

にした。

ターゲティング能を有する Ad を開発する上で最も重要なのが、標的指向性分子の選択であり、この点に関して現在我々は、フェージ表面提示法を駆使して特異性の高い標的リガンド分子の探索を進めている。本研究で最終目標とするターゲティング能を有したハイブリット化 Ad ベクターは、組織特異性と高い遺伝子導入効率を有することから、正常細胞に対する副作用の軽減に加えて、局所投与での遺伝子治療が困難な転移がんなどに対してもベクターを血中に投与することで応用可能であると予想される。さらに本ベクターは、修飾率の増大に伴い、標的指向性分子の作用が強くなるだけでなく、Ad に対する中和抗体からの回避能も増大すると考えられることから、理想的な遺伝子治療用ベクターになると期待できる。

D. 3 遺伝子発現抑制型 (siRNA 発現) Ad ベクターの開発

D. 3.1 PPAR γ に対する siRNA 発現 Ad ベクターによる脂肪細胞の分化抑制

3T3-L1 細胞は脂肪細胞分化や脂肪生物学の研究に広く用いられている。しかしながら、3T3-L1 細胞は Ad ベクターや DNA 遺伝子導入試薬による遺伝子導入効率が極めて低い。そこで我々は、前年度にポリリジンタイプファイバー改変 Ad ベクターを用いることにより、3T3-L1 細胞に対する効果的な遺伝子導入が可能であることを報告した。本年度は、PPAR γ に対する Ad ベクターによる RNAi が、脂肪前駆細胞から脂肪細胞への分化を効果的に抑制することを実証した。

PPAR γ は脂肪生成のマスターレギュレーターであり、インスリン感受性や血糖調節に重要な役割を果たしている。PPAR γ 発現抑制による 3T3-L1 細胞の脂肪前駆細胞から脂肪細胞への分化阻害は、ファイバー改変 Ad ベクターによる RNAi が肥満や糖尿病の基礎研究に広く使用できることを示唆している。

PPAR γ のホモ欠損マウスは胎盤の機能障害により胎生致死である。PPAR γ のヘテロ欠損マウス (PPAR $\gamma^{+/-}$) やコンディショナルノックアウトマウスは生体内での PPAR γ の機能解析研究に用いられている。しかしながら、これらマウスの作製は困難であり、ヘテロ欠損マウス (PPAR $\gamma^{+/-}$) においては、PPAR $\gamma^{+/-}$ の発現レベルを調節することはできない。生体内においても Ad ベクターは効果的な遺伝子導入を示すことから、PPAR γ に対する siRNA 発現単位を搭載した Ad ベクターを直接生体内に投与することによってコンディショナル PPAR γ 欠損マウスを作製できる可能性を本研究結果は示している (PPAR γ 発現の抑制レベルはベクターの投与量によって調節できる)。

本研究では PPAR γ に対する siRNA 発現ポリリジン型ファイバー改変 Ad ベクターが、3T3-L1 細胞の脂肪前駆細胞から脂肪細胞への分化を顕著に抑制することを実証した。PPAR γ に対する siRNA 発現ファイバー改変 Ad ベクターは肥満や糖尿病での脂肪生成における PPAR γ の生物学的・生理学的機能の研究ばかりでなく、肥満、糖尿病および他の病気への治療応用にも有用であることが示唆された。

D. 3.2 RNAi による標的遺伝子発現を解除するベクターシステムの開発

現在、RNAi は標的遺伝子のノックダウンの有効な手段として用いられているが、さらなる遺伝子機能解析への応用には発現調節可能なベクター系の開発が非常に望まれている。これまで我々を含めた複数のグループから、ドキシサイクリンにより発現誘導可能な変異型 H1 または U6 プロモーターを利用した RNAi ベクターが開発されてきた。また近年、Cre-loxP の組換えシステムを利用して、Cre により発現誘導可能な RNAi ベクターがいくつか報告された。しかしながら、これらは全てドキシサイクリンまたは Cre により shRNA 発現が誘導される系であり、標的遺伝子の発現抑制を解除する、つまり shRNA 発現を停止させるシステムは報

告されていない。shRNA 発現を開始させることは、RNAi ベクターを導入することで行えるため、shRNA 発現を停止させるシステムの方が汎用性が高いと考えられる。そこで、本研究では Cre-loxP システムを利用して shRNA 発現をオフにする系の開発を試みた。

プロモーターの両側に loxP 配列を挿入したルシフェラーゼに対する RNAi ベクター pHM5-hU6-Lu は、pGL3-Control により増加したルシフェラーゼ発現を顕著に抑制した (Fig. 76)。この pLoxP-hU6-Lu により抑制されたルシフェラーゼ発現は AdCre の用量依存的に増加し、A549 では AdCre 3000 VP/cell、HepG2 では AdCre 1000 VP/cell で完全に回復した (Fig. 76)。AdCre によるルシフェラーゼ発現の回復は、Cre により loxP で挟まれたプロモーターが除去された為と推測される。そこで、Cre により loxP で挟まれたプロモーターが実際に除去されるのかを A549 細胞を用いて検討したところ、プロモーターの切り出しが PCR 産物の約 800bp から約 470bp への低分子化により観察された (Fig. 78)。続いて、抑制されたルシフェラーゼ発現が AdCre 処理によって回復するのかを A549 細胞を用いて検討したところ、pLoxP-hU6-Lu により抑制されたルシフェラーゼ発現は AdCre 処理によって増加し、コントロールの約 50%まで回復した (Fig. 79)。ここで、ルシフェラーゼ発現が AdCre 処理によっても完全に回復しないのは、AdCre を作用させるまでに既に発現したルシフェラーゼタンパク質の半減期や細胞数増加に伴う shRNA の希釈等の影響が関与しているものと推測される。

本研究は、RNAi による標的遺伝子発現抑制を解除するベクター系の最初の成果報告であり、本システムはカプシド改変 Ad ベクターへ容易に搭載できることから、基礎・応用研究への広範な利用が期待される。

D. 4 35 型 Ad ベクターの特性評価

D. 4. 1 35 型 Ad ベクターによるヒト CD46 トランスジェニックマウスへの遺伝子導入

ウイルスベクターの *in vivo* 遺伝子導入特性を評価するうえで、そのウイルスに対する受容体を発現し、ウイルスベクターが感染・遺伝子導入しうるモデル動物の存在は必要不可欠である。35 型 Ad ベクターの受容体である CD46 は、通常のマウスでは精巣でしか発現しておらず、またヒト CD46 とマウス CD46 の相同性は低いことから、通常のマウスは 35 型 Ad のモデル動物とはなり得ない。そこで本研究では、CD46TG マウスを用いて 35 型 Ad ベクターの *in vivo* 遺伝子導入特性について検討を行った。

35 型を含む subgroup B に属する Ad の受容体である CD46 は、その他ヘルペスウイルス type 6 やはしかウイルスなど、幾つかの病原体の受容体であることが知られている。CD46TG マウスはこれらの病原体の感染性などを検討する際にしばしば用いられており、CD46TG マウスに対しこれらのウイルスが感染可能であること、また感染に伴う免疫反応が起こることが報告されている。本研究を含め、これらの報告において用いられている CD46TG マウスでは、ubiquitous に働くプロモーターの下流に CD46 遺伝子の cDNA が挿入されているのではなく、ヒト CD46 のプロモーター領域から CD46 遺伝子までのゲノム DNA が bacterial artificial chromosome などを用いて挿入されている。そのため、TG マウスの各臓器間で CD46 発現量に若干差があり、その発現パターンはヒトにおけるものと比較的類似している。この点も CD46TG マウスのモデル動物としての長所であるといえる。

