

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mukai E., Fujimoto S., Sakurai F., Kawabata K., Yamashita M., Inagaki N., Mizuguchi H. Efficient gene transfer into murine pancreatic islets using adenovirus vectors. *J. Control. Release.*, in press.
- 2) Sakurai F., Akitomo K., Kawabata K., Hayakawa T., Mizuguchi H. Downregulation of human CD46 by adenovirus serotype 35 vectors. *Gene Ther.*, in press.
- 3) Gao J-Q., Kanagawa N., Motomura Y., Yanagawa T., Sugita T., Hatanaka Y., Tani Y., Mizuguchi H., Tsutsumi Y., Mayumi T., Okada N., Nakagawa S. Cotransduction of CCL27 gene can improve the efficacy and safety of IL-12 gene therapy for cancer. *Gene Ther.*, in press.
- 4) Hama S., Akita H., Iida S., Mizuguchi H., Harashima H. Quantitative and mechanism-based investigation of differences in post nuclear delivery events between viral and non-viral vectors. *Nuc. Acid Res.*, in press.
- 5) Sakurai H., Kawabata K., Sakurai F., Nakagawa S., Mizuguchi H. Innate immune response induced by gene delivery vectors. *Int. J. Pharmaceutics.* in press.
- 6) Yusuke Eto, Yasuo Yoshioka, Yohei Mukai, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa. Development of PEGylated adenovirus vector with targeting ligand. *Int. J. Pharm.*, in press.
- 7) Koizumi N., Yamaguchi T., Kawabata K., Sakurai F., Sasaki T., Watanabe Y., Hayakawa T., Mizuguchi H. Fiber-modified adenovirus vectors decrease liver toxicity through reduced interleukin 6 production. *J. Immunol.*, 178, 1767-1773 (2007)
- 8) Sakurai H., Sakurai F., Kawabata K., Sasaki T., Koizumi N., Huang H., Tashiro K., Kurachi S., Nakagawa S., Mizuguchi H. Comparison of gene expression efficiency and innate immune response induced by Ad vector and lipoplex. *J. Control. Release.*, 117, 430-437 (2007)
- 9) Ebihara C., Kondoh M., Harada M., Fujii M., Mizuguchi H., Tsunoda S-I., Horiguchi Y., Yagi K., Watanabe Y. Role of Tyr306 in the C-terminal fragment of *Clostridium perfringens* enterotoxin for modulation of tight junction. *Biochem Pharmacol.*, 73, 824-830(2007)
- 10) Mizuguchi H., Funakoshi N., Hosono T., Sakurai F., Kawabata K., Yamaguchi T., Hayakawa T. Rapid construction of small interfering RNA-expressing adenovirus vectors on the basis of direct cloning of short hairpin RNA-coding DNAs. *Hum. Gene Ther.*, 18, 74-80 (2007)
- 11) Kurachi S., Koizumi N., Sakurai F., Kawabata K., Sakurai H., Nakagawa S., Hayakawa T., Mizuguchi H. Characterization of capsid-modified adenovirus vectors containing heterologous peptides in the fiber knob, protein IX, or hexon. *Gene Ther.*, 14,

- 266-274 (2007)
- 12) Harada M., Kondoh M., Ebihara C., Takahashi A., Komiya E., Fujii M., Mizuguchi H., Tsunoda S-I., Horiguchi Y., Yagi K., Watanabe Y. Role of tyrosine residues in modulation of claudin-4 by the C-terminal fragment of *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Biochem. Pharmacol.*, 73, 206-214 (2007)
 - 13) Sakurai F., Murakami S., Kawabata K., Okada N., Yamamoto A., Seya T., Hayakawa T., Mizuguchi H. Crucial role of the short consensus repeats 1 and 2 of human CD46 on infection of subgroup B adenovirus serotype 35. *J. Control. Release.*, 113, 271-278 (2006)
 - 14) Kamakura M., Morisawa K., Komi H., Tomatani A., Saito F., Konishi Y., Jin Y., Manabe T., Kuroda M., Imai S., Mizuguchi H., Taniguchi T. Regulation of IL-27p28 gene by lipopolysaccharide in dendritic DC2.4 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 349, 1372-1377 (2006)
 - 15) Uno K., Katagiri H., Yamada T., Ishigaki Y., Ogihara T., Imai J., Hasegawa Y., Gao J., Kaneko K., Iwasaki H., Ishihara H., Sasano H., Inukai K., Mizuguchi H., Asano T., Shiota M., Nakazato M., Oka Y. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. *Science*, 312, 1656-1659 (2006)
 - 16) Kishimoto H., Kojima T., Watanabe Y., Kagawa S., Fujiwara T., Uno F., Teraishi F., Kyo S., Mizuguchi H., Hashimoto Y., Urata Y., Tanaka N., Fujiwara T. A novel in vivo imaging of lymph node metastasis with telomerase-specific replication-competent adenovirus containing green fluorescent protein gene. *Nature Med.*, 12, 1213-1219 (2006)
 - 17) Fujiwara T., Akita H., Furukawa K., Ushida T., Mizuguchi H., Harashima H. Impact of convective flow on the cellular uptake and transfection activity of lipoplex and adenovirus. *Bio. Pharm. Bull.*, 29, 1511-1515 (2006)
 - 18) Koizumi N., Mizuguchi H., Kondoh M., Fujii M., Nakanishi T., Utoguchi N., Watanabe Y. Efficient gene transfer into differentiated human trophoblast cells with adenovirus vector containing RGD motif in the fiber protein. *Bio. Pharm. Bull.*, 29, 1297-1299 (2006)
 - 19) Nukiwa M., Andarini S., Zaini J., Xin H., Kanehira M., Suzuki T., Fukuhara T., Mizuguchi H., Hayakawa T., Saijo Y., Nukiwa T., Kikuchi T. Dendritic cells modified to express fractalkine/CX3CL1 in the treatment of preexisting tumors. *Eur. J. Immunol.*, 109, 1019-1027 (2006)
 - 20) 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.*, 27, 934-938 (2006)

- 21) Harui A., Roth M. D., Sanghvi M., Vira D., Mizuguchi H., Basak S. Centrifugation enhances integrin-mediated transduction of dendritic cells by conventional and RGD-modified adenoviral vectors. *J. Immunol. Methods*, 312, 94-104 (2006)
- 22) Harui A., Roth M. D., Vira D., Sanghvi M., Mizuguchi H., Basak S. Adenoviral-encoded antigens are presented by a subset of dendritic cells expressing alpha-v/beta-3 integrins. *J. Leukocyte Biol.*, 79, 1271-1278 (2006)
- 23) 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.*, 13, 1118-1126 (2006)
- 24) 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.*, 13, 786-794 (2006)
- 25) 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.*, 13, 393-405 (2006)
- 26) Koizumi N., Kawabata K., Sakurai F., Watanebe Y., Hayakawa T., Mizuguchi H. Modified adenoviral vectors ablated for coxsackievirus-adenovirus receptor, αv integrin, and heparan sulfate binding reduce in vivo tissue transduction and toxicity. *Hum. Gene Ther.*, 17, 264-279 (2006)
- 27) 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)
- 28) 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)
- 29) Gao J-Q., Chen H-L., Nakagawa S., Mizuguchi H., Liang W-Q. Gene expression of tumor cells both in vitro and in vivo enhanced by integrin-targeting adenovirus. *Acta Pharmaceutica Sinica* 41, 1116-1120 (2006)
- 30) Kawabata K., Sakurai F., Koizumi N., Hayakawa T., Mizuguchi H. Adenovirus vector-mediated gene transfer into stem cells. *Mol. Pharm.*, 3, 95-103 (2006)
- 31) Tomoaki Yoshikawa, Susumu Imazu, Jian-Qing Gao, Kazuyuki Hayashi, Yasuhiro Tsuda, Naoki Okada, Yasuo Tsutsumi, Mitsuru Akashi, Tadanori Mayumi, Shinsaku

