

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンスに関する研究

第4分野

創薬に係る臨床研究ならびに稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

第6分野

医療材料および製剤設計技術の開発に関する研究

第7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

目 次

第1分野

課題番号

KH11001	バイオフィotonクスを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 …… 1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 …… 11
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(総合研究報告)	松田潤一郎 …… 13
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(平成17年度報告)	松田潤一郎 …… 17
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 25

第2分野

KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸(S1P)受容体(S1P3)の拮抗薬の開発	望月直樹 …… 31
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 …… 35
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 …… 47
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 …… 58
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 …… 66
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 …… 70
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG-1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 …… 77
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 …… 86
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 …… 96
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 …… 102
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 …… 108
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 …… 113
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(総合研究報告)	野々垣勝則 …… 117
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(平成17年度報告)	野々垣勝則 …… 120

KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（総合研究報告）	田平 武 …… 124
KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（平成17年度報告）	田平 武 …… 129
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山 耕造 …… 134
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出 利光 …… 142
KH21021	エンドキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島 正弘 …… 148
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木 哲朗 …… 152
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西 正孝 …… 156
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤 準一 …… 160
KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 167
第3分野		
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡 澄江 …… 175
KH31025	生薬及び漢方処方 of 科学的品質保証に関する研究	合田 幸広 …… 185
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤 由起子 …… 194
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美 健彦 …… 200
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里 勝利 …… 210
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山 行雄 …… 218
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクスの手法の開発に関する研究	斎藤 嘉朗 …… 226
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口 照英 …… 235
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 243
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（総合研究報告）	頭金 正博 …… 252
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（平成17年度報告）	頭金 正博 …… 257
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎 ナナ …… 261

KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 271
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 281
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 288
第4分野		
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	網脇祥子 …… 307
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍兒 …… 315
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 319
第5分野		
KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法（DLI）の実用化	藤原成悦 …… 327
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（総合研究報告）	安枝 浩 …… 336
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（平成17年度報告）	安枝 浩 …… 342
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字 …… 349
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 …… 359
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 …… 367
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 …… 372
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 …… 376
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 …… 383
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（総合研究報告）	竹森利忠 …… 387
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（平成17年度報告）	竹森利忠 …… 395
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 …… 401
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 …… 406

KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 …… 410
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 …… 418
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 …… 422
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 …… 428
KH51055	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	森川 茂 …… 431
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（総合研究報告）	鈴木孝昌 …… 437
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（平成17年度報告）	鈴木孝昌 …… 442
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 …… 452
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 …… 459
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 …… 464
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（総合研究報告）	浅沼秀樹 …… 466
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（平成17年度報告）	浅沼秀樹 …… 471
第6分野		
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 …… 479
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 …… 500
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 …… 511
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（総合研究報告）	澁谷統壽 …… 516
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（平成17年度報告）	澁谷統壽 …… 524
第7分野		
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法確立に関する研究	乾 賢一 …… 531
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 …… 540
KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究ーヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作りー（総合研究報告）	松浦成昭 …… 548

KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究－ ヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作り－（平 成17年度報告）	松浦成昭 …… 554
KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・ 細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 559
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模 臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（総合 研究報告）	森川 馨 …… 569
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模 臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（平成 17年度報告）	森川 馨 …… 575
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 …… 591
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込細胞チップとナノセンサーによる 新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサ ーの開発	永森静志 …… 601
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬 効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤 の開発	西尾和人 …… 611
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺 伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野泰雄 …… 617
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的 評価	澤田康文 …… 628
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資 源高度化に関する研究（総合研究報告）	小林真一 …… 634
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資 源高度化に関する研究（平成17年度報告）	小林真一 …… 640