この CD46TG マウスでの 35 型 Ad ベクターの遺伝子導入効率、野生型マウスと比較すると有意に高いものであったことから、35 型 Ad ベクターは *in vivo* においても CD46 を認識して感染することが示唆された。しかし遺伝子発現効率の上昇は認められたものの、我々が期待していたほどの

改善は見られなかった。なぜ CD46TG マウスに対しても 35 型 Ad ベクターは高い遺伝子発現効率を示さないのかについては、今後明らかにすべき課題である。一つの可能性としては、35 型 Ad ベクターが *in vivo* において CD46 に到達できないということが考えられる。CD46 は本来上皮細胞などでは basolateral 側に主に発現していることが知られており、CD46 を受容体とするはしかウイルスに関しても basolateral 側より感染することが報告されている。従って、細胞外マトリックスや基底膜などが立体障害となって 35 型 Ad ベクターが basolateral 側に発現している CD46 に到達できないことが考えられる。さらに、35 型 Ad には CD46 以外に受容体が存在することが報告されているが、マウスにおいてはそれが発現していない可能性も考えられる。またヒト血清中には CD46 の soluble form が存在する。CD46TG マウスにおいても soluble CD46 など血液中の何らかの成分により、35 型 Ad ベクターが不活性化している、また 35 型 Ad ベクターに血液成分が結合することで CD46 を認識できない、などの可能性がある。しかし我々は、CD46TG マウスより採取した血液ならびに血清と 35 型 Ad ベクターとをインキュベートした後、培養細胞に作用させたところ遺伝子発現効率の減弱は認められなかった。現在ヒトと同様に CD46 をもともと全臓器で発現している霊長類を用いて 35 型 Ad ベクターの遺伝子導入特性を検討している。この研究結果は 35 型 Ad ベクターの臨床応用に向けて極めて有用であるとともに、35 型 Ad ベクターのモデル動物としての有用性を評価するうえでも重要であると思われる。

従来汎用されている 5 型 Ad ベクターによる *in vivo* 遺伝子導入においては、CAR およびインテグリンへの結合に加えて、ヘパラン硫酸への結合が重要であると考えられている。ヘパラン硫酸への結合では、fiber shaft に存在する KKTK (Lys-Lys-Thr-Lys) モチーフが重要であると報告されているが、35 型 Ad ベクターにおいてはこの KKTK モチーフが存在しない。これも 35 型 Ad ベク

ターがマウスにおいて低い遺伝子発現効率しか示さない要因かもしれない。

今回 CD46TG マウスとして、両方の相同染色体に CD46 遺伝子を有したホモマウスと片方にのみ有したヘミマウスとを用いた。初代培養細胞への遺伝子導入および TG マウスへの *in vivo* 遺伝子導入ともに、ホモマウスのほうが高い遺伝子発現効率を示した。これは、ホモマウスのほうが CD46 を高発現しているためと思われるが、この結果より CD46 発現量が 35 型 Ad ベクターの遺伝子導入効率を決める大きな要因となりうることが示唆された。がん細胞では通常の細胞と比較し CD46 を高発現していることが知られているが、はしかウイルスはこの発現量の差を利用することで oncolytic virus として用いられている。従って、35 型 Ad ベクターもがんを標的とした遺伝子治療用ベクターとして有用であると考えられる。

35 型 Ad ベクターの腹腔内投与では特に腹膜、横隔膜、肝臓、腎臓において高効率な遺伝子導入が観察され、静脈内投与と比較し 10 倍以上高い遺伝子発現効率を示した。しかしながら、X-gal 染色の結果、臓器内部の細胞はほとんど遺伝子発現しておらず、臓器表面の細胞のみが X-gal 陽性であった。また、投与部位である腹腔より直接感染できない肺や心臓といった臓器においては、他の臓器と比較し極めて低い遺伝子発現しか得られなかったことから、腹腔内に投与した 35 型 Ad ベクターは血流を介して各臓器に感染するのではなく、投与部位から直接臓器表面の細胞に感染し遺伝子発現にいたることが明らかとなった。

D. 4. 2 35 型アデノウイルスベクターの CD46 結合部位の検索

ウイルスとその感染受容体の相互作用の詳細を明らかにすることは、ウイルスの病原性を理解する上で非常に重要なことであり、さらに遺伝子導入用ベクターの遺伝子導入特性の評価のみならず、ウイルスベクター改良の重要な手掛かりとなる。これまでに、CD46 を認識する病原体の感染

必須領域を特定するために各 SCR 欠損 CD46 発現 CHO 細胞を用いた遺伝子導入実験、並びに抗 CD46 モノクローナル抗体を用いた遺伝子導入阻害実験が行われてきた。そこで我々はこの手法を応用し、変異型 CD46 発現 CHO 細胞や種々の抗 CD46 モノクローナル抗体を用いて、CD46 のどの領域が 35 型 Ad の感染に重要な役割を果たしているのかについて検討を行った。

これまで麻疹ウイルスが SCR 1 及び SCR 2 に、ヒトヘルペスウイルス 6 型が SCR2 及び 3 に結合し感染することが報告されている。従って、本研究での結果を併せると、CD46 の SCR2 が CD46 を認識する全てのヒトウイルス（麻疹ウイルス、ヒトヘルペス 6 型ウイルス、subgroup B Ad）の感染に必須の領域であると言える。

SCR2 と同様に SCR1 の欠損 CD46 発現 CHO 細胞においても 35 型 Ad ベクターの遺伝子導入効率の大幅な低下が見られた。しかし、SCR1 特異的抗体 E4.3 及び J4-48 ではルシフェラーゼ発現 35 型 Ad ベクターの作用による遺伝子導入効率の低下は見られなかった。一方で、同じく SCR1 を認識する MEM-258 では有意な遺伝子導入阻害が見られた。E4.3 と J4-48 の結合に重要なアミノ酸は SCR1 の上部に位置していることが知られている。現在のところ MEM-258 のエピトープが SCR1 のどこに位置しているのかということに関しては不明であるが、MEM-258 のエピトープは E4.3 及び J4-48 とは異なる領域であり、35 型 Ad の感染に大きな役割を果たす領域であると推測される。

35 型 Ad が SCR1 及び SCR 2 を認識することは、35 型 Ad の感染において有利なことであると言える。SCR1、SCR 2 は CD46 の上部に位置することから、ウイルスカプシドと細胞表面の酸性タンパクとの静電的反発を低くし、35 型 Ad と細胞表面の結合を促進していると考えられる。Lieber らはファイバーのシャフトが短い Ad の場合は、特にウイルスカプシドと細胞表面の静電的相互作用が Ad 感染に重要な因子になることを実証している。35 型 Ad は 9nm と 5 型 Ad の 37nm よりも短