- Nakagawa, Non-methylated CpG motifs packaged into fusogenic liposomes enhance antigen-specific immunity in mice. *Biol. Pharm. Bull.*, 29, 105-109 (2006)
- 32) Tomoaki Yoshikawa, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa, Fusogenic liposomes and their suitability for gene delivery. *Future Lipidology*, 1, 735-742 (2006)
- 33) Yusuke Eto, Yasuo Yoshioka, Yohei Mukai, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa, Improvement of adenovirus vectors for cancer gene therapy. "Recent Developments in Gene Therapy" published by Research Sigupost in India, in press.
- 34) 水口裕之；アデノウイルスベクター開発の最前線、バイオテクノロジージャーナル、7(2)、168-173 (2007)
- 35) 川端健二、櫻井文教、水口裕之；改良型アデノウイルスベクターを用いた遺伝子デリバリー、*Drug Delivery System*、印刷中
- 36) 水口裕之、早川堯夫；アデノウイルスベクター；*バイオ医薬品の品質・安全性評価 (改訂版)*、早川堯夫・山崎修道・延原正弘編、エル・アイ・シー、印刷中
- 37) 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、*薬学雑誌*、127(2)、327-339 (2007)
- 38) Mizuguchi H. Recent Advance of Development of Viral and Non-viral Vectors for Gene Therapy. *Yakugaku Zasshi*. 126. 1011 (2006)
- 39) Sakurai F., Kawabata K., Mizuguchi H. Characterization of adenovirus serotype 35 vectors using genetically modified animals and nonhuman primates. *Yakugaku Zasshi*. 126. 1013-1019 (2006)
- 40) Akita H., Hama S., Mizuguchi H. Harashima H. Development of non-viral vector based on the quantitative comparison of intracellular trafficking with viral vector. *Yakugaku Zasshi*. 126. 1047-1057 (2006)
- 41) 櫻井文教、水口裕之；新しいアデノウイルスベクターの開発、*バイオサイエンスとインダストリー*、64(5)、11-16 (2006)
- 42) 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MOOK*、5、95-101 (2006)
- 43) 杉田敏樹、岡田直貴、中川晋作；ケモカイン・ケモカインレセプター連関を利用した抗腫瘍免疫の増強、*臨床免疫*、45(5)、525-532 (2006)
- 44) 吉川友章、岡田直貴、中川晋作；ウイルス機能を基盤とする DDS キャリアーの開発と応用、*バイオテクノロジージャーナル*、6(5)、557-562 (2006)
- 45) 金川尚子、岡田直貴、中川晋作；次世代癌遺伝子治療戦略に適う改良型アデノウイルスベクター、*生産と技術*、58(4)、58-60 (2006)

2. 学会発表

- 1) 水口裕之、船越直子、細野哲二、櫻井文教、川端健二、山口照英、早川堯夫；簡便な siRNA 発現アデノウイルスベクター作製法の開発；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 2) 川端健二、田代克久、櫻井文教、早川堯夫、水口裕之；アデノウイルス感染制御に関与する CAR-like soluble protein (CLSP) の局在解明 一；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 3) 櫻井文教、種友絹美代、川端健二、中村紳一郎、柴田宏昭、寺尾恵治、早川堯夫、水口裕之；カニクイザルにおける 35 型アデノウイルスベクターの遺伝子導入特性；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 4) 倉知慎之輔、桜井晴奈、田代克久、櫻井文教、川端健二、屋山勝俊、岡本博、中川晋作、水口裕之；TAT peptide を付与したファイバースキュータント Ad ベクターの開発と遺伝子発現評価 Generation of fiber-mutant Ad vector containing TAT peptide；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 5) 桜井晴奈、五十嵐勝秀、田代克久、川端健二、櫻井文教、倉知慎之輔、中川晋作、菅野 純、水口裕之；アデノウイルスベクター誘発自然免疫応答に関与する因子の DNA microarray を用いた探索 Search for factors involved in the innate immune response induced by adenovirus vectors；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 6) 田代克久、川端健二、桜井晴奈、倉知慎之輔、櫻井文教、中川晋作、早川堯夫、山西弘一、水口裕之；アデノウイルスベクターを用いたマウス胚様体への遺伝子導入法の確立 Efficient gene transduction into mouse embryoid bodies with adenovirus vectors；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 7) 衛藤佑介、吉岡靖雄、姚 醒蕾、吉川友章、向 洋平、鈴木 亮、宇都口直樹、丸山一雄、岡田直貴、中川晋作；アデノウイルスベクター内封 PEG 化リポソームの創製および精製法の確立；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 8) 姚 醒蕾、吉岡靖雄、衛藤佑介、水口裕之、岡田裕香、向 洋平、岡田直貴、中川晋作；腫瘍特異的プロモーター搭載アデノウイルスベクターを用いた自殺遺伝子治療；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 9) Ratima Asavatanabodee、吉岡靖雄、衛藤佑介、喜田進也、前田光子、川崎紘一、水口裕之、向 洋平、岡田直貴、中川晋作；広範な感染域を有する Tat ペプチド修飾アデノウイルスベクターの構築と遺伝子導入特性評価；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 10) 柳川達也、金川尚子、本村吉章、向 洋平、吉岡靖雄、岡田直貴、中川晋作；ケモカイン-ケモカインレセプター連関を利用した癌養子免疫療法の有効性改善；日本薬学会第 127 年会（富山）；2007 年 3 月 28～30 日
- 11) 後藤美千代、金川尚子、岡田裕香、向 洋平、吉岡靖雄、岡田直貴、中川晋作；TNF 関連分子発現樹状細胞を用いた定着腫瘍に対する新規免疫療法の開発；日本薬学会第 127 年会

(富山) ; 2007年3月28~30日

義 ; 2006年11月7日

- 12) 大西康司、金川尚子、金本雄次、藤田卓也、山本 昌、中川晋作、岡田直貴 ; TERT 遺伝子導入樹状細胞の腫瘍免疫誘導機序および安全性に関する検討 ; 日本薬学会第127年会(富山) ; 2007年3月28~30日
- 13) 喜田進也、前田光子、北條恵子、衛藤佑介、森重智弘、渡辺 光、Ratima Asavatanabodee、吉岡靖雄、水口裕之、眞弓忠範、中川晋作、川 紘一 ; Adenovirus Vector Carrier としての細胞膜透過性ペプチド ; 日本薬学会第127年会(富山) ; 2007年3月28~30日
- 14) 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 ; 平成 18 年度厚生労働省科学研究費補助金ヒトゲノム・再生医療等研究事業研究成果発表会 ; 2007年2月21日
- 15) 水口裕之 ; ウイルスの先端医療への応用 ; 高知大学医学部講義 ; 2007年1月16日
- 16) 水口裕之 ; 次世代アデノウイルスベクターの開発と生命科学への応用 ; 高知大学大学院公開セミナー ; 2007年1月15日
- 17) 大西康司、岡田直貴、中川晋作、藤田卓也、山本 昌 ; 種々のマウス腫瘍モデルを用いた TERT 遺伝子導入樹状細胞ワクチンの有効性と汎用性の評価 ; 第 36 回日本免疫学会総会(大阪) ; 2006年12月11~13日
- 18) 水口裕之 ; 遺伝子導入技術開発とその応用 ; 医薬基盤研究所連携フォーラム ; 2006年12月5日
- 19) 水口裕之 ; 次世代アデノウイルスベクターの開発と先端科学への応用 ; 塩野義製薬特別講義 ; 2006年11月7日
- 20) 水口裕之 ; ウイルス改変に基づいた遺伝子導入技術の開発と先端科学への応用 ; 京都大学大学院薬学研究科大学院講義 ; 2006年10月31日
- 21) 川端健二、田代克久、櫻井文教、長田直樹、楠田 潤、早川堯夫、山西弘一、水口裕之 ; アデノウイルス受容体 CAR と相同性を有する新規可溶性タンパク質 CLSP (CAR-like soluble protein) によるアデノウイルスベクターの感染制御 ; 第 56 回日本薬学会近畿支部総会(京都) ; 2006年10月28日
- 22) 村上さや香、櫻井文教、川端健二、岡田直貴、藤田卓也、山本昌、水口裕之 ; 35 型アデノウイルスベクター遺伝子導入機構の解明 - インテグリンの関与に関する検討 - ; 第 2 回創剤フォーラム若手発表討論会(京都) ; 2006年10月13~14日
- 23) 大西康司、岡田直貴、金本雄次、森川愉加里、中川晋作、藤田卓也、山本 昌 ; TERT 遺伝子導入樹状細胞ワクチンを用いた汎用性に優れた癌免疫療法の開発 ; 第 2 回創剤フォーラム若手発表討論会(京都) ; 2006年10月13~14日
- 24) 前田葉子、岡田直貴、上羽美貴、松永知子、藤井 愛、中川晋作、藤田卓、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癌免疫療法への応用 ; 第 2 回創剤フォーラム若手発表討論会(京都) ; 2006年10月13~14日
- 25) 姚 醒蕾、吉岡靖雄、衛藤佑介、森重智弘、岡田裕香、岡田直貴、中川晋作 ; 腫瘍特異的プロモーター搭載型アデノウイルスベクター

