

siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用

所属：国立感染症研究所ウイルス第1部

研究者：森川 茂

研究要旨：新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索を行う目的で、siRNA library を作製した。siRNA library から最も遺伝子阻害効果を持つ siRNA 配列を迅速に決定する方法のひとつの試みとして、SARS ウイルスの細胞側受容体である ACE2 に対する siRNA library を作製し、1,200 個のプラスミドを 60 のグループに分けて細胞に導入する実験系で siRNA の効果を評価できる系を確立した。一方、siRNA library を細胞に導入後ワクチニアウイルスを感染させると生存する細胞が観察されたので、siRNA library の中にはこのウイルスの複製に必須の遺伝子をノックダウンする siRNA が存在することが示唆された。また、SARS ウイルス感染細胞で細胞死を誘導する遺伝子とそれを回避する遺伝子の検索を行った結果、MAPK の一つである p38 の活性化が SARS ウイルス感染 Vero E6 細胞に細胞死を誘導すること、ERK や Akt の活性化は細胞死を回避することが明らかとなった。これらの遺伝子に対する siRNA は、siRNA library の実験を実施するにあたりコントロールになると考えられた。また、Vero E6 細胞には SARS ウイルスに感染しても生き残る細胞が存在する。そこで Vero E6 細胞をクローン化し全て死滅するクローンを得た。このクローンは、siRNA library の評価に有用であると考えられる。一方、蚊の細胞においては、JNK シグナル伝達系の活性化はエンドサイトーシスを促進して西ナイルウイルスの侵入を容易にする。蚊の培養細胞を JNK 阻害剤処理する実験から、JNK の活性化がアポトーシスを抑制することがわかり、JNK シグナル伝達系は多機能であることが明らかになった。JNK に対する siRNA を作製し、幼虫にマイクロインジェクションすることにより成虫になる割合を激減させることに成功した。このように、JNK の siRNA は蚊の成長や西ナイルウイルスの感染を阻害することが期待された。

分担研究者

(1) (株) ジェノファンクション・研究部長
鈴木要介

(2) 国立感染症研究所ウイルス第1部室長
高崎智彦

(3) 国立感染症研究所ウイルス第1部主任研究官
水谷哲也

(4) 国立感染症研究所ウイルス第1部長

倉根一郎

A. 研究目的

2002年 SARS ウイルスは種の壁を越え、国境を越えて世界中に大きな脅威を与えた。西ナイルウイルスは 1999年突如米国に上

陸し、瞬く間に全米に広まり土着のウイルス性疾患になった。また、1980年に世界保健機構(WHO)により天然痘の根絶宣言は出されたが、未だこのウイルスがテロリストに使われる恐怖は根強く残っている。さらに2003年には輸入動物を介してサル痘ウイルスが米国に侵入し71名のヒト患者が発生した。これらの新興・再興感染症に立ち向かうためには、迅速な診断法の確立とともにウイルスが出現する背景や病原性を理解する必要がある。一方、近年バイオテクノロジーは急速な進歩を遂げ、siRNAの技術により遺伝子の発現・翻訳をほぼ完璧に阻害することが可能になった。さらに、ジェノファンクション社が開発したsiRNA発現ライブラリーの作製技術により、標的とするウイルス遺伝子や細胞で発現する個々の遺伝子を網羅的に阻害する実験系が確立された。ウイルスは細菌とは異なり、その増殖の場として細胞を必要とし、細胞の蛋白質を利用して複製を行っている。細胞の遺伝子を元に作製されたsiRNA発現ライブラリーを細胞に導入すると、個々の遺伝子がノックダウンした細胞の集合体を得られる。この細胞群にウイルスを感染させると、ウイルスの増殖に必須の蛋白質がノックダウンされた細胞はウイルスによる細胞障害から免れて生き残ることが期待される。siRNA技術は近い将来の臨床応用に向けて研究が進んでいる。本研究は、ウイルスの複製に必須の遺伝子をノックダウンできるsiRNAを新しい抗ウイルス薬として開発することを最終目的とする。

B. 研究方法

1. siRNA libraryの作製：

ジェノファンクション社が確立した2本鎖DNAを原料としたsiRNA発現ベクターライブラリーの作製方法を用いて、Vero E6細胞、HeLa細胞のmRNAからcDNAを作製後、siRNA libraryを構築した。同様の方法で、SARSウイルスの受容体であるヒト由来のアンギオテンシン変換酵素II (ACE-2)についてもsiRNA libraryを構築した。

