZONO, Nana KAWASAKI, Noritaka HASHII, Yukari MATSUIISHI, Toru KAWANISHI, and Takao HAYAKAWA: Glycosylation analysis of glycoproteins by LC/MS/MS. Analysis of glycosylation sites and of site-specific heterogeneity. *J. Electrophoresis*, 48, 163-168 (2004)
- 22) 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* 18, 1156-1160 (2004)
- 23) Okamoto T., Mukai Y., Yoshioka Y., Shibata H., Kawamura M., Yamamoto Y., Nakagawa S., Kamada H., Takao HAYAKAWA, Mayumi T., Tsutsumi Y. : The Optimal Construction of Non-immune scFv phage display library from mouse bone marrow and spleen established to select specific scFvs binding to antigens efficiently., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 323(2):583-91, (2004)
- 24) 早川 堯夫 : バイオロジクスの将来展望と課題、バイオロジクス：生体由来物質を用いた製品開発、(社)高分子学会編、pp.5-42 (2004), (株)エヌ・ティー・エス、東京
- 25) 早川 堯夫、永田 龍二: バイオロジクスの品質と安全性評価、薬の安全性 (長尾 拓編)、南山堂、pp.33-51 (2004) 東京
- 26) 早川 堯夫、永田 龍二: 再生医療分野における指針・ガイドライン：再生医療の適正かつ効果的な推進を目指して、*再生医療* 3(3): 1195-1197 (2004)
- 27) 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)
- 28) 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)
- 29) 水口裕之、早川 堯夫 ; アデノウイルスベクター : *Mebio*, 21(4), 8-16 (2004)
- 30) 川崎ナナ、橋井則貴、伊藤さつき、日向昌司、川西 徹、早川 堯夫 : LC/MSを用いた糖鎖プロファイリングによるグリコーム解析。 *生物物理化学*, 48, 5-10 (2004)
- 31) 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)
- 32) Naoki Okada, Sayaka Iiyama, Yuka Okada, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Shinsaku Nakagawa, Tadanori Mayumi, Takuya Fujita, Akira Yamamoto; Immunological properties and vaccine efficacy of murine dendritic cells simultaneously expressing melanoma-associated antigen and interleukin-12, *Cancer Gene Ther.* 12, 72-83 (2005)
- 33) Sumimoto H., Yamagata S., Shimizu A., Miyoshi H., Mizuguchi H., Hayakawa T., Miyagishi M., Taira K., Kawakami Y. Gene therapy for human small cell lung carcinoma by inactivation of Skp-2 with virally mediated RNA interference. *Gene Ther.*, 12, 95-100 (2005)
- 34) Okada N., Mori N., Koretomo R., Okada Y., Nakayama T., Yoshie O., Mizuguchi H., Hayakawa T., Nakagawa S., Mayumi T., Fujita T., Yamamoto A. Augmentation of the migratory ability of DC-based vaccine into regional lymph nodes by efficient CCR7 gene transduction. *Gene Ther.*, 12, 129-139 (2005)

- 35) Maeda M., Kida S., Hojo K., Eto Y., Gao J-Q, Kurachi S., Sekiguchi F., Mizuguchi H., Hayakawa T., Mayumi T., Nakagawa S., Kawasaki K. Design and synthesis of a peptide-PEG transporter tool for carrying adenovirus vector into cells. *Bioorg. Medicinal. Chem. Lett.*, 15, 621-624 (2005)
- 36) Gao J-Q, Sugita T., Kanagawa N., Iida K., Eto Y., Motomura Y., Mizuguchi H., Tsutsumi Y., Hayakawa T., Mayumi T., Nakagawa S. A single intratumoral injection of a fiber-mutant adenoviral vector encoding interleukin 12 induces remarkable anti-tumor and anti-metastatic activity in mice with Meth-A fibrosarcoma *Biochem Biophys Res Commun.*, 328, 1043-1050 (2005)
- 37) Masuo Kondoh, Akane Masuyama, Azusa Takahashi, Nagayoshi Asano, Hiroyuki Mizuguchi, Naoya Koizumi, Makiko Fujii, Takao Hayakawa, Yasuhiko Horiguchi and Yoshiteru Watanabe. A novel strategy for the enhancement of drug absorption using a claudin modulator, *Mol Pharmacol.*, 67, 749-756 (2005)
- 38) Kayoko TAKAGI, Reiko TESHIMA, Haruyo OKUNUKI, Satsuki ITO, Nana KAWASAKI, Toru KAWANISHI, Takao HAYAKAWA, Yuichi KOHNO, Atsuo URISU, Jun-ichi SAWADA: Kinetic Analysis of Pepsin Digestion of Chicken Egg White Ovomuroid and Allergenic Potential of Pepsin Fragments, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 136, 23-32 (2005)
- 39) 早川堯夫, 石井明子: スタンダード薬学シリーズ 第8巻 医薬品の開発と生産 第13章 組換え医薬品 (SB028 組換え医薬品の特色と有用性を説明できる、SB029 代表的な組換え医薬品を列挙できる、SB030 組換え医薬品の安全性を概説できる)、*日本薬学会編、東京化学同人*, pp.98-103 (2005)