- ーを用いた癌自殺遺伝子治療の最適化；第2回創剤フォーラム若手発表討論会（京都）；2006年10月13～14日
- 26) 森重智弘、吉岡靖雄、衛藤佑介、田辺 綾、岡田裕香、岡田直貴、中川晋作：PEGylationと腫瘍特異的プロモーターの併用による腫瘍標的化アデノウイルスベクターの創製；第2回創剤フォーラム若手発表討論会（京都）；2006年10月13～14日
- 27) 本村吉章、金川尚子、柳川達也、向 洋平、吉岡靖雄、岡田直貴、中川晋作：腫瘍標的化CTLを用いた新規癌養子免疫療法の開発に向けた基礎的検討；第2回創剤フォーラム若手発表討論会（京都）；2006年10月13～14日
- 28) 黄 海瑛、櫻井文教、川端健二、小泉直也、樋口ゆり子、川上茂、橋田充、水口裕之：アデノウイルスベクター投与後初期に起こる副作用軽減—NF- κ B デコイの細胞選択的デリバリーによる試み—；第2回創剤フォーラム若手発表討論会（京都）；2006年10月13～14日
- 29) 山下 学、櫻井文教、川端 健二、早川堯夫、水口裕之：タイトジャンクション関連タンパク coxsackie and adenovirus receptor によるがん転移抑制；第65回日本癌学会総会（横浜）；2006年9月28～30日
- 30) 佐々木朋美、川端健二、櫻井文教、早川堯夫、水口裕之：受容体との結合性を欠損した各種改変型アデノウイルスベクターにおける遺伝子導入効率の検討；第65回日本癌学会総会（横浜）；2006年9月28～30日
- 31) 渡辺 光、衛藤佑介、森重智弘、喜田進也、前田光子、水口裕之、吉岡靖雄、岡田直貴、中川晋作：癌遺伝子治療の最適化を目指した Tat ペプチド修飾アデノウイルスベクターの作製と遺伝子導入特性評価；第65回日本癌学会総会（横浜）；2006年9月28～30日
- 32) 森重智弘、衛藤佑介、倉知慎之輔、渡辺 光、岡田裕香、水口裕之、吉岡靖雄、岡田直貴、中川晋作：PEGylationと腫瘍特異的プロモーターの併用による腫瘍標的化アデノウイルスベクターの最適化；第65回日本癌学会総会（横浜）；2006年9月28～30日
- 33) Shinsaku Nakagawa. Development of PEGylated adenovirus vector containing RGD peptides on the tip of PEG (招待講演). 7th Seventh France-Japan DDS Symposium. Shiga, Japan, September 24-27, 2006.
- 34) Naoko Kanagawa, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa. Intratumoral cotransduction of IL-12 and CCL27 genes can improve the efficacy and safety of cancer immunotherapy through enhanced recruitment and activation of immune cells in tumor site. ; 第7回文部科学省特定領域研究「がん」5領域 若手研究者ワークショップ；（長野）；2006年8月30日～9月2日
- 35) Yasuo Yoshioka, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa. PEGylation induces accumulation and enhanced gene expression of adenovirus vector in tumor via systemic administration. ; 第7回文部科学省特定領域研究「がん」5領域 若手研究者ワークショップ；（長野）；2006年8月30日～9月2日

- 36) 水口裕之; アデノウイルスベクター作製技術—特に in vitro ライゲーション法に関して—; 第 12 回日本遺伝子治療学会 テクニカルセミナー (東京) ; 2006 年 8 月 25 日
- 37) Naoya Koizumi, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Takao Hayakawa, Yoshiteru Watanabe, Hiroyuki Mizuguchi; Elimination of innate immune responses by capsid-modification of adenovirus vectors; 第 12 回日本遺伝子治療学会 (東京) ; 2006 年 8 月 24~26 日
- 38) Fuminori Sakurai, Kimiyo Akitomo, Kenji Kawabata, Hiroyuki Mizuguchi; DOWNREGULATION OF CD46 BY ADENOVIRUS SEROTYPE 35 VECTORS; 第 12 回日本遺伝子治療学会 (東京) ; 2006 年 8 月 24~26 日
- 39) Shinsaku Nakagawa. Development of PEGylated adenovirus vector with target ligand (招待講演). ; The first FIP-APSTJ joint workshop on gene delivery (Sapporo) ; 2006 年 7 月 10~12 日
- 40) Haruna Sakurai, Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Tomomi Sasaki, Naoya Koizumi, Kaiei Kou, Shinnosuke Kurachi, Shinsaku Nakagawa, Hiroyuki Mizuguchi ; COMPARISON OF GENE EXPRESSION EFFICIENCY AND INNATE IMMUNE RESPONSE INDUCED BY ADENOVIRUS VECTOR AND LIPOPLEX; The first FIP-APSTJ joint workshop on gene delivery (Sapporo) ; 2006 年 7 月 10-12 日 Best Presentation Award
- 41) Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi; Adenovirus Serotype 35 Vector-mediated Gene Transfer into Human and Mouse Hematopoietic Progenitors; The first FIP-APSTJ joint workshop on gene delivery (Sapporo) ; 2006 年 7 月 10-12 日
- 42) 櫻井文教、穂友絹美代、川端健二、中村紳一郎、柴田宏昭、寺尾恵治、早川堯夫、水口裕之; 霊長類を用いた 35 型アデノウイルスベクターの機能評価; 第 21 回日本 DDS 学会 (東京) ; 2006 年 7 月 7~8 日
- 43) 村上さや香、櫻井文教、川端健二、岡田直貴、藤田卓也、山本昌、早川堯夫、水口裕之; 35 型アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入における・1 インテグリンの関与に関する検討; 第 21 回日本 DDS 学会 (東京) ; 2006 年 7 月 7~8 日
- 44) 黄海瑛、櫻井文教、川端健二、小泉直也、樋口ゆり子、川上茂、山下富儀、橋田充、水口裕之; NF- κ B デコイによるアデノウイルスベクター生体投与後の自然免疫誘導抑制; 第 21 回日本 DDS 学会 (東京) ; 2006 年 7 月 7~8 日
- 45) 小泉直也、川端健二、櫻井文教、佐々木朋美、西島美妙江、山口朋子、早川堯夫、渡邊善照、水口裕之; 自然免疫誘導能を減弱させ安全性に優れたアデノウイルスベクターの開発; 第 21 回日本 DDS 学会 (東京) ; 2006 年 7 月 7~8 日
- 46) 倉知慎之輔、小泉直也、桜井晴奈、佐々木朋美、櫻井文教、川端健二、中川晋作、早川堯夫、水口裕之; 非特異的遺伝子導入抑制を目指したファイバー欠損アデノウイルスベクターの開発とその特性評価; 第 21 回日本 DDS 学会 (東京) ; 2006 年 7 月 7~8 日

- 47) 井野麻美、山下学、向英里、櫻井文教、川端健二、水口裕之；マウス骨髄由来間葉系幹細胞を用いた転移癌に対する遺伝子細胞治療；第21回日本DDS学会（東京）；2006年7月7～8日 優秀ポスター賞受賞
- 48) 向英里、櫻井文教、川端健二、藤本新平、稲垣暢也、水口裕之；腭ランゲルハンス島β細胞への高効率遺伝子導入を可能とするアデノウイルスベクターの探索と遺伝子導入法の改良；第21回日本DDS学会（東京）；2006年7月7～8日 優秀ポスター賞受賞
- 49) 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；アポトーシス抵抗性を付与した樹状細胞の生体内生存期間延長と免疫誘導との関連評価；第21回日本DDS学会（東京）；2006年7月7～8日
- 50) 渡辺 光、衛藤佑介、森重智弘、姚 醒蕾、吉岡靖雄、喜田進也、前田光子、川崎紘一、水口裕之、岡田直貴、中川晋作；Tat ペプチド修飾アデノウイルスベクターの開発と遺伝子導入特性に関する検討；第21回日本DDS学会（東京）；2006年7月7～8日
- 51) 吉川友章、岡田直貴、中川晋作；遺伝子工学的手法を用いてDDS機能を付与した樹状細胞ワクチンの有用性（シンポジウム講演）；第21回日本DDS学会（東京）；2006年7月7～8日
- 52) 水口裕之；遺伝子導入技術の開発と先端科学への応用；昭和薬科大学大学院特別講義；2006年6月13日
- 53) Hiroyuki Mizuguchi, Naoya Koizumi, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Takao Hayakawa; Development of modified adenovirus vectors with reduced innate immune response.; 9th Annal Meeting of American Society of Gene Therapy; 2006年6月 (Bartimore, USA)
- 54) Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi; Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction in mouse hematopoietic stem cells isolated from human CD46-transgenic mice; 9th Annal Meeting of American Society of Gene Therapy; 2006年6月 (Bartimore, USA)
- 55) Yusuke Eto, Shinnosuke Kurachi, Tomohiro Morishige, Xinglei Yao, Hikaru Watanabe, Yuka Okada, Hiroyuki Mizuguchi, Yasuo Tsutsumi, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa; Transductional and transcriptional tumor-targeting using adenoviral vector with PEGylation and TERT promoter on systemic administration into tumor-bearing mice. American Association for Cancer Research, April 1-5, 2006, CA, USA
- 56) 小泉直也、川端健二、櫻井文教、佐々木朋美、西島美妙江、山口朋子、早川堯夫、渡邊善照、水口裕之；高い遺伝子導入効率と安全性を合わせ持つアデノウイルスベクターの開発；遺伝子・デリバリー研究会 第6回シンポジウム（東京）；2006年5月 奨励賞受賞

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

- 1) 水口裕之（発明人）（財団法人ヒューマンサイエンス振興財団（出願人））；改良型アデノウイルスベクター及びその作製方法；特願2006-323777
- 2) 水口裕之（発明人）（財団法人ヒューマンサイエンス振興財団（出願人））；アデノウイルスベクターおよびその作製方法；特願2006-243464
- 3) 中川晋作、岡田直貴、吉岡靖雄、川 紘一、前田光子（発明人）（国立大学法人大阪大学（出願人））；細胞内移行ペプチドを有効成分とする遺伝子導入補助および該遺伝子導入補助剤を利用した遺伝子導入方法；特願2006-332620

2. 実用新案登録

該当事項なし

3. その他

該当事項なし

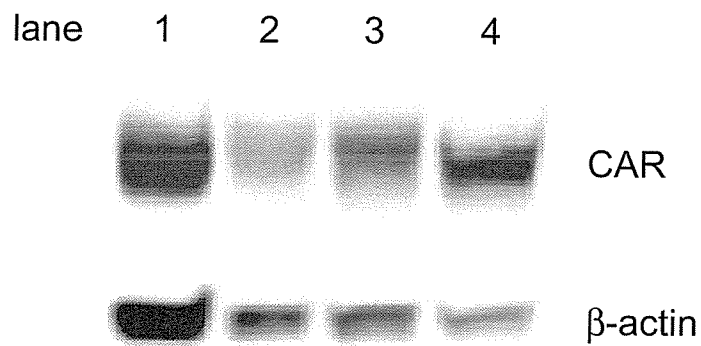


Fig. 1. Western blotting analyses

Lysates of B16CAR (lane 1), fresh (lane 2), 20 hours-cultured (lane 3) mouse islets, and MIN6 cells (lane 4) were subjected to Western blotting using an anti-mouse CAR or anti-β-actin antibody.