2. 昆虫JNK siRNAの作製と解析：

ヒトスジシマカ由来の細胞C6/36からPCR法で、JNKの遺伝子を増幅した。このPCR用プライマーにはT7 RNAポリメラーゼの認識配列が付加されているので、PCR産物精製後にT7 RNAポリメラーゼによってsiRNAを作製した。

3. 蚊の幼虫へのJNKのsiRNAマイクロインジェクションによる効果：

JNKのsiRNAは大分大学・江下博士の協力により、3齢幼虫へマイクロインジェクションをおこない、成虫になる割合でsiRNAの効果を実験した。

4. 網羅的siRNA libraryによるポックスウイルスに対する効果の検討：

ワクチニアウイルス感受性細胞であるVero E6細胞の網羅的siRNA libraryを導入した細胞にウイルスを感染させ、細胞障害活性の抑制効果を検討した。さらに48時間後に生き残った細胞からHirt法によりプラスミドを回収し、プロモーター及びターミネーターを挟むようにPCRを行ない、PCR産物をVero E6細胞に導入して、効果を検討した。

5. SARS感染細胞におけるシグナル伝達系

の解析：

SARS ウイルスを Vero E6 細胞に感染後、経時的に蛋白質を抽出し、2-ME 添加の条件で 10%もしくは 10-20%のグラジエントゲルを用いて、SDS-PAGE をおこなった。メンブランに転写後、ブロッキングをおこない各種一次抗体を反応させた。約 18 時間後にメンブランを洗浄後、二次抗体を 30 分反応させた。抗原抗体反応の検出は発光法と発色法を用いて行った。

6. SARS ウイルスのレセプター蛋白 ACE2 の siRNA library による感染阻止効果の検討：

S 蛋白質発現 plasmid をトランスフェクションした 293T 細胞に Dr.Whitt より分与された VSVΔG*-G ウイルス (VSV ウイルスの膜タンパク質を欠き、代わりに GFP 遺伝子を組み込んである) を感染させ、24 時間後、SARS コロナウイルスの S 蛋白質を被った VSV シュードタイプウイルスを回収した。ACE2 のシュードタイプウイルスを siRNA library を導入した Vero E6 細胞に感染させ、感染効率を解析した。また、ACE2 発現レベルを Western blot 法で解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒト検体を用いず、また実験動物も使用していない。遺伝子組換え実験は、文部科学省の遺伝子組換え実験の承認を得て行っている。

C. 研究成果

1. siRNA library の構築

siRNA 発現ライブラリーの調製は多段階の操作であるため、その調製効率は極めて低い。本研究において検討した結果、各

段階における実験条件を厳密に調整し最適化を行うことにより、効率よく siRNA 発現ライブラリーを調製することに成功した。SARS ウイルス・ワクチニアウイルス・西ナイルウイルスに共通の感受性細胞 (VeroE6・HeLa) で発現している遺伝子を網羅的にカバーする siRNA 発現ライブラリーの作製、および SARS ウイルスのレセプターである ACE-2 の全配列をカバーする siRNA 発現ライブラリーを効率よく作製することに成功した。

2. siRNA の基礎的研究

siRNA library の中から効率よく目的の siRNA 発現プラスミドを選択する方法について検討するために、特定の遺伝子 ACE-2 について siRNA library を構築し、3 つの方法で siRNA 効果の評価をおこなった。この ACE-2 siRNA library は理論上約 10^5 種類の ACE-2 遺伝子に対する siRNA を含む。本研究では、ACE-2 siRNA library を有する大腸菌 20 コロニーをひとつのグループとして、60 グループ (合計 1,200 遺伝子) からプラスミドを抽出した。

(1) VSV-S シュードタイプウイルス(VSV-S)は自立増殖できないので安全性が高いという特徴を持ち、このウイルスの感染の有無は GFP の発現を指標にして感染後 7 時間で定量的に判定可能という利点を持つ。この VSV-S は ACE-2 を発現している Vero E6 細胞に感染して GFP が発現する。ACE-2 siRNA library の 60 グループを個別に Vero E6 細胞に導入し、48 時間後に VSV-S 感染を感染させ、その 7 時間後に GFP の発現を阻止できるグループを選出した。その結果、明らかに GFP による蛍光強度が低い 4 つのグループ (No. 1, 4, 29,

