

平成17年度

若手研究者奨励研究報告書

平成17年度

若手研究者奨励研究報告書

目 次

HS研究

第1分野

課題番号

KH13301	テーラーメイド医療に向けた不整脈誘起性薬剤の先端的スクリーニング系の開発に関する研究（総合研究報告）	西田基宏 ……	1
KH13301	テーラーメイド医療に向けた不整脈誘起性薬剤の先端的スクリーニング系の開発に関する研究（平成17年度報告）	西田基宏 ……	6
KH13302	再生医療を目的としたアデノウイルスベクターによるES細胞への効率的な遺伝子導入・発現系の開発	川端健二 ……	10

第2分野

KH23303	腎不全の進展・増悪因子の解明と腎機能保護法の開発に関する研究	増田智先 ……	15
KH23304	Toll様受容体（TLR3）を介したミクログリア活性化機序の解明と脳炎治療薬開発のためのハイスループット試験系への応用	中道一生 ……	22
KH23306	吸血昆虫唾液腺生理活性物質の特性解明と創薬への応用に関する研究	伊澤晴彦 ……	27
KH23307	アポトーシス関連分子EATの機能制御によるES細胞の増殖・分化培養法の開発	大喜多 肇 ……	34
KH23331	寄生性原虫の生育に必要な脂質成分の代謝と輸送ならびに創薬探索に関する基礎的研究	中野由美子 ……	39

第3分野

KH33308	向精神薬のSNPs解析による有効性・安全性に関する研究	橋本亮太 ……	47
KH33309	ヒトの薬物体内動態の予測向上を目指した薬物代謝酵素および薬物トランスポーターの誘導に関するインシリコ予測	小林カオル ……	55
KH33310	薬剤排出トランスポーターの基質輸送メカニズムに関する研究	田辺公一 ……	60
KH33332	制癌分子標的療法の創薬と開発にかかわるブリッジングスタディの基礎的および応用的研究	川上浩司 ……	65

第5分野

KH53312	LEE遺伝子群非保有型腸管出血性大腸菌の疫学マーカーおよび新規治療薬の標的となる病原性遺伝子に関する基礎的研究	伊豫田 淳 ……	69
KH53313	遺伝子修飾による樹状細胞の機能強化に基づいた新規癌免疫療法の開発	岡田直貴 ……	74
KH53314	PET検査を用いた癌二次予防の診断アルゴリズムの開発、PET検診施設間のネットワーク構築および死亡率低下の検証研究	小島伸介 ……	84

KH53315	網羅的遺伝子破壊による真菌症病原性発現の分子機構の解明と新規抗真菌剤開発への応用に関する研究	梅山 隆 …… 89
KH53333	治療ターゲットとしてのFc γ 受容体を介したデング出血熱の病態形成機序の解析	林 昌宏 …… 94
エイズ研究		
第1分野		
KA13701	ヘルペスウイルス感染症の新規制御法の確立と潜伏感染機構の解明	藤室雅弘 …… 99

エイズ医薬品等開発研究

第1分野

抗エイズウイルス薬、エイズ付随症状
に対する治療薬の開発に関する研究

ヘルペスウイルス感染症の新規制御法の確立と潜伏感染機構の解明

所 属 北海道大学大学院薬学研究科 生化学分野
研究者 藤室 雅弘

研究要旨 エイズ発症者や臓器移植者において日和見感染症を引き起こすヘルペスウイルス制圧のため、siRNA や核酸誘導体を用いた抗ヘルペスウイルス薬の開発、ウイルス感染診断システムの構築と臨床応用、ヘルペスウイルスの潜伏感染機構の解析を遂行した。

A. 研究目的

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) は 1994 年に同定された最も新しい型の γ -ヘルペスウイルスで、健常者に感染すると深刻な疾患を起こさずに潜伏感染し、エピゾームとして宿主核内で維持される。しかし、潜伏感染者の免疫不全、例えばエイズ発症や免疫抑制剤の投薬下において、KSHV はカポジ肉腫やB細胞性リンパ腫を引き起こす。KSHV は感染後、潜伏感染関連核抗原 (LANA) を発現する。LANA はエピゾームの保持と宿主細胞のがん化という二つの役割を果たすと考えられているが、発がん機構については不明な点が多い。