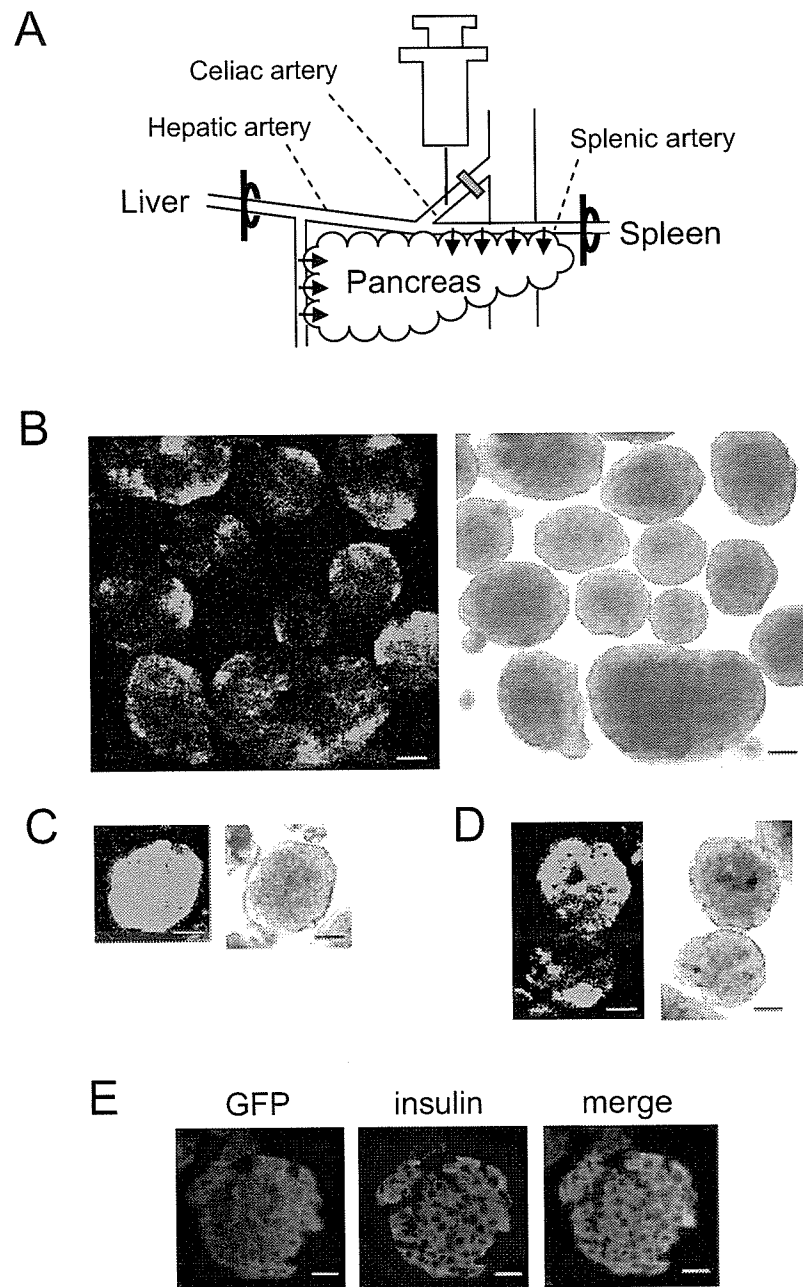


Fig. 2. Ad vector transduction into pancreatic islets *in vivo*.

(A) Schema of Ad vector transduction *in vivo*. After ligation of the hepatic artery with the portal vein at the porta hepatis and the splenic artery at the hilum of the spleen, respectively, Ad-CAGFP was injected into the lower side of the clamped point of the celiac artery. Five minutes later, pancreatic islets were isolated and cultured for 24 hours. (B-D) Confocal microscopic analyses of pancreatic islets of mice (B, C) and rats (D). An islet expressing GFP throughout the islet (C) was also observed. Each left panel and right panel represents the image of GFP-expressing islets and the corresponding visible image, respectively. Bars represent 50 μm . (E) Immunohistochemical analyses of sliced sections of mouse islets. Paraffin sections of islets were stained using an anti-insulin antibody and visualized with rhodamine. Bars represent 50 μm .

Table 1. Vector plasmid and Ad vector used in the present study

Ad vectors	vector plasmids	Fiber		pIX
		HI loop	C-terminus	
Ad-L2	pAdHM4-L2	————	————	————
Ad-TAT(HI)-L2	pAdHM41-HITAT-L2	<u>GRKKRRQRRRPQ</u>	————	————
Ad-TAT(C)-L2	pAdHM41-CTAT-L2	————	(GS) ₄ <u>GRKKRRQRRRPQ</u>	————
Ad-TAT(pIX75)-L2	pAdHM56-TAT75-L2	————	————	α -helical spacer plus (GS) ₄ <u>GRKKRRQRRRPQ</u>
Ad-RGD(HI)-L2	pAdHM15-RGD-L2	ACDCRGDCFC	————	————
Ad-K7(C)-L2	pAdHM41-K7(c)-L2	————	(GS) ₄ KKKKKKK	————

Each modified Ad vector has additional amino acids derived from unique restriction enzyme sites (Csp45I, ClaI, or XbaI) in each region, but not be described here. The underlines indicate TAT peptide.

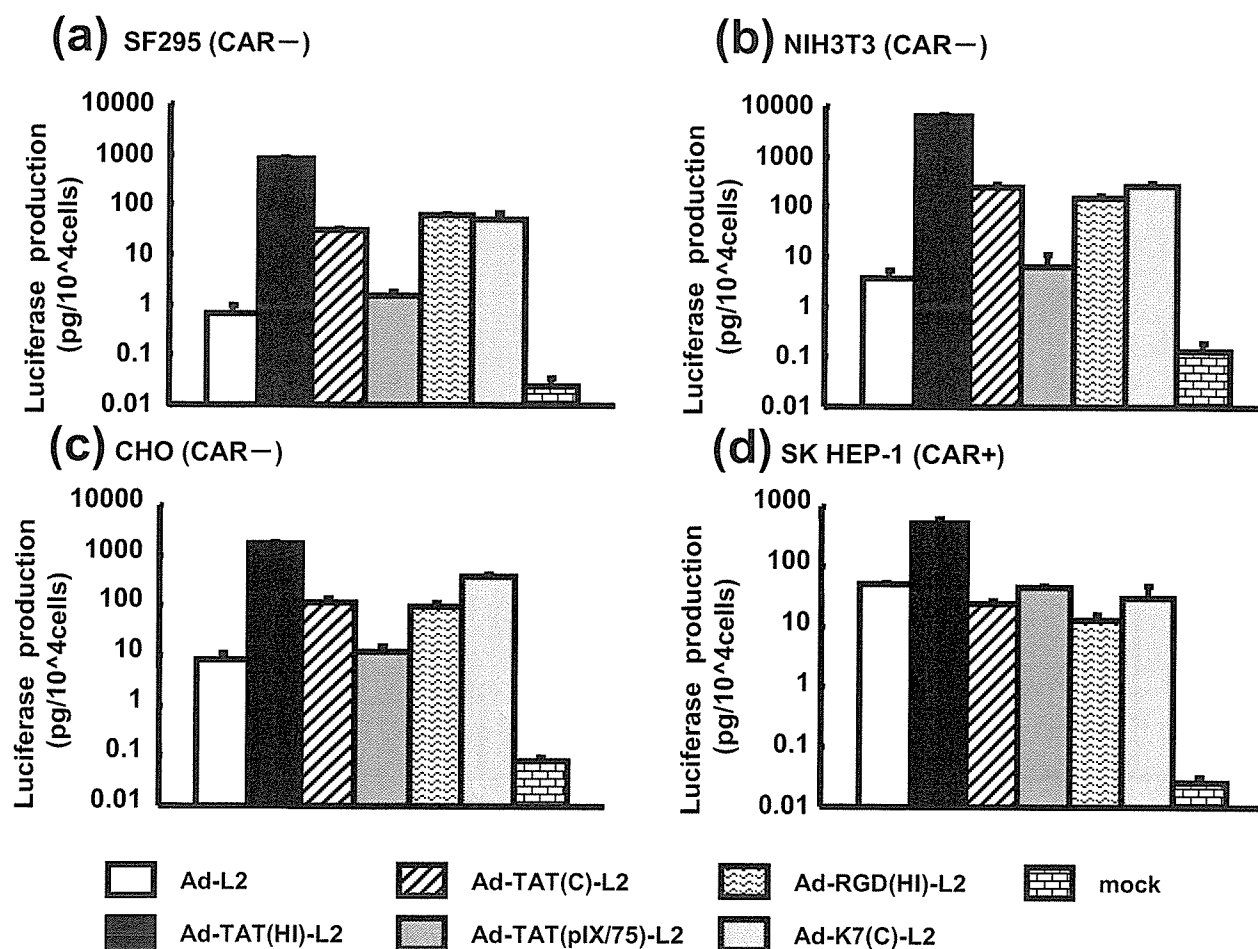


Fig. 3. Transduction efficiency of TAT-modified Ad vectors.