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術 の開発

所属 大阪大学微生物病研究所
研究者 松浦善治

研究要旨：遺伝子型の異なるC型肝炎ウイルス(HCV)のエンベロープ蛋白質をポリプロテインの形で発現させたCHO細胞と293T細胞を用いて、HCVのエンベロープ蛋白質を被ったシュードタイプ水疱性口内炎ウイルス、HCVpv/CHOとHCVpv/293Tをそれぞれ作製した。HCVpv/CHOはhFGFR5依存的にHepG2細胞に高い感染性を示したのに対し、HCVpv/293TはhCD81依存的にHuh7細胞に高い感染性を示した。また、慢性C型肝炎患者血清中にはHCVpv/293Tに対する高い中和抗体が高率に検出されたのに対し、HCVpv/CHOに対する中和抗体価は低かった。C型肝炎患者の体内にはhCD81-tropicとhFGFR5-tropicなHCVが産生されている可能性が示唆された。高度弱毒化ワクチニアウイルスDIsに外来遺伝子を組み込む手法を用いて、タマリンなど小型霊長類にウイルス性肝炎を発症させるウイルスGBV-Bの蛋白を発現する組換えウイルスを取得し、哺乳類細胞に感染させたところ、各目的蛋白の強い発現が確認された。また、マウスにこれらの組換えウイルスを投与したところ、目的蛋白に対する抗体価の上昇が見られた。Cyclosporine Aと類似化合物の抗HCV作用をスクリーニングするため、peptidyl prolyl isomerase阻害活性を指標にしたスクリーニング系の構築に着手した。

分担研究者名

- (1) 大阪大学微生物病研究所 森石恆司
- (2) 国立感染症研究所 鈴木哲朗
- (3) 三菱ウェルファーマ株式会社 伊丹清馬

A. 研究目的

輸血による感染症の最も大きな原因の一つであるC型肝炎ウイルス(HCV)は、その遺伝子構造の解析からベステイウイルスやフラビウイルスに近縁なプラス鎖RNAウイルスであることが明らかにされている。高感度なHCV抗体アッセイ系の導入により、先進国では輸血によるHCV感染は激減した。しかしながら、本邦だけでも200万人以上、全世界では2億人ものHCVキャリアーが既に存在するものと推定されており、感染予防ばかりでなく既感染者の発症予防やウイルスの排除法の確立が強く望まれている。HCV感染の最も深刻な問題点は、惹起される肝炎の多くが慢性化し、その大部分は持続感染したまま肝硬変、肝癌へ移行する点である。しかしながら、効率のよいHCVのin vitroでの複製系や細胞培養系が存在しないため、HCVによる肝炎及び肝癌発症機構の解析はあまり進んでいない。さらに、HCVの感染過程の知見も極めて乏しく、リセプターに関する研究もあまり進んでいない。本研究事業では、HCVの感染複製過程を解析し、その成績を基にした抗ウイルス剤や治療用ワクチンの開発を目的とする。

B. 研究方法

(1) キメラエンベロープ蛋白質を被ったシュードタイプウイルスを用いて、HCVの感染機構の解析を進

めてきた。今回新たに、遺伝子型の異なるHCVのエンベロープ蛋白質をポリプロテインの形で発現させたCHO細胞と293T細胞を用いて、シュードタイプ水疱性口内炎ウイルス(HCVpv)を作製した。

(2) GBV-B全長cDNAを持つプラスミドからゲノムRNAを合成し、タマリンに接種して感染が成立するか、成立した場合ウイルス肝炎を発症させられるかどうかを検討した。また、GBV-Bの構造蛋白または非構造蛋白の遺伝子を、DIsへ外来遺伝子を挿入するためのトランスファーベクターに組み込み、DIsを感染させたニワトリ胎児繊維芽細胞(CEF)中で相同組換えを起こさせることにより各種組換えウイルスを取得した。これらの組換えDIsを哺乳類細胞に感染させ、目的蛋白の発現を確認した後、純化したウイルスをマウスに皮下あるいは経鼻接種し、目的蛋白に対する液性、細胞性免疫誘導能の検討を行った。

(3) Cyclosporine A(CsA)の抗HCV活性に関する作用点はcyclophilinのpeptidyl prolyl isomerase(PPIase)阻害活性であることが推測されることから、cyclophilinA、cyclophilinB、cyclophilinDを大腸菌で発現し、PPIase活性評価系を構築する。

(倫理面への配慮)