カポジ肉腫は、KSHV 感染B細胞や血液中のウイルス粒子によって感染した血管内皮細胞から発生する。紡錘状細胞と脈管構造が混合しながら進行し、皮膚表面上において斑点状の青紫色の病変として現れる。その病変が内臓器官に生じた場合は死に至ることもある。カポジ肉腫は外見上顕著に症状が表れることから、エイズ患者に更に心的なダメージを与えることが多い。日本において、エイズ患者の自殺者の多くがカポジ肉腫を発症している事がその特徴的な事実を証明している。

KSHV は、ガンシクロビル等の既存の抗ウイルス薬に対して抵抗性を示す。一方、アントラサイクリン系の抗癌剤であるドキソルビシンはカポジ肉腫に対して有効

だが、骨髄抑制や血液毒性等の重篤な副作用がある。また、世界各国の臓器移植の増加に伴い、KSHV 感染ドナーによって提供されるウイルス汚染臓器を介したレシピエントの新興感染とカポジ肉腫発症という新たな問題が生じている。現在、日本においては HIV 感染者や臓器移植者が少数なため、KSHV 感染症についての議論は少ないが、今後、これらが深刻に問題視されるのは明らかである。

これらの背景と社会的要請により、本申請研究では以下の3つの研究を実施した。

- ①ヘルペスウイルス (KSHV、EBV) 感染がん細胞に対する新規抗ウイルス薬の開発。また、LANA の機能阻害を抗 KSHV 薬開発のためのシーズと考え、干渉性 RNA (siRNA) を用いた LANA の恒常的ノックダウンの臨床応用へ向けた研究開発についても行なった
- ②ヘルペスウイルス感染診断システムの構築とその応用。我々は既に、エイズや臓器移植患者において日和見感染症を引き起こす KSHV、EBV、HCMV 感染を網羅的に診断する DAN アレイとマルチプレックス PCR 法を用いて疫学的調査を実施した。また、リアルタイム PCR を用いたウイルス定量系についても開発を試みた
- ③KSHV 潜伏感染機構と発がん機構の解明。KSHV は 1994 年に全遺伝子が決定され、潜伏感染や発がん機構につい

て不明な点が多いウイルスである。KSHV の発現する潜伏期関連核抗原 (LANA) は KSHV エピゾームの複製と宿主細胞がん化を行なう最も重要なウイルス蛋白質と考えられている。そこで我々は、潜伏感染や発がんに関わる LANA の機能解析のため、細胞性の LANA 結合タンパク質の探索を行なった。

本研究により得られる成果は、KSHV 感染症の治療法や日和見感染症の予測と予防、また、臓器移植時のウイルス被曝リスク低減を実現することとなり、多くのエイズ患者や臓器移植者に対する医療行為に貢献できるものと確信する。

B. 研究方法と研究結果

① 新規抗ウイルス薬の開発

(1) ヌクレオシド系薬物

核酸誘導体を骨格に持つ抗ウイルス薬が選択的抗ウイルス活性を発現するためには、ウイルスが発現するヌクレオシドリン酸化酵素により選択的かつ効率的にリン酸化される必要がある。そこで、我々はウイルスリン酸化酵素に高い選択性を有するアシクロビル (広く臨床で用いられている主要な抗ヘルペス薬) のプリン塩基誘導体と新規作用機序で強力な DNA 切断活性と DNA 鎖合成阻害活性を有する抗がん薬シアノダック (2'-Cyano-2'-Deoxy Arabinofuranosyl Cytidine : CNDAC) 糖部のハイブリッド化合物である SAI-22-X の設計、合成を既に完了している。KSHV、EBV 感染がん細胞に対する増殖阻害アッセイの結果、SAI-22-X はウイルス非感染がん化 B 細胞には影響を与えず、KSHV と EBV 感染がん化 B 細胞にのみ特異的に細胞増殖抑制を示した。ヘルペスウイルス感染症に対して広く臨床で用いられているガンシクロビル、アシクロビルの KSHV や EBV 感染がん化 B 細胞に対する IC₅₀ (50%生存率を示す薬物濃度) は 100 μM 以上であったが、SAI-22-X の IC₅₀ は約 0.1 μM であり、非常に強いウイルス感染特異的な細胞毒性を有している。