- 40) Toru KAWANISHI, S. ISHIZAKI, N. KAWASAKI, R. SHIBAYAMA, Hiroshi. KAWAI, H. OHATA, K. MOMOSE, Takao HAYAKAWA, Abnormal fluorescence spectra of carboxy SNARF-1 acetoxymethyl acetate ester-loaded hepatocytes - Biotransformation of Carboxy SNARF-1, a pH probe- *Pflugers Archiv. Eur. J. Physiol* (in press)
- 41) Xu Z.L., Mizuguchi H., Koizumi N., Sakurai F., Hosono T., Kawabata K., Watanabe Y., Yamaguchi T., Hayakawa T.: Approaches to improve the kinetics of adenovirus delivered gene and gene product. *Adv. Drug. Deli. Rev.*, (in press)
- 42) Naoya Koizumi; Masuo Kondoh; Hiroyuki Mizuguchi; Tsuyoshi Nakanishi; Akane Masuyama; Fumie Ida; Makiko Fujii; Takao Hayakawa; Emi Nakashima; Keiichi Tanaka; Yoshiteru Watanabe, Comparison of transgene expression mediated by several fiber-modified adenovirus vectors in trophoblast cells, *Placenta*, (in press)
- 43) Yusuke Eto, Jian-Qing Gao, Fumiko Sekiguchi, Shinnosuke Kurachi, Kazufumi Katayama, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Mitsuko Maeda, Koichi Kawasaki, Yasuo Tsutsumi, Tadanori Mayumi, Shinsaku Nakagawa. PEGylated adenovirus vectors containing RGD peptides on the tip of PEG show high transduction efficiency and antibody evasion ability, *J Gene Med.*, (in press)
- 44) Yuka Okada, Naoki Okada, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Shinsaku Nakagawa, Tadanori Mayumi. Transcriptional targeting of RGD fiber-mutant adenovirus vectors can improve the safety of suicide gene therapy for murine melanoma, *Cancer*

- Gene Ther.*, (in press)
- 45) Hiroko Shibata, Yasuo Yoshioka, Shinji Ikemizu, Kyoko Kobayashi, Yoko Yamamoto, Yohei Mukai, Takayuki Okamoto, Madoka Taniai, Maki Kawamura, Yasuhiro Abe, Shinsaku Nakagawa, Takao Hayakawa, Satoshi Nagata, Yuriko Yamagata, Tadanori Mayumi, Haruhiko Kamada, Yasuo Tsutsumi: Functionalization of TNF- $\alpha$  using phage display technique and PEGylation improves its antitumor therapeutic window, *Clinical Cancer Research* (in press)
- 46) Takuo Suzuki, Tomoko Mogami, Hiroshi Kawai, Tetsu Kobayashi, Youichi Shinozaki, Yoji Sato, Toshihiro Hashimoto, Yoshinori Asakawa, Kazuhide Inoue, Yasuo Ohno, Takao Hayakawa and Toru Kawanishi: Screening of novel nuclear receptor agonists by a convenient reporter gene assay system using green fluorescent protein derivatives, *Phytomedicine* (in press)
- 47) Hiroko Shibata, Yasuo Yoshioka, Shinji Ikemizu, Kyoko Kobayashi, Yoko Yamamoto, Yohei Mukai, Takayuki Okamoto, Madoka Taniai, Maki Kawamura, Yasuhiro Abe, Shinsaku Nakagawa, Takao Hayakawa, Satoshi Nagata, Yuriko Yamagata, Tadanori Mayumi, Haruhiko Kamada, Yasuo Tsutsumi: Functionalization of TNF- $\alpha$  using phage display technique and PEGylation improves its antitumor therapeutic window, *Clinical Cancer Research* (in press)
- 48) Tetsuji Hosono, Hiroyuki Mizuguchi, Kazufumi Katayama, Naoya Koizumi, Kenji Kawabata, Teruhide Yamaguchi, Shinsaku Nakagawa, Yoshiteru Watanabe, Tadanori Mayumi, Takao Hayakawa: RNA interference of PPAR $\gamma$  using fiber-modified adenovirus vector efficiently suppresses preadipocyte-to-adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells, *Gene*, (in press)
- 49) Akira HARAZONO, Nana KAWASAKI, Toru KAWANISHI, and Takao HAYAKAWA: Site-specific glycosylation analysis of human apolipoprotein B100 using high-performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Glycobiology*, (in press)
- 50) Jin YUAN, Noritaka HASHII, Nana KAWASAKI, Satsuki ITOH, Toru KAWANISHI, and Takao HAYAKAWA: Isotope tag method for quantitative analysis of carbohydrates by liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, (in press)
- 51) Niimi, S., Harashima, M., Takayama, K., Hara, M., Hyuga, M., Seki, T., Ariga, T., Kawanishi, T., Hayakawa, T.: Thrombomodulin enhances the invasive activity of mouse mammary tumor cells. *J. Biochem* (in press)