本研究にあたっては、試料提供者、その家族、および同様の肝疾患患者の人権、尊厳、利益が保護されるよう十分に配慮する。具体的には、厚生労働省等で検討されている「ヒトゲノム解析に関する共通指針」に則り各研究実施機関の医学研究倫理審査委員会に申請し、インフォームドコンセントに係

る手続きを実施し、また提供試料、個人情報厳格に管理、保存する。

C. 研究結果

(1) HCV の受容体候補分子である hCD81 を全く発現していない HepG2 細胞に HCVpv が感受性を示すことから、HCV の感染に hCD81 以外の細胞表面因子の関与が示唆された。HCVpv の感染はヒト繊維芽細胞成長因子 (hFGF)、特に FGF2 と FGF7 によって阻害され、可溶化型の hFGF 受容体 5 (hFGFR5) が HCVpv の感染性を特異的に阻害した。また、hFGFR5 を恒常的に発現する CHO 細胞株は HCVpv の感染を許容できるようになり、siRNA によって hFGFR5 を HepG2 細胞からノックダウンさせると感受性の低下が観察されたことから、hFGFR5 が HCVpv の新規受容体であることが示唆された。これまでは、CHO 細胞で発現させた HCV エンベロープ蛋白質を被ったシュードタイプウイルスを用いて解析を進めてきたが、293T 細胞で作製したシュードタイプレトロウイルスは hCD81 依存的な感染性を示し、HepG2 細胞には全く感受性を示さなかった。そこで、HCV のエンベロープ蛋白質を発現させた CHO 細胞と 293T 細胞を用いて、それぞれ HCVpv/CHO と HCVpv/293T を作製した。両シュードタイプウイルスとも高マンノース型のエンベロープ蛋白質を保持していた。HCVpv/CHO は hFGFR5 依存的に HepG2 細胞に高い感染性を示したのに対し、HCVpv/293T は hCD81 依存的に Huh7 細胞に高い感染性を示した。また、慢性 C 型肝炎患者血清中には HCVpv/293T に対する高い中和抗体が高率に検出されたのに対し、HCVpv/CHO に対する中和抗体価は低かった。患者血清中に存在する天然の HCV 粒子も、HCVpv と同様に HepG2 細胞と Huh7 細胞に結合した。HCV 粒子の HepG2 細胞への結合は可溶型 hFGFR5 や抗 hFGFR5 抗体で、また、Huh7 細胞への結合は抗 hCD81 抗体によって阻害された。

(2) タマリンにウイルスゲノム RNA を接種することで、肝機能マーカーである ALT、AST の顕著な上昇が接種後平均 2 週目から観察され、急性肝炎を発症していることが確認できた。急性期には血中からも GBV-B RNA が検出されたが、接種後 8 週程度で血中から消失し、ほぼ同時期に肝機能マーカーも正常に回復した。現在、慢性肝炎を誘導するための飼育条件を検討している。一方、抗 GBV-B 抗体価はウイルスが血中から消失した後も高いレベルで維持されており、個体から完全にウイルスが排除されずに潜伏している可能性も示唆された。

GBV-B の core、E1、E2 (以上は構造蛋白)、NS3、NS5A (非構造蛋白) 領域を組み込んだ組換え DIIs を取得し、哺乳類細胞に感染させたところ目的蛋白が発現していることが確認できた。これらの組換えウイルスをマウスに皮下接種した場合、いずれの蛋白の場合も目的蛋白に対する液性、

細胞性免疫が誘導された。今後、同様の接種実験をタマリンで行って免疫誘導能を検討し、GBV-B を感染させることによるワクチン効果の検討も行う。

(3) CsA 濃度依存的な酵素阻害活性が確認できた。IC50 は約 10nM で文献値とほぼ同等であった。しかし、本 PPIase assay 系は反応速度が非常に速く、基質添加後 30 秒以内にペプチドの切断をほぼ終了してしまった。今後のさらなる改良が必要と考えられた。

D. 考察

(1) hFGFR5 は HCV の新しい受容体候補分子であることが示された。293T 細胞で作製した HCVpv はレトロウイルスで作製したシュードタイプと同様に hCD81 依存的な感染指向性を示し、CHO 細胞で作製すると hFGFR5 依存的に感染することが示された。また、C 型肝炎患者血清中にも同様な親和性を示す HCV 粒子が存在することが示された。