50) を得ることができた。

(2) HeLa 細胞に安定に ACE-2 を発現させた細胞(HeLa-ACE-2)を作製し、上記の 60 グループの ACE-2 siRNA 発現プラスミドを導入した。48 時間後に蛋白質を抽出し、Western blot をおこない、ACE-2 の発現量を比較した。その結果、特にグループ No. 1 のプラスミドを導入した細胞の ACE-2 の発現が阻害されていた。また、グループ No. 35 や 41 も阻害できることが確認された。

(3) ACE-2 を発現していない 293T 細胞に、ACE-2 発現プラスミドと ACE-2 siRNA library の各グループを同時に導入し、48 時間後の蛋白質について Western blot をおこない、ACE-2 の発現量を比較した。その結果、グループ No.11, 15, 19, 30, 31, 35, 37, 41, 42, 48, 50 の siRNA 導入細胞で ACE-2 発現量の低下が認められた。

以上、3 通りの実験系で ACE-2 の発現を効果的に阻害できる ACE-2 siRNA プラスミドの検索を行ったが、全ての実験系に共通して効果のあるプラスミドは得られなかった。しかし、グループ No.1, 35, 41, 50 については、3 つの実験系の内 2 つで阻害効果が認められた。

3. ワクチニアウイルスに対する siRNA の効果

siRNA を濃縮するための条件設定を中心に実験をおこなった。ワクチニアウイルスを Vero E6 細胞に感染させると、ウイルス感染とトランスフェクションによるストレスのために通常よりもやや早い時間で細胞障害が観察された。一方、siRNA をトランスフェクションしていない細胞では生き残る細胞が皆無であったので、siRNA library をトランスフェ

クションして生き残った細胞があれば、siRNA の効果が得られたと判定することにした。siRNA library を導入した Vero E6 細胞 90 グループにワクチニアウイルスを感染させ、48 時間後に生存細胞があるグループが 6 グループあった。これらから、プレートや細胞表面に沈着している siRNA プラスミドを除去するために洗浄を繰り返し行ない、Hirt 法でこれらの細胞からプラスミドを抽出した。しかし、回収されたプラスミドは量が少なかったため、PCR 法で promoter を含む領域を増幅して精製し再びトランスフェクションし、ワクチニアウイルスを感染させた。6 グループのうち 4 グループから回収した DNA からの PCR 産物をトランスフェクションした細胞で、ワクチニアウイルスによる細胞障害活性の低下が認められたが、生存細胞は認められなかった。これら 4 グループからの PCR 産物を pGEM-Teasy プラスミドにクローニングし、10 クローンを 1 群にして 20 群 (200 クローン) 毎、Vero E6 細胞にトランスフェクション後ウイルスを感染させたが生存細胞は、いずれのグループ由来プラスミドでも見られなかった。

4. SARS 感染細胞におけるシグナル伝達系の解析

SARS ウイルスはワクチニアウイルスや西 Nile ウイルスよりも、感染後の早い時間 (24 時間) で Vero E6 細胞に強い細胞障害を起こすという特徴がある。もし、siRNA によって標的遺伝子の発現抑制が不完全な場合には、SARS ウイルスの複製能力の方が強いために細胞障害を回避できず、siRNA は回収できないと考えられる。一方、後述するようにウイルス感染による死を免れて持続感染細胞とし

て増殖する細胞が存在することが明らかとなった。それゆえ、本研究の第一目的として、SARS ウイルス感染細胞の細胞障害における責任遺伝子を同定し、siRNA library を評価するためのコントロールとすることに設定した。

SARS ウイルスを Vero E6 細胞に感染させると、caspase3, 6, 7 が活性化し、アポトーシスを起こす。次に、ウイルス感染により活性化してくるシグナル伝達系を詳細に調べてみると、p38, JNK, ERK などの MAPK や、PI3K/Akt, JAK/STAT3 などが活性化されていることが明らかになった。このうち、ERK, PI3K/Akt はアポトーシスを抑制する働きをしていると考えられた。p38 は阻害剤を添加することで SARS ウイルスによるアポトーシスを遅延できることから、アポトーシスを誘導する働きがあることがわかった。STAT3 はアポトーシスを抑制する遺伝子を発現することが知られているが、p38 の活性化は STAT3 の不活性化を誘導する結果、アポトーシスを促進していた。