- 52) Niimi, S., Harashima, M., Gamou, M., Hyuga, M., Seki, T., Ariga, T., Kawanishi, T., Hayakawa, T.: Expression of annexin A3 in primary cultured parenchymal rat hepatocytes and inhibition of DNA synthesis by suppression of annexin A3 using RNA interference. *Biol. Pharm. Bull.* (in press)
- 53) Nasimuzzaman, M., Kuroda, M., Dohno, S., Yamamoto, T., Iwatsuki, K., Matsuzaki, S., Rashel, M., Kumita, W., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Nakamura, H., Taguchi, T., Wakiguchi, H., Imai, S. Eradication of Epstein-Barr virus episome and associated inhibition of infected tumor cell growth by adenovirus

- vector-mediated transduction of dominant-negative EBNA1. *Mol. Ther.*, (in press)
- 54) Kawai H., Suzuki T., Kobayashi T., Sakurai H., Ohata H., Honda K., Momose K., Namekata I., Tanaka H., Shigenobu K., Hayakawa T., Kawanishi T.: Simultaneous real-time detection of initiator- and effector-caspase activation by double FRET analysis. *J. Pharmacol. Sci.*, (in press)
- 55) 水口裕之・川端健二・櫻井文教・早川堯夫; 改良型アデノウイルスベクターを用いた造血幹細胞、間葉系幹細胞、ES細胞への高効率遺伝子導入、*炎症・再生* (日本炎症・再生医学会学会誌)、(印刷中)
- 56) 水口裕之・早川堯夫; ウイルスベクター: *Drug Delivery System*. (印刷中)
- 57) 早川堯夫、永田龍二: 安全性評価の国内規制と技術商品化のための規制、医薬品、「遺伝子組換え体安全性評価システムガイドブック」、(株) エヌ・ティー・エス、東京、(印刷中)
- 58) 早川堯夫、永田龍二: 商品化のための規制-医薬品 in 日野明寛, 田部井豊, 矢木修身 ed.: 新しい遺伝子組換え体(GMO)による安全性評価システムガイドブック-食品・医薬品・微生物・動植物-, (株) エヌ・ティー・エス、東京、(印刷中)
- 59) Kanayasu-Toyoda T, Fujino T, Oshizawa, T., Suzuki, T., Nishimaki-Mogami, T., Sato, Y., Sawada, J., Inoue, K., Shudo, K., Ohno, Y., Yamaguchi T, *J. Steroid Biochem Mol* in press.
- 60) Kusui, K., Sasaki, H., Adachi, R., Matsui, S., Yamamoto, K., Yamaguchi, T., Kasahara, T., Suzuki, K.; Ribosomal protein S18 identified as a cofilin-binding protein by using phage display library. *Mol. Cell. Biochem.*, 262, 187-193 (2004)
- 61) 長幡 操, 寺本 彰, 阿部康次, 中岡竜介, 土屋利江, ラット頭蓋冠由来骨芽細胞の ALPase 活性を促進する硫酸化ヒアルロン酸の効果 *繊維学会誌*、印刷中
- 62) Nagahata M, Nakaoka R, Teramoto A, Abe K, Tsuchiya T, The response of normal human osteoblasts to anionic polysaccharide polyelectrolyte complexes. *Biomaterials*, accepted.
- 63) Nakaoka R, Ahmed S, Tsuchiya T, Hydroxy apatite microspheres enhance gap junctional intercellular communication of human osteoblasts composed of connexin 43 and 45. *J. Biomed. Mater. Res. A*, accepted.
- 64) Saifuddin Ahmed, Toshie Tsuchiya and Yutaka Kariya, Studies on the efficacy, safety and quality of the tissue engineered productis: Enhancement of proliferation of Human mesenchymal stem cells by the new polysaccharides. *Animal Cell Technology* accepted.
- 65) Rumi Sawada, Tomomi Ito, Yoshie Matsuda, and Toshie Tsuchiya, Safety evaluation of tissue engineered medical devices using normal human mesenchymal stem cells. *Animal Cell Technology* accepted.
- 66) Nasreen Banu, Toshie Tsuchiya, Saifuddin Ahmed, and Rumi Sawada, Studies on the efficacy, safety and quality of the tissue engineered products: Effects of a catalyst used in the synthesis of biodegradable polymer on the chondrogenesis of human articular cartilage. *Animal Cell Technology* accepted.
- 67) Yuping Li, Tsutomu Nagira and Toshie Tsuchiya, Increase of the insulin secretion in hit-t15 cells: Gap Junctional Intercellular communications Enhanced by Hyaluronic Acid. *Animal Cell Technology* accepted.
- 68) Toshie Tsuchiya A useful marker for evaluating the safety and efficacy of

- tissue engineered products. ASTM, STP1452, 254-261, 2004.
- 69) Misao Nagahata, Toshie Tsuchiya et. al, A novel function of N-cadherin and Connexin43 :Marked enhancement of alkaline phosphatase activity in rat calvarial osteoblast exposed with sulfated hyaluronan, *Biochem. Biophys. Res. Commun* , 315(3), 603-611, 2004
- 70) 土屋利江, 第7章 再生医療とその周辺 再生医療をとりまく規制とその現状・今後, 立石 哲也, 田中 順三, 図解 再生医療工学, 工業調査会, 296-303, 2004.