(2) DIIs は約 40 年前に副作用のない種痘の候補としてヒトへの投与実験も行われており、安全性の高さはすでに確認されている。GBV-B 蛋白を発現する組換え DIIs は、マウスに接種した場合ターゲットとなるウイルス蛋白に対する液性、細胞性免疫を誘導した。従ってこれらの組換え DIIs は安全な組換え生ワクチンの有望な候補であると考えられる。今後は、本研究で確立した GBV-B 肝炎モデル動物を用いたワクチン効果の検討を行う。前もって組換え DIIs を接種した動物への GBV-B 接種で感染から防御されるか、あるいは GBV-B 肝炎発症動物に組換え DIIs を接種して GBV-B を排除できるかどうかを検討する。

(3) Cyclophilin A、B、D を大腸菌で発現し酵素活性を評価する系の構築に成功した。しかし、酵素反応が非常に早く制御が難しい系であるためさらなる改良が必要と考えられた。

E. 結論

1) C 型肝炎患者の体内には hCD81-tropic と hFGFR5-tropic な HCV が産生されている可能性が示唆された。

2) 組換え DIIs は生体内で目的蛋白に対する液性、細胞性及び粘膜免疫を誘導することができ、安全な組換え生ワクチンとしての応用が期待される。

3) Cyclosporine A の peptidyl prolyl isomerase 阻害活性を指標にした、抗 HCV 薬のスクリーニング系を構築した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hamamoto I, Nishimura Y, Okamoto T, Aizaki H, Liu M, Mori Y, Abe T, Suzuki T, Lai MM,