いファイバーシャフトを有することから、35 型 Ad が CD46 の先端部分 (SCR1、SCR 2) を認識することは、理にかなっていると考えられる。

一方、本研究から CD46 の cytoplasmic domain は 35 型 Ad の結合受容体としては必須の因子ではないことが明らかとなった。麻疹ウイルスやヒトヘルペスウイルス 6 型も cytoplasmic domain を欠損させた CD46 を介して感染が可能であることが知られている。ヒト CD46 の cytoplasmic domain は、これら病原体の結合受容体としての機能は有していないが、タンパクのターゲティングや recruitment に関わる領域でありサイトカイン産生などヒト CD46 の様々な機能において重要な役割を果たしている。Hirano らは麻疹ウイルス感染に伴う高レベルの NO 産生及び IL-12 産生の増加に CD46 の cytoplasmic domain が関与していると報告している。また Kurita-Taniguchi らはヒトマクロファージが細胞内フォスファターゼ SHP-1 の CD46 への集合とともに活性化し、IL-12 及び NO の産生により麻疹ウイルスへの応答能を有するようになることを報告している。従って cytoplasmic domain は 35 型 Ad による免疫応答の誘起への関与が示唆されるが、35 型 Ad の受容体としては大きな機能は果たしていないと言える。

本研究の結果は、35 型 Ad の細胞への内在化や CD46 との結合に関与する 35 型 Ad ファイバーノブ領域の同定といった、ヒト CD46 と subgroup B Ad の相互作用のさらなる検討を提議するものであり、今後これらの詳細について検討を行っていく予定である。

E. 結論

1. 標的細胞指向性を有した Ad ベクターの開発

1) プロモーター配列およびファイバー領域における改変を最適化した Ad ベクターを用いることで、マウス間葉系幹細胞、マウス ES 細胞（胚葉体を含む）、マウスあるいはラット由来臍島β細胞への遺伝子導入効率を上昇させることに成功した。

2) サイトカインとケモカインを発現する AdRGD ベクターを用いたがん免疫遺伝子治療の最適化に関する検討を行い、以下の結論を得た。

- i. 腫瘍関連抗原（TAA）導入樹状細胞（DC）ワクチン投与と AdRGD-CCL17 腫瘍内投与の併用は、TAA 特異的 CTL の腫瘍内集積性の増強に基づいて、DC がん免疫療法の有効性を飛躍的に改善できた。
- ii. AdRGD-IL12 を用いたがん免疫遺伝子治療への AdRGD-CCL27 の併用は、免疫細胞の腫瘍内動員と活性化を同時に達成することによって、治療効果を大幅に向上できた。

3) DC ワクチンにアポトーシス抵抗性を付与することによって、投与部位から所属リンパ節への到達性の向上およびリンパ節での抗原提示期間の延長が達成され、DC がん免疫療法の有効性を改善できた。

4) Tat-Ad ベクターの作製法を確立するとともに、本ベクターが非常に広範な感染域を有するベクターシステムであることを明らかとした。

5) 組織特異性を有した Ad ベクターの開発のための第一ステップとして、Ad の native の受容体（CAR、 αv インテグリン、ヘパラン硫酸）を認識しては感染しない Ad ベクターの開発・改良を行った。ファイバーノブの AB ループの変異、ファイバーシャフト領域を 35 型 Ad 由来に変更、ペントンベースの RGD モチーフの欠損の 3 領域を同時

に改変することで、特定の臓器で目的遺伝子の発現を起こさず、肝障害や自然免疫誘導を起さない Ad ベクターの更なる改良に成功し、機能性、安全性に優れたターゲティング Ad ベクターのための基盤ベクターになりうるものと期待された。さらに、Ad ベクターによる自然免疫誘導のメカニズム解明に有用なベクターを開発できたことから、本研究は Ad ベクターによる自然免疫の誘導を回避するための技術の開発にも貢献できると期待される。

6) 35 型 Ad 由来のファイバーや RGD ペプチドをファイバーに付与した Ad ベクターと tet-off 系の発現制御能（E1・E3 両欠損領域へ外来遺伝子を挿入）を組み合わせた Ad ベクターの開発に成功し、その有用性を実証した。

7) *in vitro* ligation に基づいた簡便なプラスミド構築を利用することで、簡便に pIX やヘキソンを改変した Ad ベクターを作製する方法を開発した。

2. 水溶性高分子（PEG）によるバイオコンジュゲート化 Ad ベクターの開発

1) ベクターの全身投与に基づくサイトカイン遺伝子治療および自殺遺伝子治療への PEG-Ad ベクターの応用は、治療効果の増強と副作用の軽減に有効であることが示唆された。

2) PEG-Ad ベクターによる腫瘍組織への受動的ターゲティングには、分子量 20000 の PEG を用いた修飾率 40% の PEG-Ad ベクターが優れることを見いだした。

3. 遺伝子発現抑制型（siRNA 発現）Ad ベクターの開発

1) 3T3-L1 脂肪前駆細胞において、脂肪細胞分化に必須のマスターレギュレーターである PPAR γ の発現を、ポリリジン型 siRNA 発現発現 Ad ベク

ターを用いて抑制することで、脂肪細胞分化を抑制できることを示し、siRNA 発現 Ad ベクターの有用性を実証した。

2) Cre-loxP の部位特異的組換えシステムを利用することで、cre の発現により shRNA 発現をオフに制御できるベクター系の開発に成功した。

4. 35 型 Ad ベクターの特性評価

1) CD46TG マウスを用いて 35 型 Ad ベクターの *in vivo* における遺伝子導入特性を解析した。その結果、35 型 Ad ベクターは CD46TG マウスにおいて野生型マウスと比較し、有意に高い遺伝子発現効率ならびにベクター集積量を示したことから、35 型 Ad ベクターは *in vivo* においても CD46 を認識し感染することが明らかとなった。しかし、その遺伝子発現量は 5 型 Ad ベクターと比較すると依然低いものであることから、今後霊長類を用いて 35 型 Ad ベクターの遺伝子導入特性について検討するとともに、CD46TG マウスのモデル動物としての妥当性についても検討する予定である。

2) 35 型 Ad ベクターの感染に及ぼす CD46 結合部位の検索を行い、SCR1 および SCR2 の領域が感染に必須であることを明らかにした。また、CD46 の細胞内領域は 35 型 Ad ベクターの感染には必須ではないことを明らかにした。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawabata K., Sakurai F., Koizumi N., Hayakawa T., Mizuguchi H. Adenovirus vector-mediated gene transfer into stem cells. *Mol. Pharm.* in press.
- 2) Sakurai F., Kawabata K., Koizumi N., Inoue N., Okabe M., Yamaguchi T., Hayakawa T., Mizuguchi H. Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction into human CD46-transgenic mice. *Gene Ther.*, in press.
- 3) Okada N., Sasaki A., Niwa M., Okada Y., Hatanaka Y., Tani Y., Mizuguchi H., Nakagawa S., Fujita T., Yamamoto A. Tumor suppressive efficacy through augmentation of tumor-infiltrating immune cells by intratumoral injection of chemokine-expressing adenoviral vector. *Cancer Gene Ther.*, in press.
- 4) Komiya E., Kondoh M., Mizuguchi H., Fujii M., Utoguchi N., Nakanishi T., Watanabe Y. Characteristics of transcription-regulatory elements for gene expression from plasmid vectors in human trophoblast cell lines. *Placenta.*, in press.
- 5) Hama S., Akita H., Ito R., Mizuguchi H., Hayakawa T., Harashima H. Quantitative comparison of intracellular trafficking and nucleartranscription between adenoviral and lipoplex systems. *Mol. Ther.*, in press.
- 6) Koizumi N., Kawabata K., Sakurai F., Watanebe Y., Hayakawa T., Mizuguchi H. Modified adenovirus vectors with CAR-, α v integrin-, and heparan sulfate-binding ablation reduce in vivo tissue transduction and toxicity. *Hum. Gene Ther.*, 17, 264-279 (2006)
- 7) Kida S., Maeda M., Hojo K., Eto Y., Gao J. Q., Kurachi S., Mizuguchi H., Hayakawa T., Mayumi T., Nakagawa S., Kawasaki K. Design and synthesis of a Tat-related gene transporter: A tool for carrying the adenovirus vector into cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16, 743-735 (2006)
- 8) Ebihara C., Kondoh M., Hasuike N., Harada M., Mizuguchi H., Horiguchi Y., Fujii M., Watanabe Y. Preparation of a claudin-targeting molecule using a C-terminal fragment of *Clostridium perfringens* enterotoxin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 316, 255-260 (2006)
- 9) Mizuguchi H., Xu Z-L., Sakurai F., Kawabata K., Yamaguchi T., Hayakawa T. Efficient regulation of gene expression using self-contained fiber-modified adenovirus vectors containing the tet-off system. *J. Control. Release.*, 110, 202-211 (2005)
- 10) Ino A., Naito Y., Mizuguchi H., Handa N., Hayakawa T., Kobayashi I. A trial of somatic gene targeting in vivo with an adenovirus vector. *Genetic Vaccines and Therapy*, 3:8 (2005)
- 11) Xin K-Q., Jounai N., Someya K., Honma K., Mizuguchi H., Naganawa S., Kitamura K.