これらハイブリッド化合物のウイルス感染細胞特異的な細胞毒性発現の機構を解析した結果、開発した薬物依存的に感染細胞がアポトーシスを引き起こしていることが明らかとなった。すなわち、SAI-22-X の培地への添加により、KSHV 感染 B リンフォーマ細胞 (BC2, BC3) は p53 蛋白質量の増加と、カスパーゼ 3・7 の活性化、スパーゼ 3/7 の基質である PARP の分解亢進が検出された。さらに、フローサイトメトリーによる FACS 解析の結果でも薬物処理により有意にアポトーシス細胞が有意に増加した。なお、非感染 B リンフォーマ細胞ではこれらの現象は全く観察されなかった。この理由として、感染細胞特異的に SAI-22-X の DNA 鎖切断反応により、DNA 合成が阻害された結果、p53 依存的なアポトーシスが引き起こされたと考えられる。

次に、開発したハイブリッド化合物の感染細胞特異的な殺細胞の作用機序の解析のため、また、これらハイブリッド化合物の非感染通常細胞等での毒性の解析のため、KSHV と EBV、HCMV がコードするヌクレオシドリン酸化酵素 (チミジンリン酸化酵素) やリン酸基転移酵素を恒常的に発現する安定発現 HeLa 細胞株を確立した。このリン酸化酵素安定発現 HeLa 細胞と親株 HeLa 細胞に対する候補薬物の増殖抑制活性を比較することで、非感染細胞に対する細胞毒性の解析と、標的酵素 (ウイルス由来のヌクレオシドリン酸化酵素) によるモノリン酸化効率の解析を試みたが、現時点ではウイルスチミジンリン酸化酵素が薬物の特異性の決定を示唆する有意な結果は得られていない。現在、用いる細胞株や、コントロールとして用いた親株について、さらなる検討を行なっている。

一方、SAI-22-X に関する特許出願のため、各種塩基やアルキル基を導入した SAI-22-X 誘導体 (薬理活性を有する糖部はそのまま残し、ウイルス酵素により認識されるプリン塩基部を変化させる) の開発も現在進行中であり、合成完了後にはその薬理活性の解析も行う予定である。

(2) siRNA

我々は、KSHV が発現する LANA が β-カテニンの異常

な蓄積を誘導し、感染細胞をがん化に導くことを既に明らかにしてきた。ウイルス蛋白 LANA は宿主細胞内でウイルス DNA の保持と複製を行なう重要なウイルス蛋白質である。そこで、我々は LANA の機能阻害をカボジ肉腫治療薬開発のためのシーズと考え、干渉性 RNA を用いた LANA の恒常的ノックダウンを検討した。LANA 遺伝子の 5' 側 18 塩基を標的とした、anti-LANA-A、または、LANA 遺伝子の 3' 側 18 塩基を標的とした anti-LANA-B を薬剤耐性遺伝子マーカーを含む発現プラスミドに組み込み siRNA 発現プラスミドを構築し、両者 siRNA が効果的に LANA 蛋白質の発現を阻害することを確認した。また、開発した siRNA を用いて、LANA による β -カテニンの蓄積阻害についても解析したところ、siRNA は LANA の発現を抑制するだけでなく、 β -カテニンの蓄積も効率的に抑制した。次に、恒常的 siRNA 発現細胞をスクリーニング、クローン化して、その感染がん細胞の増殖活性を測定した。その結果、siRNA 発現細胞は非発現株に比べ細胞増殖能を低下させた。これらの結果は、siRNA により KSHV 感染がん化細胞が LANA を喪失した結果、細胞内 β -カテニン量の低下と Wnt シグナル抑制に起因すると考えられる。しかし、siRNA による LANA のノックダウンが、ウイルス DNA の不安定化を促進するの否か解析を行なったが有意な結果は得られなかった。現在、新しい標的配列等の検討を行っている。

本研究については特許出願の関係上、薬物の構造式や構造を予測できる名前の使用や、siRNA の標的配列等のデータの記載を控えて頂きました。

② ヘルペスウイルス感染を網羅的に解析できる診断システムの構築

(1) マルチプレックス PCR 法を用いた KSHV、EBV、HCMV 感染の疫学調査

我々は、KSHV、EBV、HCMV 感染を同時に解析できるマルチプレックス PCR 法と DNA アレイ法を確立している。マルチプレックス PCR 法は安価で多検体の解析に優れているのが特徴であり、検出感度は一サンプル当たり KSHV が 1 コピー、EBV・CMV が 10 コピーのウイルス DNA を必要とする。一方、DNA アレイ法は検出感度において優れ