- Miyamura T, Moriishi K, and Matsuura Y. Human VAP-B Is Involved in Hepatitis C Virus Replication through Interaction with NS5A and NS5B. *J. Virol.* **79**:13473-13482, (2005).
- 3 Li TC, Takeda N, Miyamura T, Matsuura Y., Wang JC, Engvall H, Hammar L, Xing L, and Cheng RH. Essential elements of the capsid protein for self-assembly into empty virus-like particles of hepatitis E virus. *J. Virol.* **79**, 12999-13006, (2005).
 - 4 Abe T, Hemmi H, Moriishi K, Tamura S, Takaku H, Akira S, and Matsuura Y. Involvement of the toll-like receptor 9 signaling pathway in the induction of innate immunity by baculovirus. *J. Virol.* **79**, 2847-2858, (2005).
 - 5 Kitagawa Y, Tani H, Limn CK, Matsunaga TM, Moriishi K, and Matsuura Y. Ligand-directed gene targeting to mammalian cells by pseudotype baculoviruses. *J. Virol.* **79**, 3639-3652, (2005).
 - 6 Mori Y, Okabayashi T, Yamashita T, Zhao Z, Wakita T, Yasui K, Hasebe F, Tadano M, Konishi E, Moriishi K, and Matsuura Y. Nuclear localization of Japanese encephalitis virus core protein enhances viral replication. *J. Virol.* **79**, 3448-3458, (2005).
 - 7 Suzuki R, Sakamoto S, Tsutsumi T, Rikimaru A, Tanaka K, Shimoike T, Moriishi K, Iwasaki T, Mizumoto K, Matsuura Y., Miyamura T, and Suzuki T. Molecular determinants for subcellular localization of hepatitis C virus core protein. *J. Virol.* **79**, 1271-1281, (2005).
 - 8 Ishii K., Hasegawa H., Nagata N., Mizutani T., Morikawa S., Tashiro M., Suzuki T., Taguchi F., Takemori T., Tsunetsugu-Yokota Y. and Miyamura T. Induction of Protective Immunity against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection using Highly Attenuated Recombinant Vaccinia Virus DIs. *Virology* in press.
 - 9 Murakami K., Ishii K., Ishihara Y., Yoshizaki S., Tanaka K., Gotoh Y., Aizaki H., Kohara M., Yoshioka H., Mori Y., Manabe N., Shoji I., Sata T., Bartenshalager R., Matsuura Y., Miyamura T. and Suzuki T. Production of infectious hepatitis C virus particles in three-dimensional cultures of the cell line carrying the genome-length dicistronic viral RNA of genotype 1b. *Virology* in press.
 - 10 Matsuyama S., Ujike M., Ishii K., Fukushi S., Morikawa S., Tashiro M. and Taguchi F. Enhancement of SARS-CoV infection by proteases. *Adv. Exp. Med. Biol.* in press. (2006)
 - 11 Ishii K., Hasegawa H., Nagata N., Mizutani T., Morikawa S., Tashiro M., Suzuki T., Taguchi F., Takemori T., Miyamura T. and Tsunetsugu-Yokota Y. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. *Adv. Exp. Med. Biol.* in press. (2006)
 - 12 Ohnishi K., Sakaguchi M., Kaji T., Akagawa K., Taniyama T., Kasai M., Tsunetsugu-okota Y., Ohshima M., Yamamoto K., Takasuka N., Hashimoto S., Ato M., Fujii H., Takahashi Y., Morikawa S., Ishii K., Sata T., Takagi H., Itamura S., Odagiri T., Miyamura T., Kurane I., Tashiro M., Kurata T., Yoshikura H. and Takemori T. Immunological detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus by monoclonal antibodies. *Japanese Journal of Infectious Diseases.* **58**: 88-94 (2005)
2. 学会発表
 - 1 Itsuki Hamamoto, Yorihiro Nishimura, Toru Okamoto, Hideki Aizaki, Minyi Liu, Yoshio Mori, Takayuki Abe, Tetsuro Suzuki, Micheal M.C. Lai, Tatsuo Miyamura, Kohji Moriishi and Yoshiharu Matsuura. Human VAP-B is involved in HCV replication through interaction with NS5A and NS5B. 121th International Meeting on HCV and Related Viruses, Montreal, Canada, October 2-7, 2005.
 - 2 Hironobu Miyamoto, Kohji Moriishi, Kyoji Moriya, Tetsuro Suzuki, Kazuhiko Koike, Tatsuo Miyamura, and Yoshiharu Matsuura. Involvement of PA28gamma in the development of insulin resistance in the HCV core gene transgenic mice. 同上。
 - 3 Kosuke Nakai, Kohji Moriishi, Chang Kwang Limn, Toru Okamoto, Tetsuro Suzuki, Jack H. Nunberg, Tatsuo Miyamura, and Yoshiharu Matsuura. Multimerization of HCV core protein is required for the interaction with the cytoplasmic region of E1 protein. 同上。
 - 4 Hideki Tani, Yasumasa Komoda, Tetsuo Yamashita, Kensuke Suzuki, Eiko Matsuo, Itsuki Hamamoto, Yoshimi Tsuda, Chang Kweng Lim, Kohji Moriishi, Arvind H. Patel, Tatsuo Miyamura, and Yoshiharu Matsuura. Cell tropism of pseudotype VSV bearing HCV envelope proteins expressed in different cell lines. 同上。
 - 5 Yasumasa Komoda, Hideki Tani, Chang Kweng Lim, Kensuke Suzuki, Eiko Matsuo, Yoshimi Tsuda, Kohji Moriishi, Arvind H. Patel, Tatsuo Miyamura, and Yoshiharu Matsuura. Human fibroblast growth factor receptor 5 is a novel candidate entry receptor for HCV. 同上。
 - 6 Ishii K., Iijima S., Kimura N., Iwata N.,