実際に、Vero E6 細胞由来の siRNA library を Vero E6 細胞に導入し、48 時間後に SARS ウイルスを感染させると、わずかに生き残る細胞が観察された。しかし、siRNA を導入しない細胞でもウイルスによる死を免れ、生き残る細胞が極く少数存在することを発見した。このことは、siRNA の効果のあった細胞と自然に生き残る細胞の区別ができないことを示しているため、siRNA library の評価を困難にすると考えられる。そこで、このような細胞についての詳細な解析を試みた。この細胞はその後ウイルス粒子を産生しながら分裂を繰り返す、ウイルスによる細胞死は起こさなかった。このような持続感染細胞は、特定の遺伝子配列を有するウイルスによって樹立され

るのではなく、約 1,500 個の細胞に 1 個の割合で持続感染細胞になる性質をもつ細胞が出現してくることが明らかになった。さらに、持続感染が成立するためには、少なくとも JNK と Akt の活性化が必要であることがわかった。また、親細胞をクローニングしてウイルスを感染させると、持続感染細胞になりやすい細胞となりにくい細胞があった。

5. 西ナイルウイルスに対する siRNA

JNK の阻害剤を添加した蚊の細胞では、西ナイルウイルスの感染が阻害される。西ナイルウイルスはエンドサイトーシスという機構によって細胞に進入するが、JNK の阻害剤はエンドサイトーシスを阻害していることがわかった。このように、蚊における JNK の活性化は生命維持やウイルス感染防御のために重要であると考えられる。しかし、蚊およびその幼虫に遺伝子を導入する方法は未だ確立されていないのが現状である。そこで、本研究では JNK の siRNA を蚊の幼虫に導入する方法を考案することを第一の目的とした。これまでの我々の研究成果から蚊における JNK の働きは多機能に及ぶことが示唆されている。哺乳類の細胞では JNK はアポトーシスに重要な役割を果たしていることが知られているが、アポトーシスを促進するか抑制するかは細胞によって異なる。そこで、JNK のアポトーシスにおける役割をさらに検討する目的で、ヒトスジシマカ由来の C6/36 細胞に高温ストレスを与えてアポトーシスを誘導し、JNK 阻害剤を添加してアポトーシスを阻害できるか否かについて検討した。この細胞は 45 度の高温培養では約 25%の細胞がアポトーシスを起こしたが、あらかじめ JNK

阻害剤を添加して JNK を不活性化しておくことにより、約 70%の細胞がアポトーシスを起すことが明らかとなった。このことから、蚊の JNK は C6/36 細胞においては、アポトーシスによる死から回避する役割を果たしていると考えられた。

さらに、ヒトスジシマカ (*Aedes Albopictus*) の 1 齢幼虫を JNK 阻害剤存在下で飼育すると、正常な脱皮が阻害され発育不全により死亡することが明らかとなった。この現象は他の *Aedes* 属(*Aegypti*)でも見られた。このことは、*in vivo* でも C6/36 細胞で見られたように JNK がアポトーシスを抑制していることが示唆する。次に JNK の siRNA が、阻害剤と同様の効果を持つか否かについての検討をおこなった。JNK の siRNA を作製し 3 齢幼虫にマイクロインジェクション法により導入した結果、脱皮を阻害することに成功し成虫になる割合は激減した。

D. 考察

siRNA library を 10-20 クローン毎にグループに分け、阻害効果のあったグループについて詳細に検討するという方法は、比較的短時間で成果が得られるという利点があった。特定の遺伝子に対する siRNA library を構築して、最も阻害効果のある siRNA プラスミドを得るためには有用であると考えられた。しかし、細胞の全 RNA を網羅的にカバーする siRNA library の場合にはクローン数が極めて多いため、この方法で検討することは不可能である。そこで、siRNA library を細胞にトランスフェクションし、ウイルス感染後に生き残った細胞からプラスミドを回収する方法が最良と思われる。実際にワクチニアウイルス感染細胞では、siRNA の導入により生存した細胞が観