ているがコストはマルチプレックス PCR の 10 倍高い。DNA アレイ法の検出感度は一サンプル当たり、EBV が 100 コピーのウイルス DNA を必要とし、感度が低いが、KSHV と CMV に関しては 1 コピーまで検出可能であった。

次に、検出感度は劣るがコスト的に安価なマルチプレックス PCR を用いて、多検体のヒト末梢血 DNA サンプル中のウイルス感染の疫学的調査を行なった。953 検体以上の健康人末梢血 DNA サンプル中に含まれるウイルス DNA の有無を解析した。その結果、KSHV 遺伝子は 2 個 (0.2%) の検体で検出され、HCMV は 27 (2.8%)、EBV は 377 (39.5%) この検体で検出された。さらに、興味深いことに、KSHV 陽性の検体は全て HCMV、EBV も陽性であった。

(2) リアルタイム PCR 法を用いた KSHV、EBV、HCMV ウイルスの定量システムの開発

我々は今回確立したマルチプレックス PCR 法に関する技術と情報を転用して、リアルタイム PCR を用いたウイルス量測定システムの開発を行なった。プライマーの設計や反応条件の設定等は終了している。しかし、検体の調製技術に克服すべき課題が残っており、現在も改良を進行中である。特に、薬物のスクリーニング系への応用を目指しているため、培地中に含まれる死細胞由来のウイルス DNA の混入が、正確なウイルス量の測定を阻害することが克服すべき最大の問題点となっている。抗ウイルス膜蛋白抗体を 96 穴プレートに吸着させ、培地中の生ウイルスのみを調製する方法等を検討しているが、多検体サンプルにも対応出来るように、可能な限り簡便・単純なサンプル調整法の開発を試みている。

本定量システムを用いることにより、血球や培地等の検体から正確なウイルス DNA のコピー数が算出できる。本システムとマルチプレックス PCR 法と組み合わせることにより、ウイルス感染の有無 (定性的結果) と、正確なウイルス量 (定量的結果) の情報が得られることになる。また、本定量システムが完成すれば「① 新規抗ウイルス薬の開発」の研究課題遂行のために、本定量システムを転用 (フィードバック) する。

③ KSHV 潜伏感染機構の解明

(1) 新規 LANA 相互作用タンパク質の探索

LANA は、その一次構造上の特徴から、N 末端側領域、中央部の酸性アミノ酸リピート領域、C 末端側領域の 3 つに区分される。これらのうちでも C 末端側領域は、KSHV エピゾームとの結合や GSK3 の核内拘束による β -catenin 依存性転写活性化の亢進のほか、癌抑制遺伝子産物である p53 や pRb をはじめとする様々な細胞性タンパク質との結合により、細胞内シグナル伝達の脱制御にかかわることが報告され、LANA の機能発現において特に重要な役割を担うことが明らかとなってきた。そこで、LANA の C 末端側領域に焦点を当て解析を行うこととした。

LANA の C 末端を GST 融合タンパク質として大腸菌で発現させ、これを B 細胞由来細胞株 DG75 の細胞抽出液と混合して複合体を形成させることで GST-pulldown assay を行った。ここで得られた複合体を SDS-PAGE で分離した後バンドを切り出し、トリプシンによるゲル内消化、さらに MALDI-TOF/MS 解析を行うことで LANA の C 末端と特異的に相互作用する細胞性タンパク質として HAUSP、PARP、Ku80、Ku70 を同定した。さらに LANA を培養細胞に一過性に発現させることにより、これらの分子と LANA が実際に細胞内で相互作用していることを明らかにした。

(2) 新規 LANA 結合タンパク質の機能およびカポジ肉腫を含む発がんへの関与

(a) HAUSP

脱ユビキチン化酵素 HAUSP は、Herpes simplex virus type 1 の溶解感染を促進するウイルス性タンパク質 ICPO と相互作用する細胞性核タンパク質として同定されたものであり、ICPO の脱ユビキチン化および安定化を促進するとされている。癌抑制遺伝子産物である p53 は細胞周期の停止やアポトーシスを促進することで細胞の癌化を抑制するが、近年 HAUSP がこの p53 の脱ユビキチン化を行い p53 の安定化および転写活性化を促進することが報告された。さらに p53 および p53 と同様に細胞増殖を抑制する pRB の両者のユビキチン化酵素である MDM2 もまた HAUSP によって脱ユビキチン化され安定化することが報告されている。驚くべき事に、ウイルス非感染細胞と比較して KSHV 感染 PEL 細胞において、MDM2