- 71) 柳楽 勤, 土屋利江, メカニカルストレスに対する細胞応答の分子機構, 大森豊明, 生体物理刺激と生体反応, フジテクノシステム, 667-677, 2004
- 72) 土屋利江, バイオマテリアルの安全性を考える, バイオマテリアル-生体材料-, 22-2, 69-70, 2004
- 73) 土屋利江, バイオマテリアルの許認可と留意点, バイオマテリアル-生体材料-, 22-4, 258-264, 2004
- 74) Haishima Y, Matsuda R, Hayashi Y, Hasegawa C, Yagami T, Tsuchiya T, Risk assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate released from PVC blood circuits during hemodialysis and pump-oxygenation therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 274, 119-129, 2004
- 75) Saifuddin Ahmed, Toshie Tsuchiya, Novel mechanism of tumorigenesis: Increased transforming growth factor-beta 1 suppresses the expression of connexin 43 in BALB/cJ mice after implantation of poly-L-lactic acid. *J Biomed Mater Res*, 70, 335-340, 2004
- 76) Takeshi Yagami, Yuji Haishima, Toshie Tsuchiya, Akiko Tomitaka-Yagami, Hisao Kano, Kayoko Matsunaga, Proteomic Analysis of Putative Latex Allergens. *Allergy and Immunology*, 135, 3-11, 2004
- 77) 土屋利江, バイオマテリアルの安全性について組織工学用材料を中心として, 日本再生歯科医学会誌, 2, 1-8, 2004
- 78) 土屋利江, ティッシュエンジニアリング用マテリアルの製品化条件と国際標準化, 再生医療, 3巻, 5月号, 71-75, 2004
- 79) Eiji Okada, Yuka Komazawa, Masaki Kirihara, Hideshi Inoue, Naoki Miyato, haruhiro Okuda, Toshie Tsuchiya, Yoko Ymamakoshi, Synthesis of C60 derivatives for photoaffinity labeling, *Tetrahedron Letters* , 45, 527-529, 2004
- 80) Tsuchiya T, Sakai M, Ikeda H, Mashino T, Banu Y, Biocompatible biomaterials for the human chondrocyte differentiation estimated by RT-PCR method, *Animal cell technology*, 13, 475-479, 2004
- 81) Saifuddin Ahmed and Toshie Tsuchiya, Different expression on Gap junctional protein connexin43 in two strains of mice after one-month Implantation of Poly-L-Lactic acid, *Animal cell technology*, 13, 481-485, 2004
- 82) Rahman MS, Banu Y, Matsuoka A, Ichikawa A, Sakai M, Ikeda H, Tsuchiya T, Evaluation of the immuno-protective effects of the new-type of bags using ELISA and FACS-analysis, *Animal cell technology*, 13, 277-280, 2004
- 83) 土屋利江, 細胞組織医療機器等の製品化のためのガイドライン・環境整備について 高分子, 53巻, 3月号, 144-146, 2004
- 84) 土屋利江, 細胞組織医療機器等の品質・安全性確保について, 再生医療, 3巻, 2月号, 107-110, 2004
- 85) Atsuko Matsuoka, Toshie Tsuchiya, Gene expression changes in Balb/3T3 transformants induced by poly(L-lactic acid) or polyurethane film, *J. Biomed. Mater. Res*, 68A, 376-382, 2004

## 2. 学会発表

- 1) 早川 晃夫: バイオロジクスの将来展望と課題, *04-1 ポリマーフロンティア 21*, 高分子学会, 東京 (2004. 4. 23)

- 2) Takao Hayakawa: Bio-safety of Medicinal Products Derived from Urine - Current Situation in Japan- *Conference on the Bio-safety of Urinary Derived Medicinal Products*, , Buenos Aires, Argentina (April 26-27, 2004)
- 3) 早川 堯夫 : 疾患関連タンパク質プロジェクトの現状と今後の展望、**第 11 回 HAB 研究機構学術年会**、東京 (2004. 5. 18)
- 4) Nana Kawasaki, Akira Harazono, Noritaka Hashii, Satsuki Itoh, Toru Kawanishi, And Takao HAYAKAWA: Glycosylation analysis of glycoproteins by LC/MS. **第 2 回ヒトプロテオーム学会** (2004. 5) 東京
- 5) 杉田敏樹・高建青・Alexandre Learth Soares・衛藤佑介・倉知慎之輔・中山隆志・水口裕之・早川 堯夫・義江修・堤康央・真弓忠範・中川晋作; Cell Delivery System による癌遺伝子治療の最適化;**第 4 回遺伝子・デリバリー研究会**(京都); 2004 年 5 月
- 6) 衛藤佑介, 倉知慎之輔, 高建青, 堤康央水口裕之, 前田光子, 川崎 敏一, 早川 堯夫, 真弓忠範, 中川晋作; 体内動態制御を目指したバイオコンジュゲート化アデノウイルスベクターの創製;**第 4 回遺伝子・デリバリー研究会**(京都); 2004 年 5 月
- 7) Naoya Koizumi, Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Yoshiteru Watanabe, Takao HAYAKAWA: Reduction of natural adenovirus tropism to mouse liver by fiber-shaft exchange in combination with both CAR- and  $\alpha v$  integrin-binding ablation; *2<sup>nd</sup> Pharmaceutical sciences world congress* (京都); 2004 年 5 月 30 日-6 月 3 日