SF295 (a), NIH3T3 (b), CHO (c), and SK HEP-1 (d) cells were transduced with Ad-L2, Ad-TAT(HI)-L2, Ad-TAT(C)-L2, Ad-TAT(pIX/75)-L2, Ad-RGD(HI)-L2, or Ad-K7(C)-L2 ((a, b, and c); 3000 VP/cell, (a); 300 VP/cell) for 1.5 hr, respectively. After culturing for 48 hr, luciferase production was determined. The data are expressed as means \pm S.D. (n=4).

Table 2. Ad vectors used in the present study

Ad vectors	vector plasmids	fiber		pIX	hexon (HVR5)
		HI loop	C-terminus		
Ad-L2	pAdHM4-L2	————	————	————	————
Ad-FLAG(pIX)-L2	pAdHM56-FLAG-L2	————	————	GSDYKDDDDKGS	————
Ad-FLAG(pIX/75)-L2	pAdHM56-FLAG75-L2	————	————	alpha-helical linker plus (GS) ₄ DYKDDDDK	————
Ad-His(pIX)-L2	pAdHM56-His-L2	————	————	GSHHHHHHGS	————
Ad-His(pIX/75)-L2	pAdHM56-His75-L2	————	————	alpha-helical linker plus (GS) ₄ HHHHHH	————
Ad-RGD(HI)-L2	pAdHM15-RGD-L2	ACDCRGDCFC	————	————	————
Ad-RGD(C)-L2	pAdHM41-RGD-L2	————	(GS) ₄ ACDCRGDCFCG	————	————
Ad-RGD(pIX)-L2	pAdHM56-RGD-L2	————	————	GSCDCRGDCFCGS	————
Ad-RGD(pIX/75)-L2	pAdHM56-RGD75-L2	————	————	alpha-helical linker plus (GS) ₄ CDCRGDCFC	————
Ad-RGD(hexon)-L2	pAdHM62-RGD-L2	————	————	————	GSCDCRGDCFCGS

Each modified Ad vector has additional amino acids derived from unique restriction enzyme sites (Csp45I, ClaI, or XbaI) in each region, but not be described here.

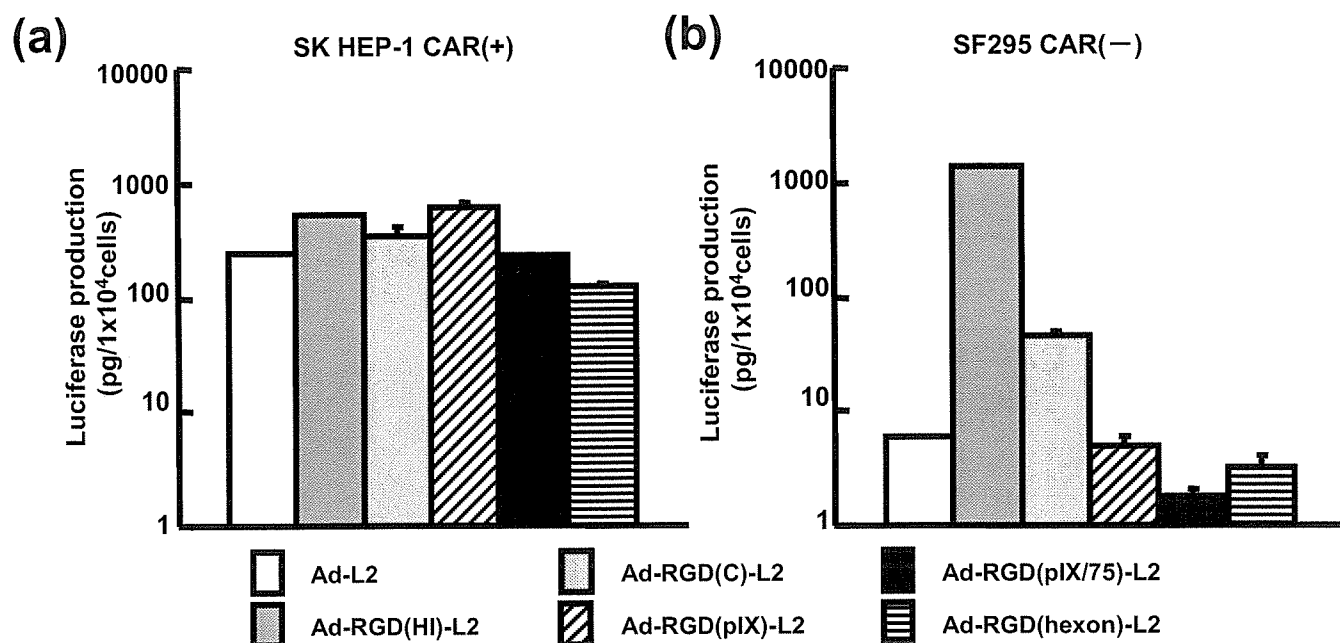


Fig. 4. Transduction efficiency of RGD-modified Ad vectors.

SK HEP-1 (a) and SF295 (b) cells were transduced with 3000 VP/cell of Ad-L2, Ad-RGD(HI)-L2, Ad-RGD(C)-L2, Ad-RGD(pIX)-L2, Ad-RGD(pIX/75A)-L2 or Ad-RGD(hexon)-L2 for 1.5 hr, respectively. After culturing for 48 hr, luciferase production was determined. The data are expressed as means \pm S.D. (n=3).

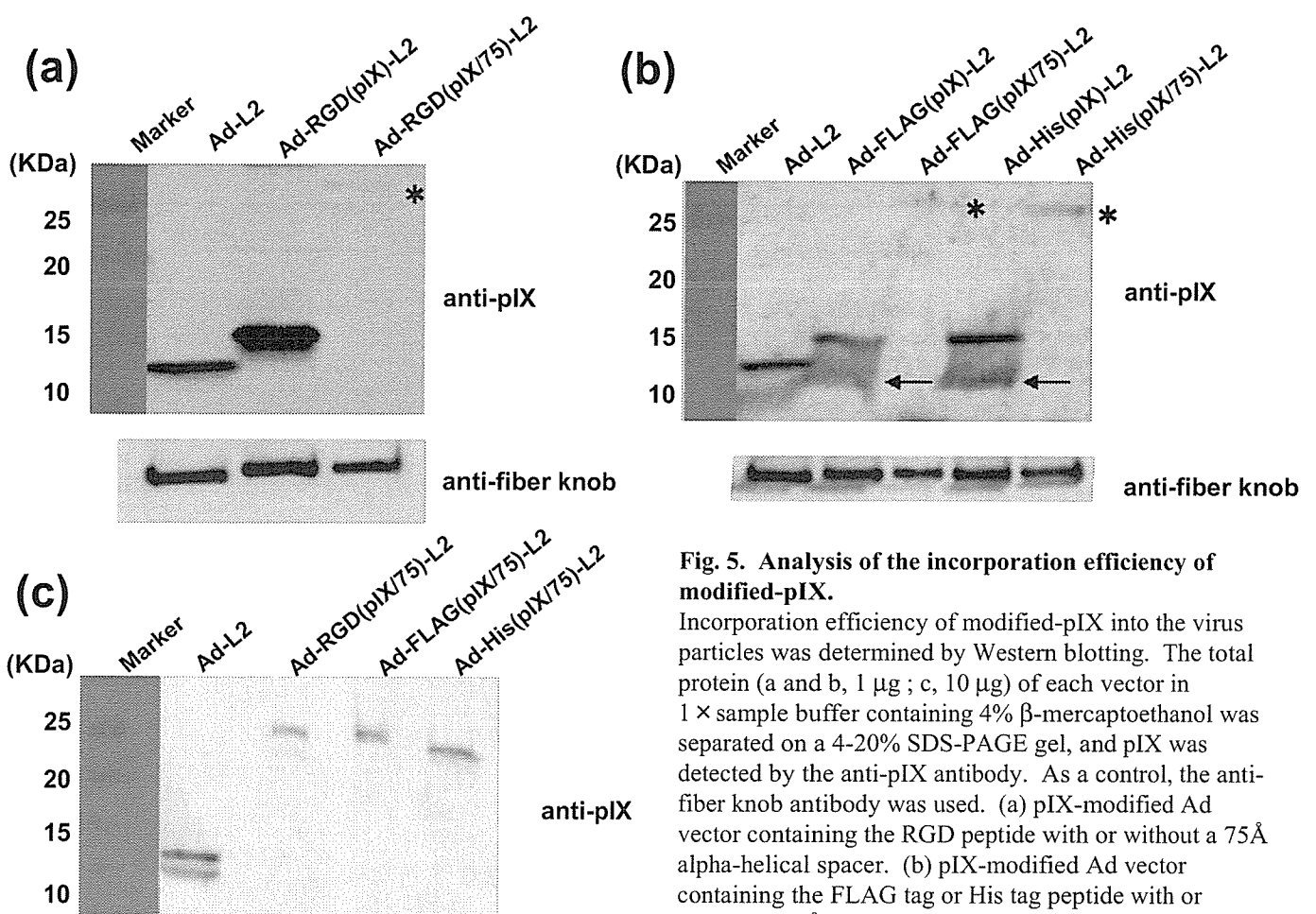


Fig. 5. Analysis of the incorporation efficiency of modified-pIX.

Incorporation efficiency of modified-pIX into the virus particles was determined by Western blotting. The total protein (a and b, 1 μ g ; c, 10 μ g) of each vector in 1 \times sample buffer containing 4% β -mercaptoethanol was separated on a 4-20% SDS-PAGE gel, and pIX was detected by the anti-pIX antibody. As a control, the anti-fiber knob antibody was used. (a) pIX-modified Ad vector containing the RGD peptide with or without a 75Å alpha-helical spacer. (b) pIX-modified Ad vector containing the FLAG tag or His tag peptide with or without a 75Å alpha-helical spacer. (c) The pIX-modified Ad vector containing the RGD, FLAG tag, or His tag peptide with a 75Å alpha-helical spacer. The extra bands marked with an arrow are proteolytic degradation products. The asterisks indicate the band of the modified-pIX with a 75Å alpha-helical spacer.

Table 3. Ad vectors and vector plasmids used in the present study

Ad vectors	Vector plasmid	Fiber	pIX ^{※1}	Hexon ^{※2}
Ad-L2	pAdHM4-CMV2	intact	—————	—————
Ad/ Δ fiber-L2*	pAdHM63-CMV2	partial deletion	—————	—————
Ad/ Δ fiber-L2	pAdHM63-CMV2	complete deletion	—————	—————
Ad-His(pIX)-L2	pAdHM56-His-CMV2	intact	GSHHHHHHGS	—————
Ad-His(hexon)-L2	pAdHM62-His-CMV2	intact	—————	GSHHHHHHGS
Ad/ Δ fiber-His(pIX)-L2	pAdHM65-His-CMV2	complete deletion	GSHHHHHHGS	—————
Ad/ Δ fiber-His(hexon)-L2	pAdHM64-His-CMV2	complete deletion	—————	GSHHHHHHGS

※1 His tag sequence (HHHHHH) was added at the C-terminal of pIX

※2 His tag sequence (HHHHHH) was added at the HVR5 of hexon

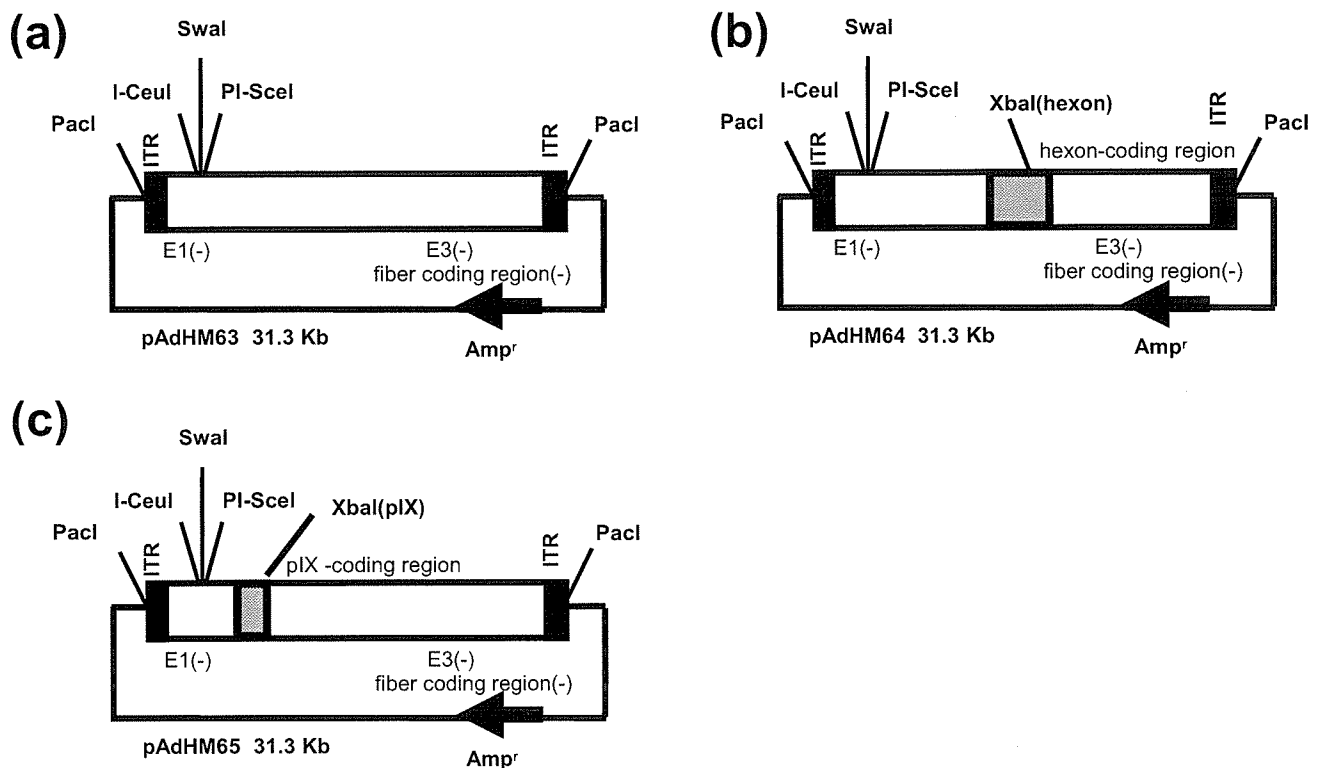


Fig. 6. The vector plasmids used in this study.

The vector plasmids for generation of several types of fiber-less Ad vectors, (a) unmodified fiber-less Ad vector, (b) hexon-modified fiber-less Ad vector, and (c) pIX-modified Ad vector.

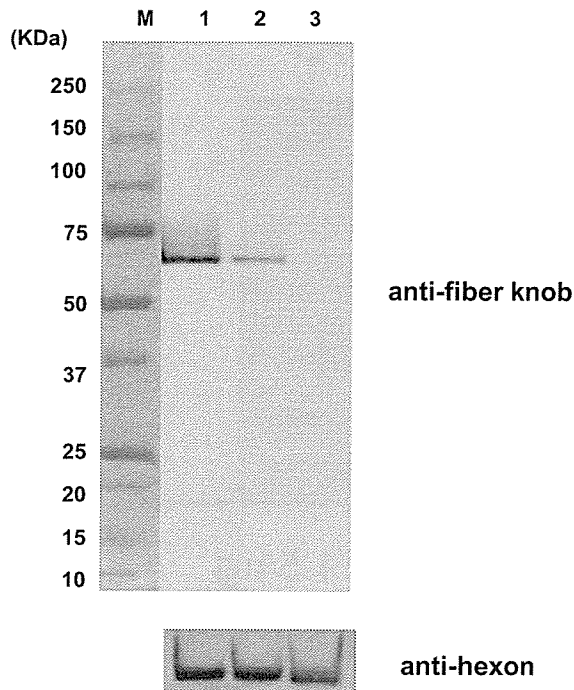


Fig. 7. Western blotting of fiber-less Ad vectors.

The total protein (500 ng) of each Ad vector in $1 \times$ sample buffer containing 4% β -mercaptoethanol was separated on a 4-20% SDS-PAGE gel, and the fiber protein or hexon (as a control) was analyzed by Western blotting using a rabbit fiber knob polyclonal antibody or a goat hexon antibody as described in Material and Methods. Lane 1, Ad-L2; Lane 2, Ad/ Δ fiber-L2*; Lane 3, Ad/ Δ fiber-L2.

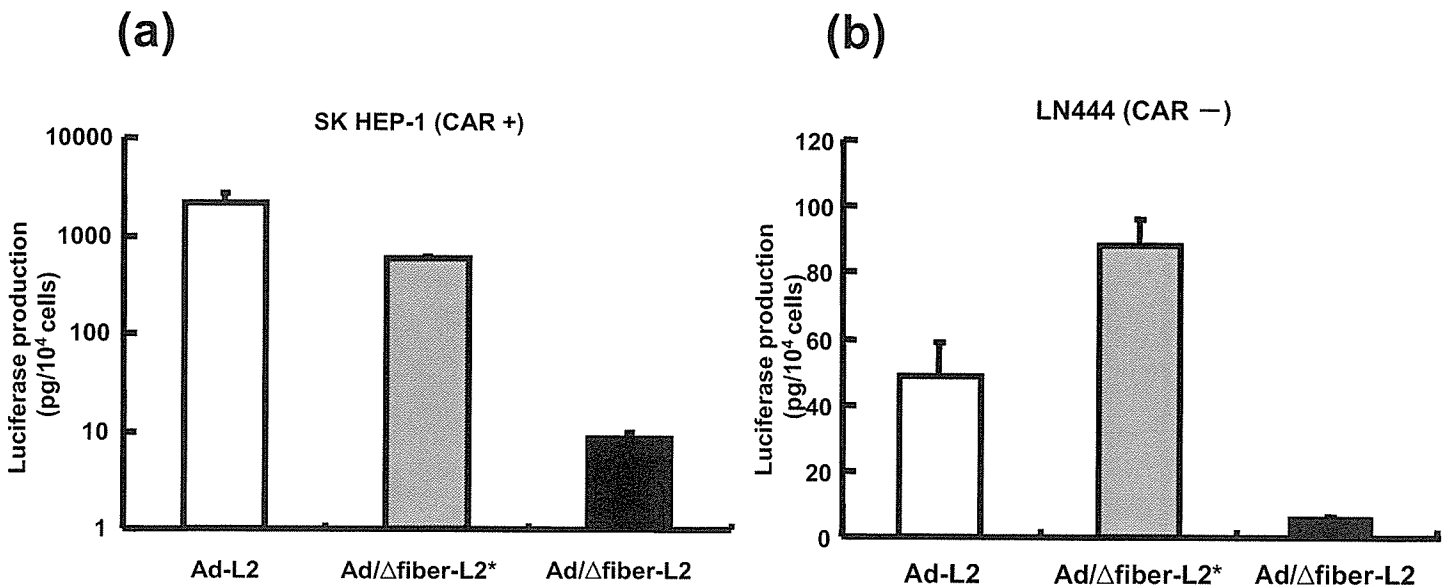


Fig. 8 Transduction efficiency of fiber-less Ad vectors *in vitro*.

SK HEP-1 (a) and LN444 (b) cells were transduced with 3000 VP/cell of Ad-L2, Ad/ Δ fiber-L2*, or Ad/ Δ fiber-L2 for 2 hr, respectively. After culturing for 2 days, luciferase production in the cells was determined. The data are expressed as means \pm S.D. (n=4).

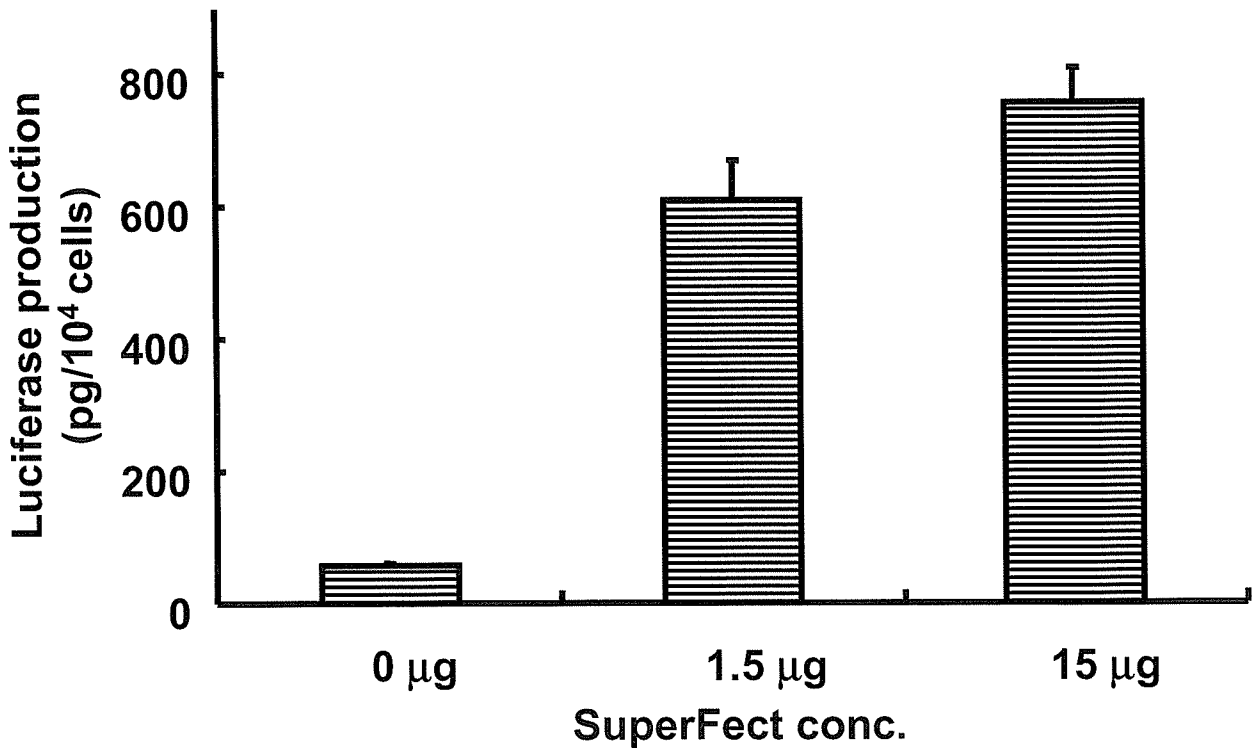


Fig. 9. Comparison of luciferase production in SK HEP-1 cells transduced with a complex of Ad/Δfiber-L2 and SuperFect

SK HEP-1 cells were transduced with Ad/Δfiber-L2 (30000 VP/cell) in the presence of SuperFect (0, 1.5, or 15 μg) for 3 hr. After 2 days culture period, luciferase production in the cells was determined. The data are expressed as means ± S.D. (n=6).

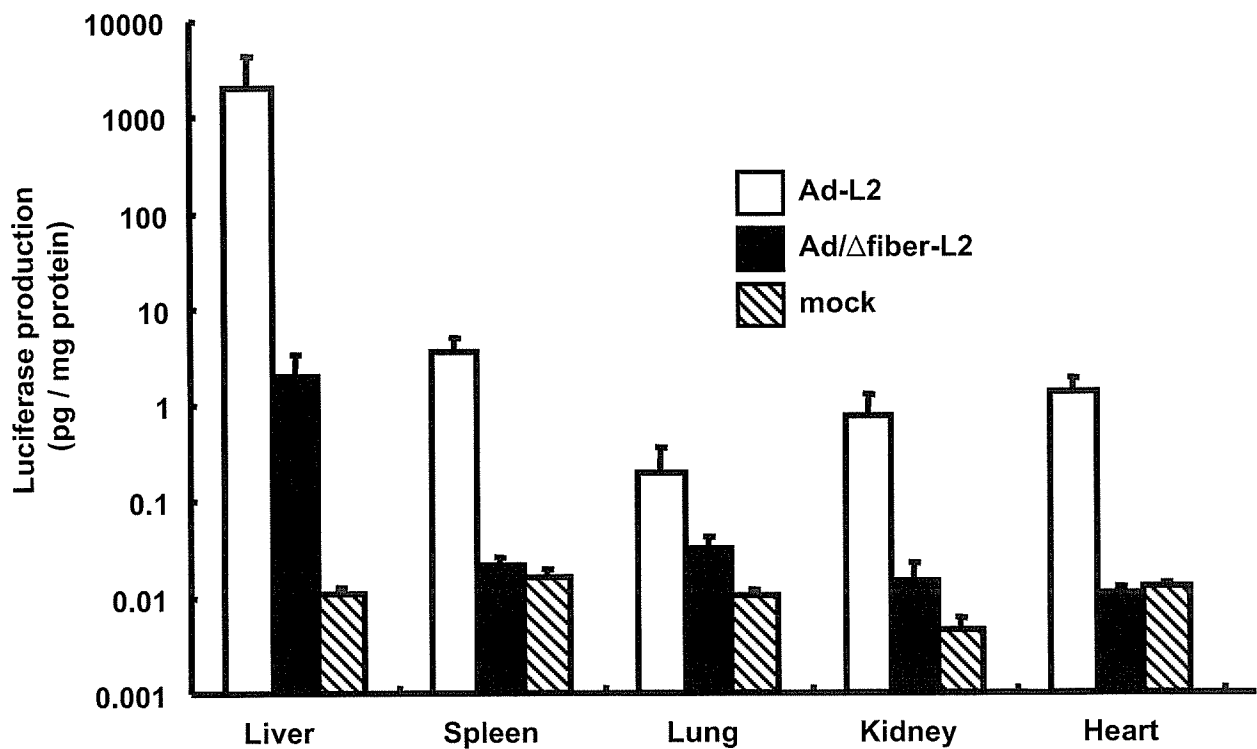


Fig. 10. Luciferase production in mice after the systemic administration of Ad-L2 or Ad/Δfiber-L2.

Ad-L2 or Ad/Δfiber-L2 were intravenously (1.0×10^{10} VP) injected into the mice. Two days later, the liver, spleen lung, kidney, and heart were harvested, and luciferase production was determined. All data represent the means ± S.D. of 5 mice.

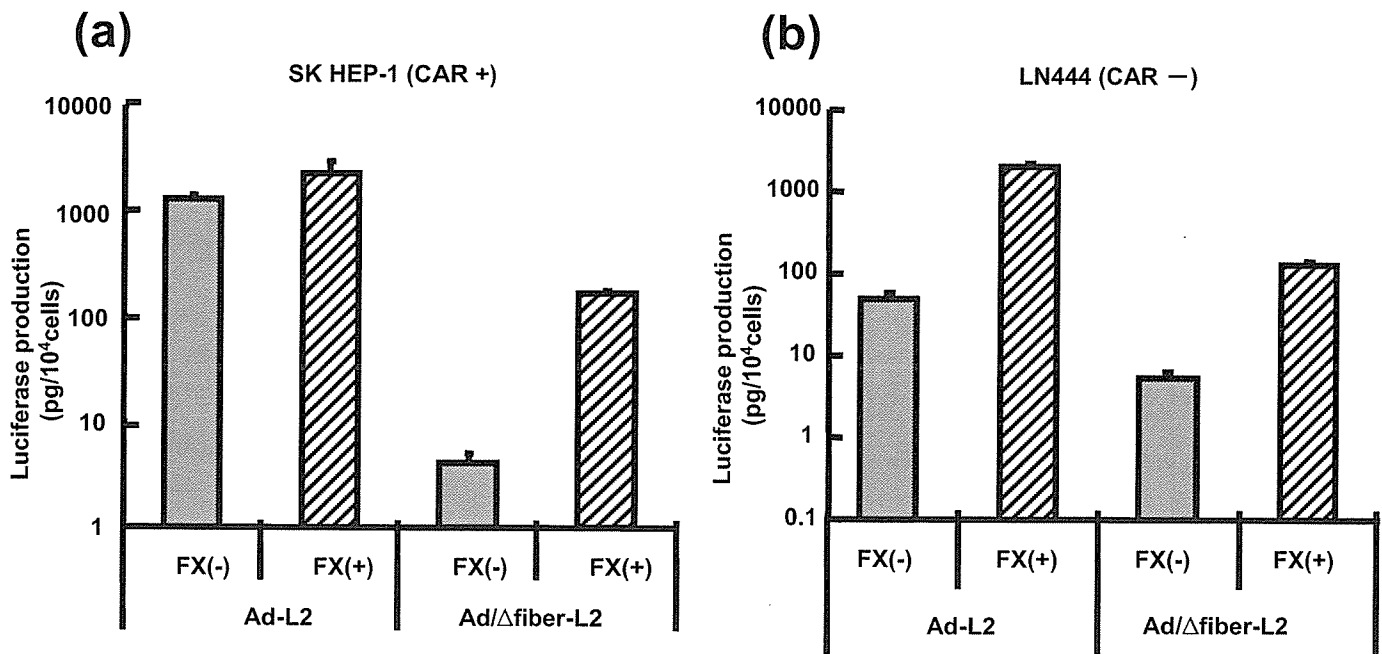


Fig. 11. Effect of the coagulation factor on transduction efficiency of fiber-less Ad vector

SK HEP-1 (1×10^4) cells were transduced with Ad-L2 or Ad/ Δ fiber-L2 (3000 VP/cell) for 2 hr in the presence or absence of the coagulation factor (FX; 0.4 μ g). After 2 days culture period, luciferase production in the cells was determined. The data are expressed as means \pm S.D. (n=5).

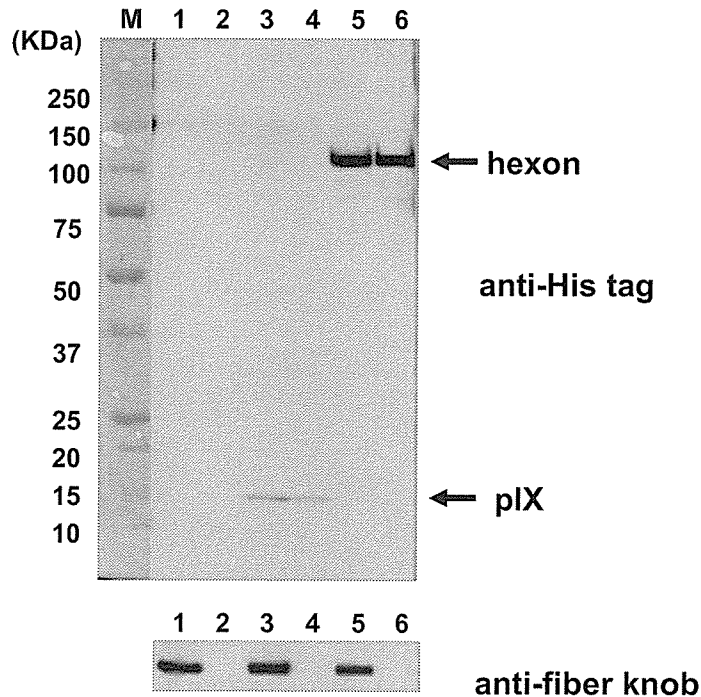


Fig. 12. Western blotting of several types of capsid-modified Ad vectors

The total protein (500 ng) of each vector in $1 \times$ sample buffer containing 4% β -mercaptoethanol was separated on a 4-20% SDS-PAGE gel, and the His tag sequence or the fiber protein was analyzed by Western blotting using anti-His tag antibody or a rabbit fiber knob polyclonal antibody, respectively.

Lane 1, Ad-L2; Lane 2, Ad/ Δ fiber-L2; Lane 3, Ad-His(pIX)-L2; Lane 4, Ad/ Δ fiber-His(pIX)-L2; Lane 5, Ad-His(hexon)-L2; Lane 6, Ad/ Δ fiber-His(hexon)-L2.

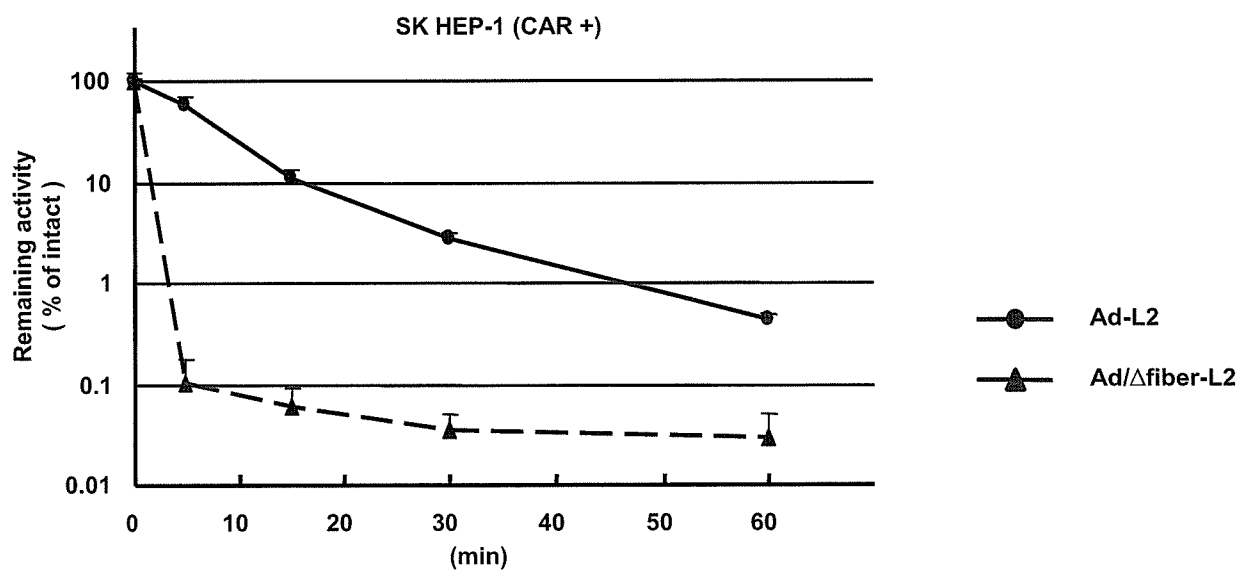


Fig. 13 Physical stability of fiber-less Ad vector

Ad-L2 and Ad/Δfiber-L2, which were suspended with PBS, were incubated at 45 °C for different time intervals. Then Ad vectors were added to SK HEP-1 cells (Ad-L2; 3000 VP/cells, Ad/Δfiber-L2; 30000 VP/cells). After 2 days culture period, luciferase production in the cells was determined. The data are expressed as means ± S.D. (n=4).