が有意に安定化されていることを我々は明らかにした。

一方、LANA はその C 末端部分を介して p53 と結合することで p53 の転写活性化能を抑制することが以前に報告されている。この転写活性化能の抑制は p53 分解促進による量的変化によるものではなく質的变化によるものだと考えられているが、分子機構に関しては未解明な部分が多い。pRB もまた LANA と直接結合することでその増殖抑制能が抑制されることが報告されている。LANA の C 末端部分が、p53 および Mdm2 の脱ユビキチン化酵素である HAUSP と結合することは、以前に報告されたものとは別の機構で p53 および pRB の脱制御を行う可能性を示唆する。

KSHV と同じ gamma-herpesvirus に分類される Epstein-Barr virus (EBV) のもつ核タンパク質 EBNA1 は KSHV 由来核タンパク質 LANA と一次構造上の相同性は認められないにもかかわらず、ウイルスゲノムエピゾームの複製・保持、また宿主細胞の形質転換に重要な働きを持つなど機能的な相同性を示すことが知られている。興味深いことに、今回 LANA と相互作用する分子として同定した HAUSP は EBNA1 とも相互作用することが報告されている。このことは LANA および EBNA1 がもつ共通の機能がこれらの分子との相互作用に起因する可能性を強く示唆するものである。

(b) PARP/Ku80/Ku70

Ku80 および Ku70 はヘテロダイマーを形成し DNA と結合することで NHEJ (nonhomologous end joining) recombination、V(D)J recombination、テロメアの保護・維持に重要な働きをすることが知られている。また DNA 非依存的な機能として、Ku70 はアポトーシス促進分子である Bax と結合することで Bax のミトコンドリア移行を阻害し、その結果アポトーシスを抑制することが報告されている。さらに、PARP、Ku80、Ku70、PCNA は DNA 上で複合体を形成し存在することが明らかにされている。

DNA に intercalate することによりタンパク質-DNA 結合を阻害する EtBr 存在下で GST-pulldown assay を行ったところ、PARP、Ku80、Ku70 はともに DNA を介して間接的に LANA と相互作用していることが明らかになっ

た。したがって LANA はテロメアの保護・維持などの DNA 依存的な Ku 複合体の機能を脱制御している可能性が考えられる。

今後、引き続き未同定の相互作用タンパク質を明らかにすると共に、KSHV が潜伏感染した PEL(primary effusion lymphoma)細胞株を用いて LANA とこれらのタンパク質の相互作用を免疫沈降実験で確認する。また、今回同定した分子による KSHV エピゾームの複製・保持さらに PP2A の活性化に対する影響および p53、MDM2 のユビキチン化制御における影響を一過性発現系および PEL 細胞を用いて検討する。

本研究成果報告書には特許出願・学術論文未発表の関係上、遺伝子の正確な名前の使用を控えさせて頂きました。

(倫理面への配慮)

本研究は「組換え DNA 実験を含む研究計画」、「病原性微生物等を取り扱う研究計画」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する研究計画」に該当する。文部科学省・厚生労働省・経済産業省と北海道大学の倫理委員会の定めた省令と規程(組換え DNA 実験安全管理規程、病原性微生物等安全管理規程、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する規程)に基づき、適正で安全な実施の下で本研究は実施された。また、疫学調査で扱ったヒトゲノムサンプルは、個人情報等が完全に暗号化されインフォームドコンセントの得られたサンプルのみ研究に用いた。

C. 考察

ウイルス感染細胞特異的に細胞毒性を発揮する規抗ハイブリッド化合物を開発した。次に解明すべき点は開発した化合物の作用機序とウイルス感染細胞への特異性の理由である。すなわち、本化合物のウイルス感染細胞への特異性がウイルス由来のウイルスチミジンキナーゼによるモノリン酸化反応の効率の良さに依存するものなのか否かを解析する必要がある。作成したウイルスリン酸化酵素安定発現 HeLa 細胞と親株 HeLa 細胞に

対する候補薬物の増殖抑制活性を比較することで、標的酵素(ウイルス由来のヌクレオシドリン酸化酵素)によるモノリン酸化効率の解析が可能となる。ここで得られたデータは次の抗ウイルス薬設計、すなわち、SAI-22-X 誘導体デザインのための有用な情報として活用する。