- 8) Jian-Qing Gao, Yusuke Eto, Shinnosuke Kurachi, Fumiko Sekiguchi, Kazufumi Katayama, Hiroyuki Mizuguchi, Takao HAYAKAWA, Yasuo Tsutsumi, Shinsaku Nakagawa, Tadanori Mayumi; Enhanced gene expression of adenovirus vector in tumor induced by the PEGylation;*2<sup>nd</sup> Pharmaceutical sciences world congress* (京都); 2004 年 5 月 30 日-6 月 3 日
- 9) Yusuke Eto, Jian-Qing Gao, Shinnosuke Kurachi, Fumiko Sekiguchi, Kazufumi Katayama, Hiroyuki Mizuguchi, Takao HAYAKAWA, Mitsuko Maeda, Koichi Kawasaki, Yasuo Tsutsumi, Shinsaku Nakagawa, Tadanori Mayumi; PEGylated adenovirus vectors containing RGD peptides show high transduction efficiency and protection ability from neutralizing antibodies; *2<sup>nd</sup> Pharmaceutical sciences world congress* (京都); 2004 年 5 月 30 日-6 月 3 日
- 10) Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Kenji Kawabata, Naokazu Inoue, Masaru Okabe, Teruhide Yamaguchi, Takao HAYAKAWA; Role of CD46 on Ad35 vector-mediated transduction. American Society of Gene Therapy, *6th Annual Meeting, Minneapolis* (2004. 6)
- 11) Takafumi Nakamura, Kah-Whye Peng, Sompong Vongpunsawad, Mary Harvey, Hiroyuki Mizuguchi, Takao HAYAKAWA Roberto Cattaneo and Stephen J. Russell; Antibody-targeted fusion has great potential as a new research tool and provides a versatile platform for novel targeted therapies. American Society of Gene Therapy, *6th Annual Meeting, Minneapolis* (2004. 6)
- 12) 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** (2004, 6) 名古屋
- 13) 萩山裕之・上阪 等・水口裕之・早川 堯夫・宮坂信之; 関節リウマチの遺伝子治療にむけたウイルスベクター発現カセットの改変;**第 25 回日本炎症・再生医学会**(東京); 2004 年 7 月 13-14 日
- 14) 細野哲司、水口裕之、形山和史、中川晋作、山口照英、真弓忠範、早川 堯夫; PPAR $\gamma$  に対する siRNA 発現アデノウイルスベクターを用いた培養マウス脂肪前駆細胞の分化抑制;**第 20 回日本 DDS 学会** (東京); 2004 年 7 月 15-16 日
- 15) 櫻井文教、水口裕之、川端健二、井上直和、岡部勝、佐々木朋美、福島敬、山口照英、早川 堯夫; CD46 トランスジェニックマウスを用いた 35 型アデノウイルスベクターの遺伝子導入特



- 性の解析; **第20回日本DDS学会** (東京); 2004年7月15-16日
- 16) 倉知慎之輔、衛藤佑介、高建青、堤康央、水口裕之、早川堯夫、真弓忠範、中川晋作; 体内動態制御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 in vivo 遺伝子発現特性に関する研究; **第20回日本DDS学会** (東京); 2004年7月15-16日
- 17) Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Satsuki Itoh, Akira Harazono, Yukari Matsuishi, Toru Kawanishi, and Takao HAYAKAWA: Isotope tag method for quantitative glycome analysis by LC/MS. *1<sup>st</sup> Workshop for human disease glycomics/proteome initiative of HUPO*. (2004. 8) Osaka
- 18) 川崎ナナ, 伊藤さつき, 原園 景, 橋井則貴, 松石 紫, 川西 徹, 早川堯夫: LC/MS を用いたゲル内糖タンパク質の糖鎖解析. 科学研究費補助金特定領域研究「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節」**第2回夏期シンポジウム** (2004. 8) かずさ
- 19) Kenji Kawabata, Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Takao HAYAKAWA: Development of an adenoviral vector system for embryonic stem (ES) cells; **第10回日本遺伝子治療学会** (東京); 2004年8月5-6日
- 20) Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Kenji Kawabata, Naokazu Inoue, Masaru Okabe, Teruhide Yamaguchi, Takao HAYAKAWA: Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction into human CD46-transgenic mice.; **第10回日本遺伝子治療学会** (東京); 2004年8月5-6日
- 21) Ke-Qin Xin, Kenji Someya, Fumihiko Takeshita, Shin Sasaki, Hiroyuki Mizuguchi, Takao HAYAKAWA, Kenji Hamajima, Mitsuo Honda, Kenji Okuda; Prime-boost vaccination with plasmid DNA and a chimeric adenovirus type5 vector with type35 fiber induces persistent protective immunity against HIV in mice; **第10回日本遺伝子治療学会** (東京); 2004年8月5-6日
- 22) Hong Xin, Masahiro Kanehira, Sita Andarini, Toshiaki Kikuchi, Hiroyuki Mizuguchi, Takao HAYAKAWA, Toshihiro Nukiwa, Yasuo Saijo; Tumor-targeting immunogene therapy by mesenchymal stem cells expressing CX3CL1; **第10回日本遺伝子治療学会** (東京); 2004年8月5-6日