- Hayakawa T., Saha S., Takeshita F., Okuda K., Honda M., Klinman D.M., Okuda K. Prime-boost vaccination with plasmid DNA and a chimeric adenovirus type 5 vector with type 35 fiber induces protective immunity against HIV. *Gene Ther.*, 12, 1769-1777 (2005)
- 12) Kawabata K., Sakurai F., Yamaguchi T., Hayakawa T., Mizuguchi H. Efficient gene transfer into mouse embryonic stem cells with adenovirus vectors. *Mol. Ther.*, 12, 547-554 (2005)
- 13) Sakurai F., Kawabata K., Yamaguchi T., Hayakawa T., Mizuguchi H. Optimization of adenovirus serotype 35 vectors for efficient transduction in human hematopoietic progenitors: comparison of promoter activities. *Gene Ther.*, 12, 1424-1433 (2005)
- 14) Takahashi A., Kondoh M., Masuyama A., Fujii M., Mizuguchi H., Horiguchi Y., Watanabe Y. Role of C-terminal regions of the C-terminal fragment of Clostridium perfringens enterotoxin in its interaction with claudin-4. *J. Contl. Release.*, 108, 56-62 (2005)
- 15) Mizuguchi H., Sasaki T., Kawabata K., Sakurai F., Hayakawa T. Fiber-modified adenovirus vectors mediate efficient gene transfer into undifferentiated and adipogenic-differentiated human mesenchymal stem cell. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 332, 1101-1106 (2005)
- 16) Masuyama A., Kondoh M., Seguchi H., Takahashi A., Harada M., Fujii M., Mizuguchi H., Horiguchi Y., Watanabe Y. Role of N-terminal amino acids in the absorption-enhancing effects of the C-terminal fragment of Clostridium Perfringens enterotoxin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 314, 789-795 (2005)
- 17) Gao J-Q, Sugita T., Kanagawa N., Iida K., Okada N., Mizuguchi H., Nakayama T., Yoshie O., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S. Anti-tumor responses induced by chemokine CCL19 transfected into an ovarian carcinoma model via fiber-mutant adenovirus vector. *Biol. Pharm. Bull.*, 28, 1066-1070 (2005)
- 18) Okada Y., Okada N., Mizuguchi H., Hayakawa T., Nakagawa S., Mayumi T. Transcriptional targeting of RGD fiber-mutant adenovirus vectors can improve the safety of suicide gene therapy for murine melanoma. *Cancer Gene Ther.*, 12, 608-616 (2005)
- 19) Koizumi, N., Kondoh, M., Mizuguchi H., Nakanishi, T., Masuyama, A., Ida, F., Fujii, M., Hayakawa, T., Nakashima, E., Tanaka, K., Watanabe, Y. Comparison of transgene expression mediated by several fiber-modified adenovirus vectors in trophoblast cells. *Placenta.*, 26, 729-734 (2005)
- 20) Eto Y., Gao J-Q., Sekiguchi F., Kurachi S., Katayama K., Mizuguchi H., Hayakawa T., Maeda, M., Kawasaki K., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S. PEGylated adenovirus vectors containing RGD

- peptides on the tip of PEG show high transduction efficiency and antibody evasion ability. *J. Gene Med.*, 7, 604-612 (2005)
- 21) Taki M., Kagawa S., Nishizaki M., Mizuguchi H., Hayakawa T., Kyo S., Nagai K., Urata Y., Tanaka N., Fujiwara T. Enhanced oncolysis by a tropism-modified telomerase-specific replication-selective adenoviral agent OBP-405 ('Telomelysin-RGD'). *Oncogene*, 24, 3130-3140 (2005)
- 22) 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)
- 23) 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)
- 24) 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.*, 11, 578-590 (2005)
- 25) Hosono T., Mizuguchi H., Katayama K., Koizumi N., Kawabata K., Yamaguchi T., Nakagawa S., Watanabe Y., Mayumi T., Hayakawa T. RNA interference of PPAR γ using fiber-modified adenovirus vector efficiently suppresses preadipocyte-to-adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Gene*, 348, 157-165 (2005)
- 26) Kondoh, M., Masuyama, A., Takahashi, A., Asano, N., Mizuguchi H., Koizumi, N., Fujii, M., Hayakawa, T., Horiguchi, Y., Watanabe, Y. A novel strategy for the enhancement of drug absorption using a claudin modulator. *Mol. Pharmacol.*, 67, 749-756 (2005)
- 27) 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)
- 28) 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)
- 29) Okada N., Iiyama S., Okada Y., Mizuguchi H., Hayakawa T., Nakagawa S., Mayumi T., Fujita T., Yamamoto A. Immunological properties and vaccine efficacy of murine dendritic cells simultaneously expressing melanoma-associated antigen and interleukin-12. *Cancer Gene Ther.*, 12, 72-83 (2005)
- 30) Imai, J., Katagiri, H., Yamada, T., Ishigaki, Y., Ogihara, T., Uno, K., Hasegawa, Y., Gao, J., Ishihara, H., Sasano, H., Mizuguchi H., Asano, T., Oka, Y. Constitutively active PDX1 induced efficient insulin production in adult murine liver. *Biochem Biophys Res Commun.*, 326, 402-409 (2005)
- 31) 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.*, 57, 781-802 (2005)
- 32) 水口裕之；目的遺伝子の抑制レベルを自由に制御するアデノウイルスベクターの開発、実験医学、23、2167-2172 (2005)
- 33) 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）、25、447-451 (2005)
- 34) 水口裕之・早川堯夫；カプシドタンパク質を改変した改良型アデノウイルスベクターによる高効率遺伝子導入；*BIO INDUSTRY*、22(5)、16-21 (2005)
- 35) 水口裕之・早川堯夫；ウイルスベクター；*Drug Delivery System*、20、158-159 (2005)
- 36) 水口裕之；ウイルスベクターのDDS；*Drug Metabolism And Pharmacokinetics*、19(6)、30-32 (2005)
- 37) 杉田敏樹・高 建青・中川晋作；Cell Delivery System を用いた次世代薬物治療；*Drug Delivery System*、20、42-48、2005.
- 38) 中川晋作・真弓忠範
細胞性製剤と細胞送達システム（Cell Delivery System）
PHARM TECH JAPAN, 21, 2096-2099, 2005.
- 39) 倉知慎之輔・中川晋作
人工改変型ウイルスベクターの現状と今後の展開
遺伝子医学, in press.