KSHV、EBV、HCMV の網羅的感染診断法について、我々は既に DNA アレイ法とマルチプレックス PCR 法の 2 種類の診断法を確立している。この二つの解析法には、検出感度に優れているがコスト面での負担が大きい DNA アレイ法、反対に検出感度に劣るが安価なマルチプレックス PCR 法というように、それぞれ特徴があり、その特徴を生かして用いられることが望ましい。一方、リアルタイム PCR を用いたウイルス量測定システムは解決すべき課題が多く残されている。しかし、本定量システムを用いることにより、検体中の正確なウイルス DNA のコピー数(ウイルス量)が算出できる。本システムと DNA アレイ法やマルチプレックス PCR 法と組み合わせることにより、ウイルス感染の有無(定性的結果)と正確なウイルス量(定量的結果)の情報が得られることになる。

MALDI-TOF/MS を利用したペプチド MS フィンガープリント解析を行うことで LANA と特異的に相互作用する細胞性タンパク質として HAUSP、PARP、Ku80、Ku70 を同定した。これらの LANA 相互作用タンパク質に対する LANA の分子作用機序の解析、および新規 LANA 結合タンパク質の探索を継続することにより、薬物設計だけでなく、既存医薬品あるいはこれを seeds とする創薬が可能となると考えられる。さらに、LANA を治療ターゲット分子に据えることは、潜伏感染 KSHV 治療のみならず、高度な悪性がんである発症後のカポジ肉腫治療に広い選択肢を与えると考えられる。

D. 結論

1. アシクロビルのプリン塩基誘導体とシアノダック(糖部)のハイブリッド化合物 SAI-22-X が KSHV、EBV 感染がん細胞特異的に細胞増殖活性を抑制することを明らかにした。アシクロビルやガンシクロビルの KSHV や EBV 感染がん化 B 細胞に対する IC50 は 100 μ M 以上で

あったが、SAI-22-XのIC50は約0.1 μ Mであり、非常に強いウイルス感染特異的な細胞毒性を有している。また、これらの薬物はウイルス感染細胞特異的にp53の増加とカスパーゼ活性化によるアポトーシスを引き起こすことを明らかにした。

2. KSHV, EBV, CMVについて感染の有無を同時に診断できるマルチプレックスPCR法を用いて953検体のヒト・末梢血DNAについて疫学的調査を実施した。

3. MALDI-TOF/MSを用いた、ペプチドMSフィンガープリント法により細胞性のLANA結合タンパク質としてHAUSP, PARP, Ku80, Ku70を同定した。

E. 研究発表

論文発表

(1) Fujimuro M., Inoue H, Teishikata Y. and Yokosawa H. Apoptotic Effect of Ganciclovir on Primary Effusion Lymphoma Cells Infected with Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. accepted

(2) Muromoto R., Okabe K., Fujimuro M., Sugiyama K., Yokosawa H., Seya T. and Matsuda T. Physical and functional interactions between STAT3 and Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus encoded LANA. *FEBS Lett.* 580, 93-98 (2006).

(3) Fujimuro M. & Yokosawa H. Production of antipolyubiquitin monoclonal antibodies and their use for characterization and isolation of polyubiquitinated proteins. *Methods in Enzymol.* 399, 75-86 (2005)

(4) Fujimuro M., Nakaso K., Nakashima K., Sadanari H., Inoue H., Teishikata Y., S. Diane Hayward, Yokosawa H. Multiplex PCR-based DNA array for simultaneous detection of three human herpesviruses, EVB, CMV and KSHV. *Exp. Mol. Pathol.* 80, 124-131 (2006)

(5) Fujimuro M., Nishiya T, Nomura Y, Yokosawa H. Involvement of Polyubiquitin Chains via Specific Chain Linkages in Stress Response in Mammalian Cells. *Biol. Pharm. Bull.* 28, 2315-2318 (2005)

(6) Fujimuro M, Liu J, Zhu J, Yokosawa H, Hayward SD. Regulation of the Interaction between Glycogen Synthase Kinase 3 and the Kaposi's Sarcoma - Associated Herpesvirus Latency-Associated Nuclear Antigen. *J Virology* 79, 10429-10441 (2005)