- 23) Hidetoshi Sumimoto, Makoto Miyagishi, Hiroyuki Miyoshi, Hiroyuki Mizuguchi, Shizuko Yamagata, Ayako Shimizu, Takao HAYAKAWA, Kazunari Taira, Yutaka Kawakami; Gene therapy for human cell lung carcinoma by inactivation of Skp-2 with virally mediated RNA interference. ; **第10回日本遺伝子治療学会** (東京); 2004年8月5-6日
- 24) Yusuke Eto, Jian-Qing Gao, Fumiko Sekiguchi, Shinnosuke Kurachi, Kazufumi Katayama, Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Takao HAYAKAWA, Yasuo Tsutsumi, Tadanori Mayumi, Shinsaku Nakagawa; PEGylation of adenovirus vector enhances gene expression in tumor via systemic administration ; **第10回日本遺伝子治療学会** (東京); 2004年8月5-6日
- 25) 細野哲司、水口裕之、中川晋作、山口照英、真弓忠範、早川堯夫; ドキソサイクリン誘導型 siRNA 発現アデノウイルスベクターの開発; **第63回日本癌学会総会** (福岡); 2004年9月29日-10月1日
- 26) 岡田直貴, 水口裕之, 早川堯夫, 義江 修, 中川晋作, 藤田卓也, 山本 昌; リンパ組織指向性樹状細胞の創製と癌免疫療法への応用; **第63回日本癌学会総会** (福岡); 2004年9月29日-10月1日
- 27) 住友秀敏, 宮岸真, 三好浩之, 水口裕之, 山形志津子, 清水亜矢子, 早川堯夫, 多比良和誠, 河上裕; Skp-2 RNAi を利用した肺小細胞癌の遺伝子治療; **第63回日本癌学会総会** (福岡); 2004年9月29日-10月1日
- 28) Akira Harazono, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, and Takao HAYAKAWA: Site-specific glycosylation analysis of glycoproteins by LC/MS/MS: Identification of glycopeptides on the basis of product ion

- spectra. **第 77 回日本生化学会大会** (2004. 10) 横浜
- 29) Noritaka Hashii, Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Toru Kawanishi, and Takao HAYAKAWA: Profiling of N-glycans in kidney of mice by GCC-LC/MS. **第 77 回日本生化学会大会** (2004. 10) 横浜
- 30) Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Toru Kawanishi, and Takao HAYAKAWA: N-glycosylation analysis of glycoprotein in polyacrylamide gel by LC/MS. **第 77 回日本生化学会大会** (2004. 10) 横浜
- 31) Shingo Niimi, Mizuho Harashima, Youko Nagaoka, Chieko Saito, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao HAYAKAWA: Mechanism of inhibition of dexamethasone-dependent induction of tyrosine aminotransferase activity by the proteasome inhibitor lactacystin. **第 77 回日本生化学会大会** (2004. 10) 横浜
- 32) Mizuho Harashima, Shingo Niimi, Masaru Gamou, Masashi Hyuga, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao HAYAKAWA: Expression of annexin III in primary cultured rat hepatocytes and its role on DNA synthesis. **第 77 回日本生化学会大会** (2004. 10) 横浜
- 33) Toshie KANEYASU-TOYODA, Tadashi OSHIZAWA, Takayoshi SUZUKI, Eriko UCHIDA, Takao HAYAKAWA, Effect of siRNA of PKC $\epsilon$  on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils. **第 77 回日本生化学会大会** (2004. 10) 横浜
- 34) Akira Harazono, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, and Takao HAYAKAWA: Site-specific N-glycosylation analysis of human apolipoprotein B100 using LC/ESI/MS/MS. *Join meeting of the Japanese and American consortia for glycomics*. (2004. 11) Hawaii
- 35) 川崎ナナ, 原園 景, 伊藤さつき, 橋井則貴, 松石 紫, 川西 徹, 早川堯夫: 抗体の LC/MS. **バイオリジクスフォーラム第 2 回学術集会**「新しいバイオリジクスの開発動向と規制」(2004. 11) 東京
- 36) 杉田敏樹, 高 建青, 金川尚子, 畑中 豊, 谷 洋一, 中山隆志, 義江 修, 水口裕之, 早川堯夫, 岡田直貴, 堤 康央, 真弓忠範, 中川晋作: 抗腫瘍免疫細胞の体内動態を制御する Cell Delivery System による癌免疫療法の最適化., **第 3 回ファーマ・バイオフィォーラム 2004**, 東京, 2004 年 11 月
- 37) 高 建青, 杉田敏樹, 金川尚子, 飯田恵介, 中山隆志, 水口裕之, 早川堯夫, 義江 修, 堤 康央, 真弓忠範, 中川晋作: Cell Delivery System に基づく癌免疫療法の最適化., **第 54 回日本薬学会近畿支部総会・大会**, 2004 年 11 月
- 38) 岡田直貴, 中川晋作, 畑中 豊, 谷 洋一, 中山隆志, 義江 修, 水口裕之, 早川堯夫, 藤田卓也, 山本 昌; ケモカイン発現ベクターの腫瘍内投与による抗腫瘍効果と免疫細胞浸潤; **第 34 回日本免疫学会総会・学術集会** (札幌); 2004 年 12 月 1-3 日
- 39) 住本秀敏, 山形志津子, 宮岸真, 多比良和誠, 水口裕之, 早川堯夫, 河上裕; RNA 干渉法による、ヒト樹状細胞 TLR4 シグナルにおける SOCS-1 のネガティブフィードバック機構の解析; **第 34 回日本免疫学会総会・学術集会** (札幌); 2004 年 12 月 1-3 日
- 40) 大和 友子, 向 洋平, 柴田寛子, 川村真紀, 阿部康弘, 今井 直, 大川亜紀子, 中川晋作, 真弓忠範, 鎌田春彦, 早川堯夫, 堤 康央: 細胞内薬物導入キャリアとしての細胞内移行ペプチドの特性評価., **第 34 回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004 年 12 月.