2. 学会発表

- 1) 村上さや香、櫻井文教、川端健二、岡田直貴、瀬谷司、山本昌、早川堯夫、水口裕之；35型アデノウイルスベクターのCD46認識部位に関する検討；日本薬学会126年会（仙台）；2006年3月28-39日
- 2) 小泉直也、川端健二、櫻井文教、佐々木朋美、西島美妙江、早川堯夫、水口裕之；感染受容体を改変したアデノウイルスベクターの有用性評価；日本薬学会126年会（仙台）；2006年3月28-39日

- 3) 水口裕之；overview 『ウイルス・非ウイルスベクター開発研究の最前線と臨床・産業化への道』；日本薬学会 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 4) 櫻井文教、川端健二、水口裕之；35 型アデノウイルスベクターの開発—遺伝子改変動物および霊長類を用いた検討—；日本薬学会 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 5) 秋田英万、濱進、水口裕之、原島秀吉；ウイルスベクターと非ウイルスベクターの細胞内動態の定量的解析に基づいた遺伝子ベクター開発へのアプローチ；日本薬学会 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 6) 桜井晴奈、櫻井文教、佐々木朋美、川端健二、小泉直也、黄海瑛、倉知慎之輔、中川晋作、水口裕之；Lipoplex とアデノウイルスベクターの *in vivo* における遺伝子発現能および自然免疫誘導能の比較；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 7) 金川尚子、吉川友章、畑中豊、谷洋一、水口裕之、堤康央、岡田直貴、中川晋作；IL-12 発現ベクターを投与した腫瘍組織における免疫イベントの解析；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 8) 倉知慎之輔、小泉直也、桜井晴奈、櫻井文教、川端健二、中川晋作、早川堯夫、水口裕之；カプシド改変アデノウイルスベクターの作製とその機能性評価；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 9) 丹羽貴子、吉川友章、後藤美千代、水口裕之、堤康央、岡田直貴、中川晋作；アポトーシス抵抗性樹状細胞の創製と抗腫瘍ワクチン機能の評価；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 10) 本村吉章、吉川友章、柳川達也、杉田敏樹、水口裕之、堤康央、岡田直貴、中川晋作；マウス T 細胞への遺伝子導入効率に優れるベクターシステムの探索；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 11) 姚醒蕾、衛藤佑介、倉知慎之輔、森重智弘、渡辺光、岡田裕香、水口裕之、堤康央、岡田直貴、中川晋作；ポリエチレングリコール修飾アデノウイルスベクターを用いた腫瘍標的化自殺遺伝子治療の開発；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 12) 上羽美貴、岡田直貴、木村芳伸、郷谷真嗣、藤井愛、水口裕之、中川晋作、藤田卓也、山本昌；ケモカイン・サイトカイン遺伝子を導入した樹状細胞の創製と抗腫瘍効果の評価；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 13) 大西康司、岡田直貴、森川愉香里、水口裕之、中川晋作、藤田卓也、山本 昌；TERT 遺伝子を導入した樹状細胞ワクチンの腫瘍増殖抑制効果；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 14) 岡田直貴、中川晋作；免疫細胞の体内動態制御に基づいた癌免疫療法の最適化；日本薬学会第 126 年会（仙台）；2006 年 3 月 28-39 日
- 15) 後藤美千代、丹羽貴子、吉川友章、水口裕之、岡田直貴、中川晋作；抗アポトーシス分子を導入した樹状細胞ワクチンの特性と抗腫瘍メカニズムの解析；日本薬学会第 21 年会（金沢）；2006 年 3 月 16-18 日

- 16) 森重智弘、衛藤佑介、倉知慎之輔、姚 醒蕾、渡辺光、岡田裕香、水口裕之、岡田直貴、中川晋作；腫瘍標的化を目指した改良型アデノウイルスベクターの創製；日本薬剤学会第 21 年会（金沢）；2006 年 3 月 16-18 日
- 17) 是友良介、岡田直貴、村上さや香、大西善洋、水口裕之、中川晋作、藤田卓也、山本 昌；アデノウイルスベクターによる樹状細胞の表現型変化とその作用機序に関する基礎的検討；日本薬剤学会第 21 年会（金沢）；2006 年 3 月 16-18 日
- 18) 丹羽正和、岡田直貴、熊谷将成、畑中豊、谷洋一、水口裕之、中川晋作、藤田卓也、山本昌；免疫細胞の腫瘍内動員を基盤とした新規癌免疫遺伝子治療の開発；日本薬剤学会第 21 年会（金沢）；2006 年 3 月 16-18 日
- 19) 水口裕之；遺伝子機能解析のための次世代アデノウイルスベクターの開発；第 69 回新適塾「21 世紀の薬箱」（大阪）；2006 年 1 月 31 日
- 20) 水口裕之；次世代アデノウイルスベクターの開発基盤研究；九州大学母子総合研究リサーチコアカンファレンス（九州大学医学部特別講演）（福岡）；2006 年 1 月 17 日
- 21) 丹羽貴子、吉川友章、小田淳史、飯田恵介、松尾一彦、萱室裕之、岡田直貴、堤康央、水口裕之、中川晋作；変異型抗アポトーシス蛋白質 Bcl-xFNK 発現樹状細胞を用いた抗腫瘍効果に関する検討；第 35 回日本免疫学会総会・学術集会（横浜）；2005 年 12 月 13-15 日、横浜
- 22) 金川尚子、杉田敏樹、飯田恵介、畑中豊、谷洋一、水口裕之、堤康央、真弓忠範、中川晋作；IL-12 発現ベクターの腫瘍内投与による抗腫瘍効果と免疫系細胞の腫瘍内浸潤の向上；第 35 回日本免疫学会総会・学術集会（横浜）2005 年 12 月 13-15 日
- 23) 水口裕之；遺伝子治療研究における薬学の役割；ベクター開発の重要性；平成 17 年度大阪大学薬学部卒後研修会「食・健康と薬学」（大阪）；2005 年 12 月 2 日
- 24) 形山和史、水口裕之、川端健二、細野哲二、清水なつみ、須永裕之、立花雅史、中川晋作、三好浩之；RNAi 誘導用レンチウイルスベクター：Tetracycline-inducible shRNA expression by a single lentiviral vector；第 28 回日本分子生化学会大会（福岡）2005 年 12 月 7-10 日
- 25) 鎌倉真紀、齋藤史路、大野芳典、森澤啓子、黒田正幸、今井章介、水口裕之、谷口武利；ラット IL-27p28 プロモーター領域の解析；第 28 回日本分子生化学会大会（福岡）2005 年 12 月 7-10 日
- 26) 田代克久、川端健二、櫻井文教、早川堯夫、水口裕之；マウス胚性幹細胞及び胚様体に対する高効率アデノウイルスベクターの開発；第 28 回日本分子生化学会大会（福岡）2005 年 12 月 7-10 日
- 27) 水口裕之；ターゲティングアデノウイルスベクターの開発に向けて —非特異的遺伝子導入活性を抑えたアデノウイルスベクターの開発—；第 53 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）；2005 年 11 月 22 日
- 28) 水口裕之；改変アデノウイルスベクターによる遺伝子導入制御；「生物医工学サロン」第 17 回集会（大阪）；2005 年 11 月 9 日