察されたが、プラスミドの回収量が極端に少なく次のスクリーニングに用いることができない、という問題が生じた。本研究では PCR による増幅を試み 2 次スクリーニングを行った結果、細胞障害活性の遅延が認められた。そこで、PCR 産物から再度 library を作製して 3 次スクリーニングを行ったが、良好な結果は得られておらず改良が必要である。今後の改良として、siRNA library をシャトルベクター化するか、レトロウイルスベクターを導入して siRNA 発現細胞クローンを得る方向で検討する予定である。

SARS ウイルスでは、siRNA を導入しなくても生き残り持続感染している細胞があることを発見し siRNA library の評価を困難にすると考えられたが、細胞をクローン化することで、持続感染細胞になりにくいクローン細胞を選択することに成功したので、今後の実験に用いることにした。また、SARS ウイルス感染細胞中で細胞死を促進するシグナル伝達系として p38 MAPK、抑制するシグナルとして ERK や Akt を同定した。これらの遺伝子に対する siRNA は、siRNA library を評価するための良いコントロールになると考えられる。

西ナイルウイルスは蚊が媒介するという特徴があり、蚊でのウイルス感染防御が重要であると考えられた。蚊の細胞において JNK シグナル伝達系の活性化は、西ナイルウイルスの感染を促進し、アポトーシスを抑制していることを明らかにした。また、JNK の阻害剤と siRNA を幼虫に導入すると脱皮が阻害されることがわかり、このシグナルの不活性化は死に繋がることを明らかにした。このような標的蛋白質は他にも多く存在すると考えられ、siRNA library を作製し網羅的に解析する必要がある。また、この研究成果は、新し

い殺虫剤としての開発の可能性を示唆する。

以上のように、初年度は siRNA library の導入方法、評価方法について検討し、また、特定遺伝子に対する siRNA の効果について成果を得た。

E. 結論

新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索を行う目的で、siRNA library を作製した。siRNA library から最も遺伝子阻害効果を持つ siRNA を選択する評価系のモデルとして、SARS ウイルスの受容体蛋白である ACE-2 に対する siRNA library を作製し、20 個のプラスミドを 1 グループにまとめて細胞に導入して評価した結果、siRNA の標的がウイルス遺伝子やウイルスレセプターのようにある程度絞られる場合には、このような siRNA 評価系が有効であることが明らかになった。

siRNA library を細胞に導入後ワクチニアウイルスを感染させると生存する細胞が観察されたので、siRNA library の中にはこのウイルスの複製に必須の遺伝子をノックダウンする siRNA が存在することが示唆された。

SARS ウイルス感染細胞では、MAPK の一つである p38 の活性化が感染 Vero E6 細胞に細胞死を誘導すること、ERK や Akt の活性化は細胞死を回避することが明らかとなった。また、Vero E6 細胞には SARS ウイルスに感染しても生き残る細胞が存在する。そこで Vero E6 細胞をクローン化し全て死滅するクローンを得た。このクローンは、siRNA library の評価に有用であると考えられる。

JNK はヒトスジシマカ由来の C6/36 細胞をアポトーシスによる死から回避する役割を果たしていることが明らかとなった。また、JNK

の siRNA は蚊の幼虫の脱皮におけるアポトーシスを阻害することにより、発育を阻害できることが証明された。抗西ナイルウイルス効果のある siRNA を幼虫に導入することにより、ウイルス耐性の蚊を作出することが可能になると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shuzo Usuku, Yuzo Noguch, Tomohiko Takasaki. Newly developed TaqMan Assay to detect West Nile viruses in a Wide Range. *Jpn. J. Infect. Dis.* 57. 129-130.2004
- 2) Shigeru Tajima, Tomohiko Takasaki, Shigeo Matsuno, Mikio Nakayama, Ichiro Kurane. Genetic characterization of Yokose virus, a flavivirus isolated from the bat in Japan. *Virology* 332:38-44, 2005
- 3) Masaru Kuwayama, Mikako Ito, Shinichi Takao, Yukie Shimazu, Shinji Fukuda, Kazuo Miyazaki, Ichiro Kurane, Tomohiko Takasaki. Detection of Japanese encephalitis virus genome in cerebrospinal fluids from meningitis patients in Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 11(3):471-473, 2005
- 4) Hatakeyama, S., Moriya, K., Saijo, M., Morisawa, Y., Kurane, I., Koike, K., Kimura, S., and Morikawa, S. (2005): Persisting humoral antiviral immunity among the Japanese population after the discontinuation in 1976 of routine smallpox vaccinations. *Clinical and Diagnostic Laboratory immunology, in press.*
- 5) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Phosphorylation of p38 MAPK and its downstream targets in