- 41) 川村真紀, 柴田寛子, 向 洋平, 大和友子, 阿部康弘, 今井 直, 大川亜紀子, 中川晋作, 真弓忠範, 鎌田春彦, 早川堯夫, 堤 康央: フェージ表面提示法を利用したウイルス感染を担うペプチド探索法の構築., **第 34 回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004 年 12 月.
- 42) 大川亜紀子, 向 洋平, 柴田寛子, 川村真紀, 大和友子, 阿部康弘, 今井 直, 中川晋作, 真弓忠範, 鎌田春彦, 早川堯夫, 堤 康央: 抗体療法最適化を目指したリジン欠損一本鎖抗体の創製., **第 34 回日本免疫学会総会・学術集会**,

- 札幌, 2004年12月
- 43) 阿部康弘, 柴田寛子, 向 洋平, 川村真紀, 大和友子, 今井 直, 大川亜紀子, 中川晋作, 真弓忠範, 鎌田春彦, 早川堯夫, 堤 康央: サイトカイン療法の最適化を目指した新規部位特異的バイオコンジュゲーション法の開発とその評価., **第34回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004年12月.
- 44) 今井 直, 向 洋平, 柴田寛子, 大和友子, 川村真紀, 阿部康弘, 大川亜紀子, 中川晋作, 真弓忠範, 鎌田春彦, 早川堯夫, 堤 康央: フェージ抗体ライブラリによる抗原特異的モノクロナール抗体の網羅的な迅速単離., **第34回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004年12月.
- 45) 向 洋平, 柴田寛子, 中川晋作, 真弓忠範, 鎌田春彦, 早川堯夫, 堤 康央: 医薬価値に優れた機能性人工TNF- $\alpha$ の創製とその疾病治療への展開., **第34回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004年12月.
- 46) 柴田寛子, 向 洋平, 中川晋作, 真弓忠範, 鎌田春彦, 早川堯夫, 堤 康央: 癌免疫療法の最適化を目指した機能性サイトカインの創出システムの開発とその評価., **第34回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004年12月.
- 47) 鎌田春彦, 角田慎一, 山本陽子, 真弓忠範, 早川堯夫, 堤 康央: サイトカインの新規バイオコンジュゲーション法の開発とその有用性評価., **第34回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004年12月.
- 48) 杉田敏樹, 畑中 豊, 谷 洋一, 中山隆志, 義江修, 水口裕之, 早川堯夫, 岡田直貴, 堤 康央, 真弓忠範, 中川晋作: IL-12 及び CCL27 発現アデノウイルスベクターの併用投与による抗腫瘍効果と免疫系細胞の浸潤., **第34回日本免疫学会総会・学術集会**, 札幌, 2004年12月
- 49) 衛藤佑介, 高 建青, 倉知慎之輔, 森重智弘, 櫻井文教, 水口裕之, 早川堯夫, 堤 康央, 真弓忠範, 中川晋作: 体内動態制御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腫瘍集積性に関する検討; **日本薬学会第20年会** (東京) 2005年3月
- 50) 小泉直也, 近藤昌夫, 水口裕之, 中西剛, 藤井まき子, 早川堯夫, 中島恵美, 田中慶一, 渡辺善照; 胎盤由来細胞への改良型アデノウイルスベクターによる遺伝子導入効率の検討; **日本薬学会第20年会** (東京) 2005年3月 .