(7) Bae BI, Xu H, Igarashi S, Fujimuro M, Agrawal N, Taya Y, Hayward SD, Moran TH, Montell C, Ross CA, Snyder SH, Sawa A. p53 Mediates Cellular Dysfunction and Behavioral Abnormalities in Huntington's Disease. *Neuron* 47, 29-41 (2005)

(8) Hara MR, Agrawal N., Kim SF, Cascio MB, Fujimuro M, Takahashi M, Cheah JH, Tankou SK, Hester LD, Ferris CD, Hayward SD, Snyder SH, Sawa A. S-Nitrosylated Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Initiates Apoptotic Cell Death By Nuclear Translocation Following Siah1 Binding. *Nature Cell Biol.* 7, 665-674 (2005)

(9) Tsukamoto S., Hirota H., Imachi M., Fujimuro M., Onuki H., Ohta T. & Yokosawa H. Himeic acid A: a new ubiquitin-activating enzyme inhibitor isolated from a marine-derived fungus, *Aspergillus* sp. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15, 191-194 (2005)

その他 (総説・図書等)

藤室雅弘. KSHV と細胞内シグナル伝達. ヘルペスウイルス学 日本臨床 64, 558-563 (2006)

学会発表

1. 藤室雅弘 「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス核抗原(LANA)によるリン酸化シグナル制御と発がん機構」第2回EBウイルス研究会シンポジウム 大阪(2005年7月8日)

2. 藤室雅弘、中村哲也、S. Diane Hayward、横沢英良 「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス核抗原(LANA)によるWntシグナル制御」第42回日本生化学会北海道支部例会 札幌(2005年7月22日)

3. Naoya Sawamura, Masahiro Fujimuro, Takako

Sawamura-Yamamoto, Tsonwin Hai and Akira Sawa
「Functional analyses of nuclear DISC1」 SFN (Society for Neuroscience) 35th Annual Meeting Washington Convention Center in Washington, DC, (November 12-16, 2005)

4. Masahiro Fujimuro, Hideyoshi Yokosawa and S. Diane Hayward. 「Regulation of the interaction between GSK-3 and the KSHV LANA protein」 8th International Workshop on Kaposi's Sarcoma Associated Herpesvirus (KSHV) and Related Agents. Wildbad Kreuth in Germany Aug 21 - 25, 2005

5. Masahiro Fujimuro. 「Functional interaction between GSK-3 and the KSHV LANA protein」 12th international conference on immunobiology and prophylaxis of human herpesvirus infections シンポジウム Osaka 2005年8月

6. 藤室雅弘 横沢英良「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス核抗原(LANA)による発がん機構」 第64回日本癌学会 シンポジウム「ウイルスと発がん」札幌 2005年9月

7. 藤室雅弘、横沢英良「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス LANA の翻訳後修飾と機能変化」第53回日本ウイルス学会一般口演 横浜(2005年11月)

8. 中村哲也、藤室雅弘、横沢英良「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス核抗原(LANA)の核内における機能解析」第53回日本ウイルス学会一般口演 横浜(2005年11月)

9. 藤室雅弘、横沢英良「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスによる宿主シグナル伝達の破綻」第28回日本分子生物学会 神戸(2005年12月)

10. 井上尚謙、藤室雅弘、横沢英良「ストレス応答に関わるポリユビキチン鎖は特異的な Lys 残基により形成さ

れる」第28回日本分子生物学会ポスター発表 神戸(2005年12月)

11. 松本健一、我孫子俊、藤室雅弘、横沢英良、有賀寛芳「CUE ドメインをもつ新規タンパク質 CUEDC2 の同定及び機能解析」第28回日本分子生物学会ポスター発表 神戸(2005年12月)

12. 藤室雅弘、中村哲也、山賀文子、手石方康宏、横沢英良 「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス核抗原 LANA による宿主 GSK-3 β の制御」転写研究会冬のワークショップ 新潟(2006年1月)

13. 手石方康宏、中村哲也、横沢英良、藤室雅弘「ヘルペスウイルス感染による宿主 DECODE 回路の制御」転写研究会冬のワークショップ 新潟(2006年1月)

14. 藤室 雅弘, 中村 哲也, 横沢 英良 「カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス核抗原による宿主シグナル伝達の制御」日本薬学会ポスター発表 仙台(2006年3月)

F. 知的財産権の出願・登録情報

開発した化合物の特許出願中(大学知的財産部を介して弁理士に依頼中)

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業
若手研究者奨励研究報告書

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