- 29) 水口裕之；ウイルスの超分子化学；「ナノバイオ基礎から最前線」ーバイオとナノテクの融合による新技術・新産業の創出ー（神奈川）；2005年11月2日
- 30) 川端健二、櫻井文教、佐々木朋美、早川堯夫、水口裕之；再生医療への応用を目的とした胚性幹細胞(ES細胞)および間葉系幹細胞への遺伝子導入系の開発；第55回日本薬学会近畿支部総会・大会（西宮市）；2005年10月29日
- 31) 喜田進也、前田光子、北條恵子、衛藤佑介、Jian-Qing Gao、倉知慎之輔、森重智弘、水口裕之、真弓忠範、中川晋作、川崎紘一；アデノウイルスベクター用細胞内移行ペプチドの合成；第55回日本薬学会近畿支部総会・大会（西宮市）；2005年10月29日
- 32) Toshiki Sugita, Jing-Qing Gao, Naoko Kanagawa, Yoshiaki Motomura, Takashi Nakayama, Osamu Yoshie, Yutaka Hatanaka, Yoichi Tani, Hiroyuki Mizuguchi, Yasuo Tsutsumi, Shinsaku Nakagawa; Synergistic anti-tumor responses induced by the combination of a couple of stimulators: IL-12 and CCL27; 第78回日本生化学会大会（神戸）2005年10月19-22日
- 33) Ryosuke Koretomo, Naoki Okada, Naoki Mori, Hiroyuki Mizuguchi, Shinsaku Nakagawa, Takuya Fujita, Akira Yamamoto; Lymphoid tissue directivity and vaccine efficacy of dendritic cells transduced with CCR7 gene by using RGD fiber-mutant adenoviral vector; 20th JSSX-13th NA ISSX Joint Meeting; Oct 23-27
- 34) Masakazu Niwa, Naoki Okada, Akinori Sasaki, Yutaka Hatanaka, Yoichi Tani, Hiroyuki Mizuguchi, Shinsaku Nakagawa, Takuya Fujita, Akira Yamamoto; Analysis of immune cell-recruitment and tumor suppressive effect in murine B16BL6 melanoma injected with chemokine-expressing adenoviral vector; 20th JSSX-13th NA ISSX Joint Meeting; Oct 23-27
- 35) 櫻井文教、川端健二、山口照英、早川堯夫、水口裕之；新規アデノウイルスベクターを用いたヒト造血前駆細胞への遺伝子導入の最適化；第64回日本癌学会総会（札幌）；2005年9月14-16日
- 36) 衛藤佑介、倉知慎之輔、水口裕之、堤康央、早川堯夫、真弓忠範、中川晋作；腫瘍ターゲットング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開発；第64回日本癌学会総会（札幌）；2005年9月14-16日
- 37) 川端健二、櫻井文教、早川堯夫、水口裕之；SDF-1発現アデノウイルスベクターによる血液前駆細胞の骨髄からの動員；第64回日本癌学会総会（札幌）；2005年9月14-16日
- 38) 岡田直貴、岡田裕香、水口裕之、早川堯夫、中川晋作；腫瘍特異的プロモーターを搭載したファイバー改変型アデノウイルスベクターによるマウスメラノーマ自殺遺伝子治療；第64回日本癌学会総会（札幌）；2005年9月14-16日
- 39) 細野哲司、佐藤陽治、山口照英、早川堯夫、水口裕之；Cre組換え酵素を利用したRNAiによる標的遺伝子発現抑制の調整；第64回

- 日本癌学会総会（札幌）；2005年9月14-16日
- 40) 辛 紅兼、平雅彦、鈴木拓児、前門戸任、菊地利明、水口裕之、早川堯夫、貫和敏博、西條康夫；骨髓由来間葉系幹細胞(MSC)を用いた癌組織をターゲティングする免疫遺伝子細胞治療開発；第64回日本癌学会総会（札幌）；2005年9月14-16日
- 41) 水口裕之；カプシドタンパク質の改変によるアデノウイルスベクターの遺伝子導入制御；遺伝子・デリバリー研究会 第5回 夏期セミナー（箱根）；2005年8月2日
- 42) 水口裕之；次世代アデノウイルスベクターの開発と遺伝子機能解析、遺伝子治療、ワクチン等への応用；彩都シンポジウム&サイエンスセミナーSP（大阪）；2005年7月
- 43) Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi; Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction in human hematopoietic progenitors；第11回日本遺伝子治療学会（東京）；2005年7月28-30日
- 44) Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Naoya Koizumi, Naokazu Inoue, Masaru Okabe, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi; Characterization of adenovirus serotype 35 vector-mediated *in vivo* transduction using human CD46-transgenic mice；第11回日本遺伝子治療学会（東京）；2005年7月28-30日
- 45) Asami Ino, Yasuhiro Naito, Hiroyuki Mizuguchi, Naofumi Handa, Takao Hayakawa, Ichizo Kobayashi; A trial of somatic gene targeting *in vivo* with an adenovirus vector; 第11回日本遺伝子治療学会（東京）；2005年7月28-30日
- 46) Naoya Koizumi, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Yoshiteru Watanabe, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi; Ablating CAR and integrins binding and fiber shaft exchange in adenovirus vectors reduces tissue transduction and toxicity after systemic administration; 第11回日本遺伝子治療学会（東京）；2005年7月28-30日
- 47) Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Naoya Koizumi, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi; Mobilization of hematopoietic progenitor cells and pre-B cells from the bone marrow by a SDF-1-expressing fiber-modified adenovirus vector; 第11回日本遺伝子治療学会（東京）；2005年7月28-30日
- 48) Hiroyuki Mizuguchi, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Tomomi Sasaki, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa; Optimized gene transfer into mesenchymal stem cells and embryonic stem cells by modified adenovirus vectors; 第11回日本遺伝子治療学会（東京）；2005年7月28-30日
- 49) Toshiki Sugita, Jian-Qing Gao, Naoko Kanagawa, Yoshiaki Motomura, Takashi Nakayama, Osamu Yoshie, Yutaka Hatanaka, Yoichi Tani, Hiroyuki Mizuguchi, Yasuo Tsutsumi, Shinsaku Nakagawa; Enhanced anti-tumor responses induced by the combination of a couple of stimulators;

IL-12 and CCL27; 第11回日本遺伝子治療学会(東京); 2005年7月28-30日

- 50) Ke-Qin Xin, Kenji Someya, Hiroyuki Mizuguchi, Fumihiko Takeshita, Shin Sasaki, Mitsuo Honda, Kenji Okuda; Prime-boost vaccination with plasmid DNA and a chimeric adenovirus type5 vector with type35 fiber (AD5/35) induces protective immunity against SHIV_{89.6P} infection in monkeys; 第11回日本遺伝子治療学会(東京); 2005年7月28-30日
- 51) Masahiko Kanehira, Hong Xin, Makoto Maemondo, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Kunio Matsumoto, Toshikazu Nakamura, Toshihiro Nukiwa, Yasuo Saij; Tumor targeting anti-angiogenic gene therapy using NK4-expressing bone marrow-derived mesenchymal stem cell; 第11回日本遺伝子治療学会(東京); 2005年7月28-30日
- 52) 櫻井文教、佐々木朋美、川端健二、小泉直也、井上直和、岡部勝、山口照英、早川堯夫、水口裕之; 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in vivo 機能評価; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日
- 53) 小泉直也、川端健二、櫻井文教、渡邊善照、早川堯夫、水口裕之; ターゲティングデリバリーを目的とした非特異的遺伝子導入を抑えたアデノウイルスベクターの開発; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日
- 54) 川端健二、櫻井文教、佐々木朋美、早川堯夫、水口裕之; 改良型アデノウイルスベクターを