- 51) Shingo Niimi, Mizuho Harashima, Masaru Gamou, Masashi Hyuga, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao HAYAKAWA: Expression of annexin III in primary cultured rat hepatocytes and its role on DNA synthesis. **第3回アネキシン国際会議** (2005.3) スイス
- 52) 早川堯夫: ファーマコジェノミクスを活用する創薬と国際化: ICH の新しい方向 (レギュラトリーサイエンス部会シンポジウム, ファーマコジェノミクスが創薬に及ぼす意義) **日本薬学会第125年会** (2005. 3. 31) 東京
- 53) 原園 景, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 橋井則貴, 松石 紫, 川西 徹, 早川堯夫: LC/ESI/MS/MS によるヒト Ceruloplasmin の部位特異的糖鎖解析. **日本薬学会第125年会** (2005. 3) 東京
- 54) 鈴木琢雄, 最上 (西巻) 知子, 河合洋, 小林哲, 佐藤陽治, 橋本敏弘, 浅川義範, 井上和秀, 大野泰雄, 早川堯夫, 川西徹: 新規 FXR 活性化化合物による遺伝子発現制御 **日本薬学会第125年会** (2005. 3) 東京
- 55) 小林 哲, 河合 洋, 鈴木琢雄, 川西 徹, 早川堯夫: MALDI-TOF MS におけるタンパク質のシグナル増強 Part2, **日本薬学会第125年会** (2005. 3) 東京
- 56) 小木 美恵子, 押澤 正, 内田 恵理子, 永田 龍二, 早川堯夫, 村田 充弘, 日方 幹男, 佐藤 功栄, 岩田 明子, 山口 照英: 医薬品の安全性確保のための高感度ウイルス検出法の開発ーポリエチレンイミン結合磁気ビーズを用いたウイルス濃縮機構の検討ー, **日本薬学会第125年会** (2005.3) 東京
- 57) 小泉直也, 水口裕之, 中川晋作, 真弓忠範, 渡辺善照, 早川堯夫: 標的細胞へのターゲティングを目指した抗体結合能を持つアデノウイルスベクターの開発; **日本薬学会第125年会** (2005.3) 東京
- 58) 川端健二, 水口裕之, 櫻井文教, 山口照英, 早川堯夫: ES 細胞に対する高効率アデノウイルス

- スペクターの開発；**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 59) 増山茜、近藤昌夫、高橋梓、藤井まき子、水口裕之、早川堯夫、渡辺善照；ウエルシュ菌エンテロトキシンC末断片の吸収促進作用におけるClaudin-4の関与；**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 60) 丹羽貴子、吉川友章、小田淳史、下川摩里子、岡田直貴、堤康央、水口裕之、早川堯夫、麻生定光、太田成男、真弓忠範、中川晋作；変異型 Bcl-X<sub>L</sub> (FNK) 遺伝子導入樹状細胞を用いた腫瘍ワクチン療法の最適化-1；**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 61) 吉川友章、丹羽貴子、小田淳史、下川摩里子、岡田直貴、堤康央、水口裕之、早川堯夫、麻生定光、太田成男、真弓忠範、中川晋作；変異型 Bcl-X<sub>L</sub> (FNK) 遺伝子導入樹状細胞を用いた腫瘍ワクチン療法の最適化-2；**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 62) 杉田敏樹、高建青、金川尚子、飯田恵介、本村吉章、畑中豊、谷洋一、中山隆志、義江修、水口裕之、早川堯夫、岡田直貴、堤康央、真弓忠範、中川晋作；IL-12とCCL27の併用による抗腫瘍効果増強機構の解明；**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 63) 阿部康弘、川村真紀、岡本貴行、柴田寛子、大川亜紀子、向洋平、大和友子、今井直、中川晋作、真弓忠範、鎌田春彦、角田慎一、早川堯夫、堤康央；蛋白質断片化ペプチドライブラリを利用した蛋白質機能ドメインの新規探索システムの構築—その2.、**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 64) 大川亜紀子、川村真紀、岡本貴行、柴田寛子、阿部康弘、野村鉄也、向洋平、大和友子、山名田夏枝、今井直、中川晋作、真弓忠範、鎌田春彦、角田慎一、早川堯夫、堤康央；ファージ表面提示法を駆使した新規細胞内移行ペプチドの網羅的創出システムの確立.、**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 65) 金川尚子、高建青、杉田敏樹、飯田恵介、本村吉章、衛藤佑介、水口裕之、早川堯夫、堤康央、真弓忠範、中川晋作；IL-12発現アデノウイルスベクターを用いたIL-12非奏功性腫瘍に対する治療効果に関する検討；**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 66) 倉知慎之輔、衛藤佑介、高建青、森重智弘、櫻井文教、水口裕之、早川堯夫、堤康央、真弓忠範、中川晋作；Polyethylene Glycol修飾アデノウイルスベクターの腫瘍集積性に関する検討；**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 67) 大和友子、向洋平、柴田寛子、川村真紀、山名田夏枝、阿部康弘、今井直、大川亜紀子、野村鉄也、中川晋作、真弓忠範、鎌田春彦、角田慎一、早川堯夫、堤康央；細胞内薬物導入キャリアとしての細胞内移行ペプチドの特性評価.、**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 68) 向洋平、大和友子、柴田寛子、川村真紀、山名田夏枝、阿部康弘、今井直、大川亜紀子、野村鉄也、中川晋作、真弓忠範、鎌田春彦、角田慎一、早川堯夫、堤康央；次世代ターゲティング療法を目指した新規細胞内移行ペプチドの創製.、**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 69) 柴田寛子、川村真紀、岡本貴行、阿部康弘、大川亜紀子、野村鉄也、向洋平、大和友子、山名田夏枝、今井直、中川晋作、真弓忠範、鎌田春彦、角田慎一、早川堯夫、堤康央；蛋白質断片化ペプチドライブラリを利用した蛋白質機能ドメインの新規探索システムの構築—その1.、**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 70) 吉川友章、丹羽貴子、小田淳史、下川摩里子、岡田直貴、堤康央、水口裕之、早川堯夫、麻生定光、太田成男、真弓忠範、中川晋作；変異型 Bcl-XL (FNK) 遺伝子導入樹状細胞を用いた腫瘍ワクチン療法の最適化-2.、**日本薬学会第 125 年会** (2005.3) 東京
- 71) Sato Y, Mori S, Nakamura R, Ishida S, Sawada J, Miyazawa H, Yamaguchi T, Inoue K, Ohno Y Microarray analysis of coronary artery smooth muscle cells stimulated by PPAR alpha and gamma ligands. 第 77 回日本薬理学会年会 (2004年3月)
- 72) Sato Y, Nakamura R, Yoshida H, Yamaguchi T, Ohno Y, Nagao T, Inoue K Thyroid hormone