- SARS coronavirus-infected cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004. 319:1228-1234
- 6) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. 2004b. Importance of Akt signaling pathway for apoptosis in SARS-CoV-infected Vero E6 cells. *Virology* 327, 169-174.
 - 7) Mizutani T, Fukushi S, Murakami M, Hirano T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Tyrosine dephosphorylation of STAT3 in SARS coronavirus-infected Vero E6 cells. *FEBS Letters.* 2004. 577:187-192.
 - 8) Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Hasegawa H, Nagata N, Iwata N, Kurane I. Inhibitory effect of mizoribine and ribavirin on the replication of severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus. *Antiviral Research (in press)*
 - 9) Masayuki Saijo, Toshio Ogino, Fumihiko Taguchi, Tsugunori Notomi, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Shutoku Matsuyama, Hoang Thuy Long, Nguyen Thi Hong Hanh, Ichiro Kurane, Masato Tashiro, Shigeru Morikawa. Recombinant nucleocapsid protein-based IgG enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of SARS. *Journal of Virological Methods (in press)*
 - 10) Daiji Endoh, Tetsuya Mizutani, Rikio Kirisawa, Yoshiyuki Maki, Hidetoshi Saito, Yasuhiro Kon, Shigeru, Morikawa, Masanobu Hayashi. Species-independent detection of RNA virus by representational difference analysis using non-ribosomal hexanucleotides for reverse transcription. *Nucleic Acids. Res. (in press)*
 - 11) Shoji Y, Inoue S, Nakamichi K, Kurane I, Sakai T, Morimoto K. Generation and characterization of P gene-deficient rabies virus. *Virology.* 2004;318(1):295-305.
 - 12) Sato G, Itou T, Shoji Y, Miura Y, Mikami T, Ito M, Kurane I, Samara SI, Carvalho AA, Nociti DP, Ito FH, Sakai T. Genetic and phylogenetic analysis of glycoprotein of rabies virus isolated from several species in Brazil. *J Vet Med Sci.* 2004;66(7):747-53.
 - 13) Nakamichi K, Inoue S, Takasaki T, Morimoto K, Kurane I. Rabies virus stimulates nitric oxide production and CXC chemokine ligand 10 expression in macrophages through activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. *J Virol.* 2004;78(17):9376-88.
 - 14) Shoji Y, Kobayashi Y, Sato G, Itou T, Miura Y, Mikami T, Cunha EM, Samara SI, Carvalho AA, Nociti DP, Ito FH, Kurane I, Sakai T. Genetic characterization of rabies viruses isolated from frugivorous bat (*Artibeus* spp.) in Brazil. *J Vet Med Sci.* 2004;66(10):1271-3.
 - 15) Khawplod P, Inoue K, Shoji Y, Wilde H, Ubol S, Nishizono A, Kurane I, Morimoto K. A novel rapid fluorescent focus inhibition test for rabies virus using a recombinant rabies virus visualizing a green fluorescent protein. *J Virol Methods.* 2005;125(1):35-40.
 - 16) 水谷哲也、田口文広. SARS ウイルスのワクチン. 「からだの科学」増刊号 pp21-27. 2004.