- Yagi S., Yamaguchi K., Maki N., Yoshizaki S., Machida S., Suzuki T., Sata T., Miyamura T. and Akari H. GBV-B is a pleiotropic virus *in vivo*. 同上。
- 7 Murakami K., Ishihara Y., Ishii K., Yoshizaki S., Aizaki H., Tanaka K., Kohara M., Shoji I., Sata T., Bartenshalager R., Miyamura T. and Suzuki T. Thermoreversible gelation polymer-based three-dimensional culture system to produce HCV particles from cells harboring the genome-length dicistronic RNA. 同上。
- 8 Ishii K., Yokota Y., Takemori T., Hasegawa H., Nagata N., Mizutani T., Morikawa S., Tashiro M., Suzuki T., Taguchi F. and Miyamura T. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Xth International Nidovirus Symposium, Colorado Springs, USA, June 25-30. 2005.
- 9 浜本いつき、岡本 徹、相崎英樹、西村順裕、森 嘉生、阿部隆之、鈴木哲朗、宮村達男、森石恆司、松浦善治：C型肝炎ウイルスの複製における宿主因子 VAP-B の機能、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、平成 17 年 11 月 21-23 日。
- 10 谷 英樹、菰田泰正、山下哲生、鈴木健介、松尾栄子、浜本いつき、津田祥美、林 昌宏、森石恆司、考藤達哉、林 紀夫、宮村達男、松浦善治：HCV エンベロープ蛋白質を被ったシュードタイプ VSV の感染機構、同上。
- 11 岡本 徹、西村順裕、市村 徹、鈴木哲朗、宮村達男、森石恆司、松浦善治：C型肝炎ウイルス NS5A と相互作用する新しい宿主因子の同定、同上。
- 12 森 嘉生、山下哲生、森石恆司、松浦善治：日本脳炎ウイルスコア蛋白質のプロセッシング機構、同上
- 13 宮本大伸、森石恆司、森屋恭爾、小池和彦、鈴木哲朗、宮村達男、松浦善治：C型肝炎ウイルスコア蛋白質によるインスリン抵抗性誘発における PA28 γ の役割、同上。
- 14 岡本貴世子、森石恆司、大河内正康、武田雅俊、松浦善治：シグナルペプチドペプチダーゼによる HCV コア蛋白質のプロセッシングとその生物学的意義、第 28 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 17 年 12 月 8-11 日。
- 15 石井孝司、横田恭子、竹森利忠、長谷川秀樹、永田典代、森川 茂、水谷哲也、田口文広、田代真人、鈴木哲朗、宮村達男：高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討、同上。
- 16 石井孝司、飯島沙幸、山口健次郎、榎 昇、八木慎太郎、森 健一、吉崎佐矢香、李 永仲、木村展之、揚山直英、鈴木哲朗、宮村達男、明里宏文：タマリンを用いた C 型肝炎のサロゲートモデル：tissue tropism に関する解析、同上。
- 17 村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、相崎英樹、田中恵子、小原道法、勝二郁夫、佐多徹太郎、宮村達男、鈴木哲朗：三次元肝細胞培養システムによる C 型肝炎ウイルス (HCV) 粒子形成とその応用、同上。
- 18 飯島沙幸、石井孝司、李 永仲、八木慎太郎、山口健次郎、榎 昇、吉崎佐矢香、町田早苗、木村展之、揚山直英、寺尾恵治、鈴木哲朗、宮村達男、明里宏文：サル類を用いた C 型肝炎の新規感染病態モデルの樹立、第 140 回日本獣医学会、平成 17 年 10 月、鹿児島
- 19 石井孝司、横田恭子、大西和夫、竹森利忠、長谷川秀樹、永田典代、森川 茂、水谷哲也、田口文広、田代真人、鈴木哲朗、宮村達男：高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討、第 9 回日本ワクチン学会、平成 17 年 10 月、大阪。
- H. 知的所有権の出願・登録状況
特許出願
- 1 2005-300350・石井孝司他 4 名・新規 RNA 結合ペプチド・2005 年 9 月 26 日出願
- 2 2004-242937・石井孝司他 12 名・財団法人ヒューマンサイエンス振興財団・SARS-コロナウイルスタンパク質の全部もしくは一部のタンパク質をコードする DNA をゲノム DNA 上に保有し、該タンパク質を発現し得る組換えワクチニアウイルス DIs 株。・2004 年 8 月 23 日出願、同海外出願
- 3 004-225043・石井孝司他 4 名・独立行政法人医薬品医療機器総合機構・HCV ウイルスタンパク質をコードする DNA を保有する組換えワクチニアウイルス DIs 株、およびその利用・2004 年 8 月 2 日出願

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

平成18年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

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

印刷 株式会社 ソーラン社