用いた各種幹細胞への高効率遺伝子導入; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日

- 55) 森重智弘、衛藤佑介、倉知慎之輔、小泉直也、姚醒蕾、水口裕之、堤康央、早川堯夫、真弓忠範、中川晋作; 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EPR効果に関する検討; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日
- 56) 杉田敏樹、高建青、金川尚子、本村吉章、飯田恵介、堤康央、水口裕之、義江修、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その有効性評価; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日
- 57) 金川尚子、杉田敏樹、高建青、本村吉章、飯田恵介、柳川達也、堤康央、水口裕之、真弓忠範、中川晋作; IL-12 発現アデノウイルスベクターの腫瘍内投与による抗腫瘍効果と免疫細胞の腫瘍内浸潤; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日
- 58) 本村吉章、杉田敏樹、高建青、金川尚子、飯田恵介、堤康央、水口裕之、義江修、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増強機構の解明; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日
- 59) 丹羽貴子、吉川友章、小田淳史、飯田恵介、松尾一彦、下川摩里子、岡田直貴、堤康央、水口裕之、中川晋作; 活性増強変異型抗アポトーシス蛋白質 Bcl-xFNK 発現樹状細胞を用いた腫瘍ワクチン療法; 第21回日本DDS学会(長崎); 2005年7月22-23日

- 60) 高橋梓、近藤昌夫、増山茜、原田東樹、藤井まき子、水口裕之、渡辺善照；タイトジャンクション (TJ) 構成蛋白質 claudin を利用した新規 DDS 方法の確立；第 21 回日本 DDS 学会 (長崎)；2005 年 7 月 22-23 日
- 61) 細野哲司、佐藤陽治、山口照英、早川堯夫、水口裕之；RNAi による標的遺伝子発現抑制を解除するベクター系の開発；第 21 回日本 DDS 学会 (長崎)；2005 年 7 月 22-23 日
- 62) Xin, H., Kanehira, M., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Nukiwa, T. and Saijo, Y. ; Tumor-targeting innumogene therapy by mesenchymal stem cells expressing CX3CL1 ; American Society of Gene Therapy (St. Louis, USA) ; 2005 年 6 月 1-5 日
- 63) Mizuguchi, H., Kawabata, K., Sakurai, F., Sasaki, T., Yamaguchi, T. and Hayakawa, T. ; Optimized gene transfer into mesenchymal stem cells and embryonic stem cells by modified adenovirus vectors ; American Society of Gene Therapy (St. Louis, USA) ; 2005 年 6 月 1-5 日
- 64) Koizumi, N., Mizuguchi, H., Kawabata, K., Sakurai, F., Watanabe, Y. and Hayakawa, T. ; Reductions in tissue transduction and toxicity after systemic administration of adenovirus vectors containing fiber-shaft exchange in combination with both CAR- and αv integrin-binding ablation ; American Society of Gene Therapy (St. Louis, USA) ; 2005 年 6 月 1-5 日
- 65) Hama, S., Akita, H., Ito, R., Mizuguchi, H., Hayakawa, T. and Harashima, H. ; Quantitative Comparison of the intracellular trafficking and expression pattern of the exogenous genes between the adenovirus and artificial vector; American Society of Gene Therapy (St. Louis, USA) ; 2005 年 6 月 1-5 日
- 66) Sakurai, F., Mizuguchi, H., Kawabata, K., Yamaguchi, T. and Hayakawa, T. ; Optimization of adenovirus serotype 35 vectors for efficient transduction in human hematopoietic progenitors; comparison of promoter activities ; American Society of Gene Therapy (St. Louis, USA) ; 2005 年 6 月 1-5 日
- 67) Harui, A., Sanghvi, M., Vira, D., Mizuguchi, H., Roth, M.D., Basak, S. ; Integrin αv (α_v) expression on dendritic cells identifies a subset with unique antigen presenting activity following adenoviral transduction ; American Association of Cancer Research 96th Annual Meeting 2005 (Anaheim, USA) ; 2005 年 4 月 16-20 日
- 68) Harui, A., Vira, D., Sanghvi, M., Mizuguchi, H., Roth, M.D., Basak, S. ; Enhancing dendritic cells transduction by combining RGD-adenovirus vectors with centrifugation ; American Association of Cancer Research 96th Annual Meeting 2005 (Anaheim, USA) ; 2005 年 4 月 16-20 日
- 69) Yusuke Eto, Jian-Qing Gao, Shinnosuke Kurachi, Tomohiro Morishige, Hiroyuki Mizuguchi, Yasuo Tsutsumi, Tadanori Mayumi, Shinsaku Nakagawa; Modification of adenovirus vector with polyethylene

glycol enhances accumulation and gene expression in tumor via intravenous injection ; AACR (American Association for Cancer Research) 96th Annual Meeting 2005 (CA, USA) ; 2005年4月16-20日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当事項なし

2. 実用新案登録

該当事項なし

3. その他

該当事項なし

Table. 1 Adenovirus vectors used in the present study.

Name	Fiber type	Promoter
Ad-CMV-lacZ	Type 5 fiber	CMV promoter
AdRGD-CMV-lacZ	RGD peptide in the HI loop of the fiber knob	CMV promoter
AdK7-CMV-lacZ	Polylysine peptide in the C-terminal of the fiber knob	CMV promoter
Ad-CA-lacZ	Type 5 fiber	CA promoter
AdRGD-CA-lacZ	RGD peptide in the HI loop of the fiber knob	CA promoter
AdK7-CA-lacZ	Polylysine peptide in the C-terminal of the fiber knob	CA promoter

CA promoter: β -actin promoter/CMV enhancer with β -actin intron

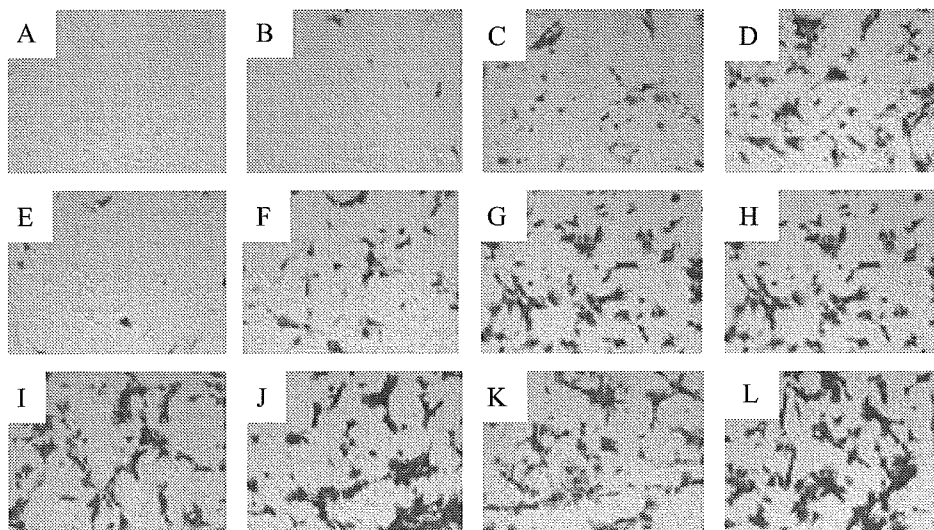


Fig.1 X-gal staining of mouse mesenchymal stem cells transduced with Ad vectors.

Mouse mesenchymal stem cells were transduced with 2500 VP/cell (A, C, E, G, I, K) or 12500 VP/cell (B, D, F, H, J, L) of Ad-CMV-lacZ (A, B), AdRGD-CMV-lacZ (E, F), AdK7-CMV-lacZ (I, J), Ad-CA-lacZ (C, D), AdRGD-CA-lacZ (G, H), or AdK7-CA-lacZ (K, L) for 1.5 hr. Two days after infection, X-gal staining was performed.

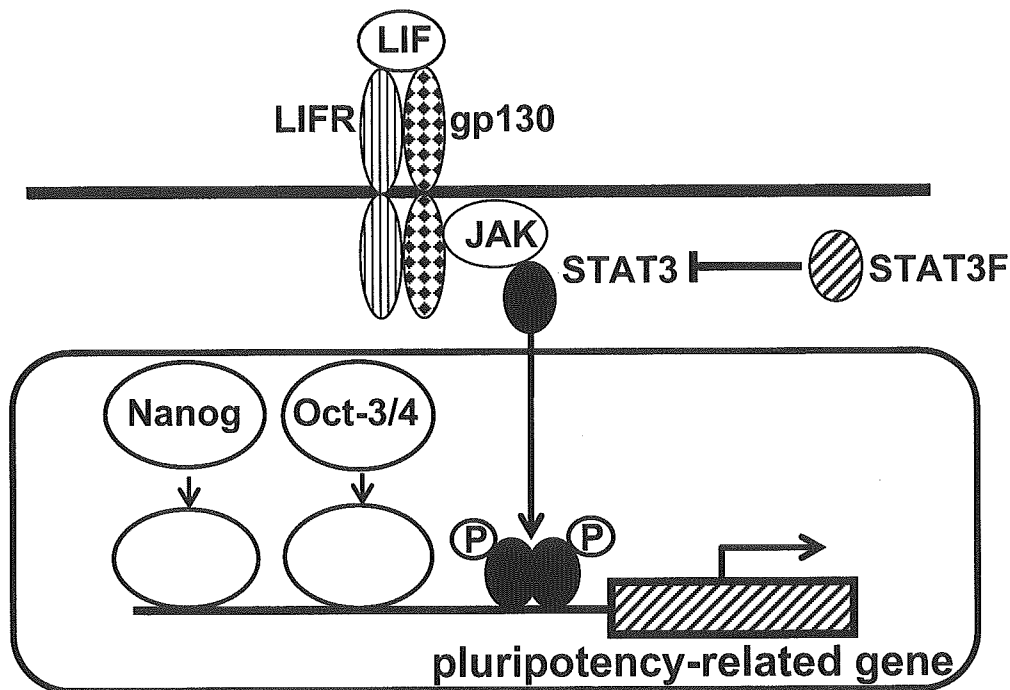


Fig. 2 Mechanism of pluripotency in mES cells.

LIF/JAK/STAT signaling pathway is essential for maintaining the undifferentiated state of mES cells. STAT3F, which is the dominant-negative mutant of STAT3, can proceed the differentiation of mES cells by intercepting the LIF signal. Both transcription factors, Nanog and Oct-3/4, are also related with the multipotency of mES cells.

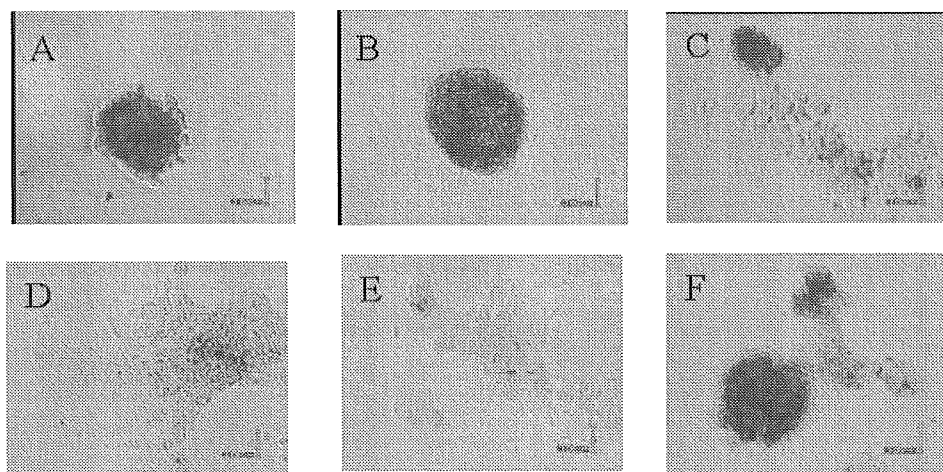


Fig. 3 Introduction of functional genes into mES cells by Ad vectors containing EF-1 α promoter.

mES cells (1×10^4 cells) were seeded, and on the following day, the cells were transduced with 3000 VP/cell of none (A), Ad-EF-LacZ (B), Ad-EF-Oct3/4 (C), or Ad-EF-STAT3F (D) for 1.5 hr. mES cells were also co-infected with 3000 VP/cell of Ad-EF-STAT3F and 3000 VP/cell of Ad-EF-lacZ (E) or Ad-EF-Nanog (F) for 1.5 hr. On day 3, each cell was infected again by the same vectors. On day 5, alkaline phosphatase staining was performed. Alkaline phosphatase-positive red cells indicate undifferentiated ES cells.

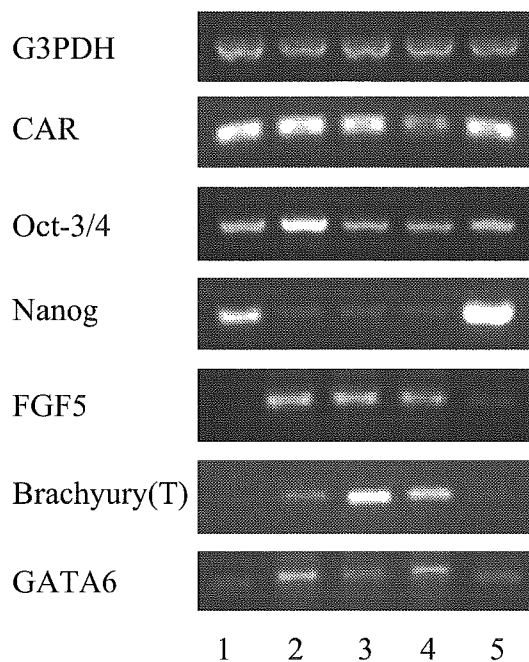


Fig. 4 RT-PCR analysis of germ layer markers.

Total RNA was isolated from mES cells transduced with Ad-EF-LacZ (lane 1), Ad-EF-Oct3/4 (lane 2), Ad-EF-STAT3F (lane 3), Ad-EF-STAT3F and Ad-EF-LacZ (lane 4), or Ad-EF-STAT3F and Ad-EF-Nanog (lane 5).