- 17) 水谷哲也、田口文広. SARS ウイルス
ーワクチン開発の現状―. 「総合臨
床」53(6), 1968-1975. 2004
- 18) 水谷哲也. SARS-CoV に関する最新
の研究と今後の展望. 「ウイルス」54(1),
97-105. 2004.
- 19) 水谷哲也、田口文広. SARS コロナウ
イルスのワクチン開発 「細胞工学」
23(7), 795-800. 2004
- 20) 水谷哲也 SARS ウイルスのワクチ
ン・治療薬 ―開発の展望― 「最新
医学」59(12), 2565-2576. 2004.
- 21) 水谷哲也 SARS コロナウイルスに関
する最新の研究 「Medical Science
Digest」31(1), 13-18. 2005.
- 22) 水谷哲也 SARS ウイルスのワクチン
開発への最近の動向 「感染・炎症・
免疫」(印刷中)
- 23) 森川 茂 (2004): サル痘、感染症の事典、
朝倉書店、pp107-109
- 24) 森川 茂 (2004): サル痘、感染症の診断・
治療ガイドライン 2004、日本医師会、
pp144-145
- 25) 森川茂 (2004): サル痘、新興再興感染
症―SARS の教訓 [からだの科学 (増
刊)] 日本評論社、pp188-191
- 26) 森川茂 (2004): 天然痘ワクチンの復活
小児科臨床 (特大号/ワクチンのすべ
て) 67: 11
- 27) 高崎智彦、倉根一郎. ウエストナイル熱.
日本医事新報 4200:24-27 (2004)
- 28) 高崎智彦 図説「感染症シリーズ ウ
エストナイル熱/脳炎」. 医療
58(2)114-118. 2004
- 29) 伊藤美佳子、高崎智彦. この言葉、知
っていますか。【西ナイルウイルス】. ク
リニカルエンジニアリング 15(9) 951
(2004)
- 30) 高崎智彦. 特集: 感染症―最新の話
題― 話題の感染症 ウエストナイル熱.
小児科 45(4):429-433(2004)
- 31) 高崎智彦. 病気のはなし ウエストナ
イル熱・脳炎. 検査と技術 32(6):488-
492 (2004)
- 32) 高崎智彦. 特集 人と動物の共通感染
症. 自然界からの侵入 ウエストナ
イルウイルス. Pharma Medica 22(11):21-23
(2004)
- 33) 高崎智彦. 知っていますか? 国際感
染症: ウエストナイル熱, ウエストナ
イル脳炎. 臨床看護 31(2):164-168 (2005)
2. 学会発表
- 1) Yuki Eshita, Tomohiko Takasaki, Shunro
Imura, Yukinori Uchida, Ikuo Takashma,
Ichiro Kurane. Diagnostics dengue and West
Nile viruses in mosquitoes. Forties
Anniversary United States-Japan
Cooperative Medical Science Congress.
(Kyoto) 2004/7-10
- 2) Tajima Shigeru, Tomohiko Takasaki, Yuki
Eshita, Ichiro Kurane. Characterization of
Yokose virus, a Flavivirus, which was
isolated from the Bat in Japan. Forties
Anniversary United States-Japan
Cooperative Medical Science Congress.
(Kyoto) 2004/7-10
- 3) 高崎智彦. わが国におけるアルボウイ
ルス感染症の現状. 第7回近畿熱帯医
学研究会 (京都市; 京都大学東南アジ
ア研究センター) 2004/12/4
- 4) 森川茂, 長谷川秀樹, 西條政幸, 前田
秋彦, 倉根一郎, 尾崎泰子, 佐多徹太

- 郎、倉田毅、小島朝人。ワクチニアウイルス LC16m8 株の有効性と遺伝子構造の解析。第 52 回日本ウイルス学会学術集会、2004 年 11 月、横浜
- 5) 西條政幸、網康至、永田典代、須崎百合子、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、長谷川秀樹、岩田奈織子、佐多徹太郎、倉根一郎、倉田毅、森川茂。LC16m8 株痘そうワクチンによるカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果。第 52 回日本ウイルス学会学術集会、2004 年 11 月、横浜
 - 6) Tetsuya Mizutani, Shuetsu Fukushi, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, and Ichiro Kurane. Phosphorylation of p38 MAPK and its downstream targets in SARS coronavirus-infected cells. International conference on SARS-one year after the (first) outbreak. 2004. 5. 8-11. Luebeck, Germany.
 - 7) 水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、森川 茂 「SARS コロナウイルスによる p38MAPK およびその下流の活性化」 日本獣医学会学術集会 2004 年 9 月 札幌
 - 8) 水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂 「SARS-CoV 感染細胞におけるシグナル伝達系の網羅的解析」(ワークショップ) 日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 横浜
 - 9) 福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂「ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルス感染の検討」第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004 年 11 月 横浜
 - 10) 水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂 「SARS-CoV 感染細胞におけるシグナル伝達系の網羅的解析」 日本分子生物学会学術集会 2004 年 12 月 神戸
 - 11) 水谷哲也 「コロナウイルスの転写機構」(招待) RNA ウイルス研究の新展開 III 2004 年 3 月 三重
 - 12) 水谷哲也 「コロナウイルスの転写機構と細胞死のメカニズム」(招待) 第 1 回ウイルス学キャンプ in 湯河原 2004 年 6 月
 - 13) 福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂「ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルス感染の検討」第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004 年 11 月 横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし