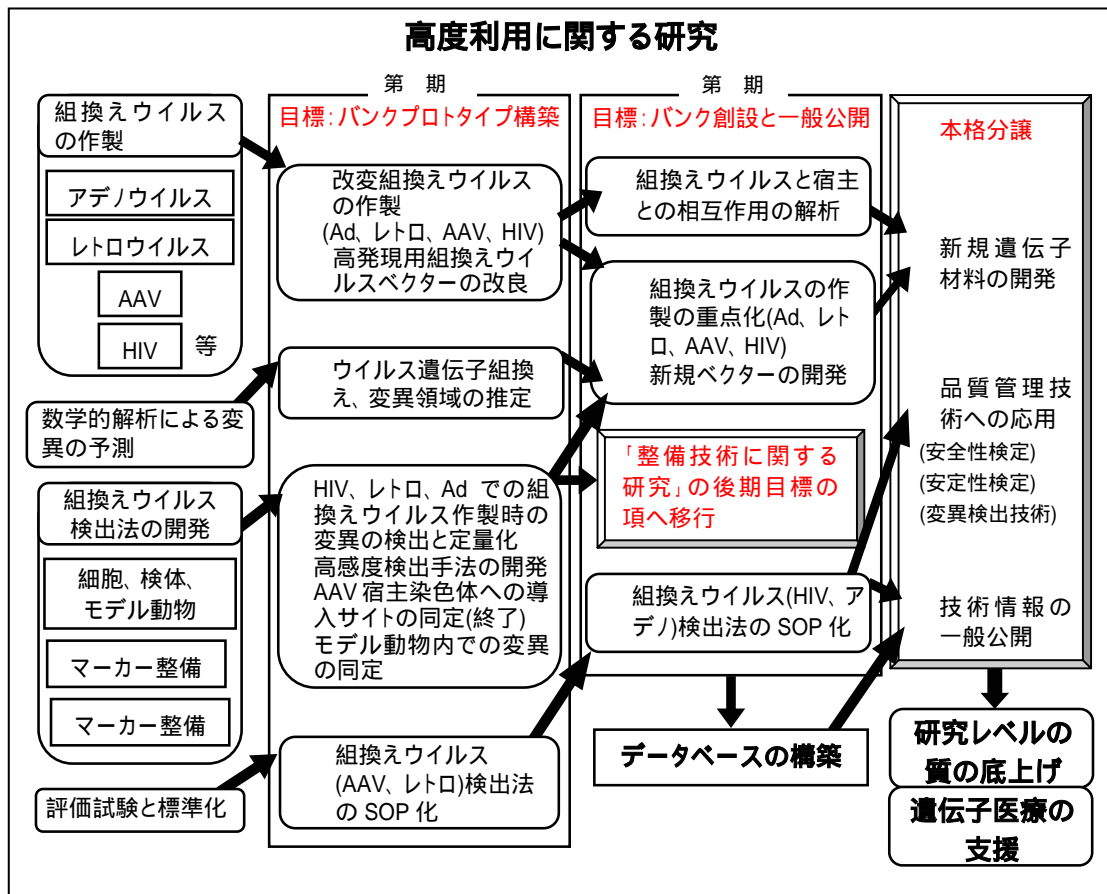
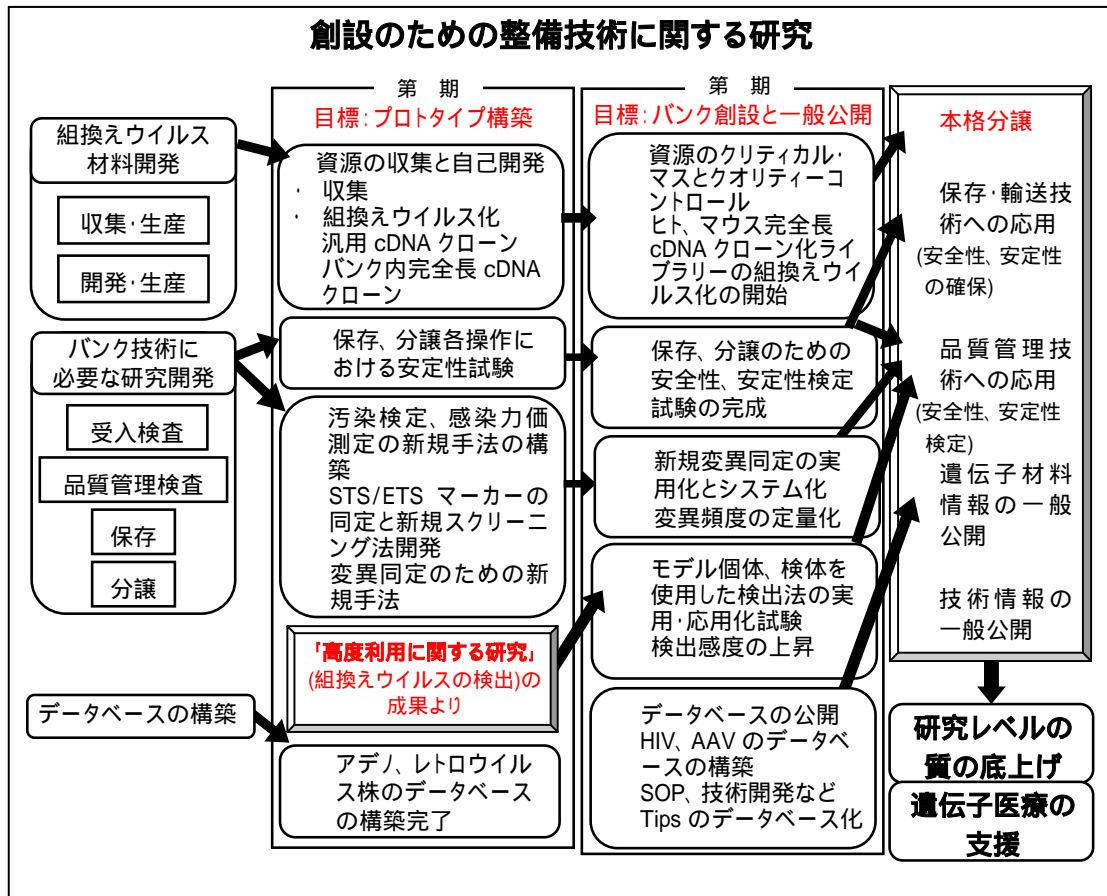


組換えウイルスコアバンクの創設とその高度利用のための基盤技術に関する研究

研究の目的	研究の概要	研究成果の利用
<p>本研究は、ウイルスに関する知的基盤のコアバンクとなりうる野生型ウイルス、組換え体ウイルスベクター群を収集し、ウイルス・コアバンクを創設するとともに、その高度利用を行うための基盤整備に必要とされる技術の研究開発を目的とする。</p>	<p>組換え体ウイルス作製のための野生型ウイルス、組換え体ウイルス DNA、それらの感染細胞、ウイルス組換え体導入細胞の収集・品質管理・保存・供給システムの構築、標準株の蓄積と安全管理体制の構築、インターネット利用による遠隔地結合型バンク運営体制の構築、組換え体ウイルス遺伝子の変異法則性の研究、組換え体固体及び組換え体マテリアル内での新規体系的検出システムの開発等を行う。</p>	<p>本研究により開発されるウイルス検出技術は、ヒトのみならず、農産物、植物、家畜や昆虫、魚類等の小動物等にも適用できるため、組換え体生物の安全性試験における一定のコンセンサスを構築するために大きな貢献が出来るものと期待される。</p>

第 期		第 期	
【研究担当機関】	【研究項目】	【研究担当機関】	【研究項目】
理化学研究所	組換えウイルス・コアバンク創設のための基盤技術に関する研究	理化学研究所	組換えウイルス・コアバンク創設のための基盤技術及び変異検出法に関する研究
農水省 農業資源研究所	組換えウイルスデータベースの作成	京都大学	組換えウイルスの分子検出法の開発
札幌医科大学	アデノ、レトロ組換えウイルスの改変と変異検出	(独)農業生物資源研究所	組換えウイルスデータベースの作成と整備
厚生省 国立感染症研究所	組換えウイルス遺伝子の改変及びその動態	札幌医科大学	組換えアデノウイルスの改変と宿主との相互作用
日本医科大学	組換え体ウイルスの細胞内動態	理化学研究所	組換えレトロウイルスの改変と宿主との相互作用
東京 医科歯科大学	FISH 法と高精度バンディング法による分子診断	自治医科大学	組換えアデノ随伴ウイルスの改変と宿主との相互作用
自治医科大学	組換えアデノ随伴ウイルスの改変とその組換え機構の研究	日本医科大学	組換え HIV ウイルスの改変と宿主との相互作用
京都大学	分子診断法の研究開発	文部科学省 国立遺伝学研究所	分子進化と変異予測法の開発
文部省 国立遺伝学研究所	分子進化と変異予測に関する研究	東邦大学	組換えウイルスの検出法のバリデーションと SOP に関する研究
(株) ジャパンエナジー	組換えウイルス検出法のバリデーション(評価試験)とその標準化(SOP)に関する研究(東邦大学)		

組換えウイルスコアバンクの創設とその高度利用のための基盤技術に関する研究



所要経費一覧

【第一期】

(単位：千円)

研究項目	担当機関	研究担当者	平成 10 年	平成 11 年	平成 12 年	合 計
組換えウイルス・コアバンク創設のための整備技術に関する研究						
(1) 組換えウイルス感染細胞の収集と保管に関する研究	理化学研究所	大野 忠夫	13,053	10,935	10,709	34,697
(2) 組換えウイルス親株、組換えウイルス粒子及び組換えウイルス DNA の収集と保管に関する研究	理化学研究所	村田 武英	28,270	23,155	28,705	80,130
(3) STS/ETS マーカーの検索と組換えウイルス改変技術に関する研究	理化学研究所	横山 和尚	31,535	35,570	38,025	105,130
(4) 組換えウイルス・データベースの作成	農林水産省農業生物資源研究所 宮城教育大学	長村 吉晃 鶴川 義弘	4,485	6,804	7,672	18,961
組換えウイルス・コアバンクの高度利用に関する研究						
(1) 組換えウイルス遺伝子の高感度検出法に関する研究	札幌医科大学	濱田 洋文	11,465	16,723	19,910	48,098
アデノ、レトロ組換えウイルスの改変と変異検出法に関する研究	厚生労働省 国立感染症研究所	小島 朝人	19,959	19,494	15,417	54,870
DNA 及び RNA 組換えウイルス遺伝子の新規検出法に関する研究	自治医科大学	小澤 敬也	5,491	6,894	8,730	21,115
アデノ随伴組換えウイルスの改変とその取込み機構に関する研究	日本医科大学	島田 隆	5,464	4,809	4,811	15,084
組換えウイルスの細胞内動態に関する研究						
(2) 組換えウイルス感染細胞感染個体の分子診断学的研究と体系的検出法の実証試験に関する研究	京都大学	上田 國寛	4,548	4,663	6,217	15,428
組換えウイルス臨床検体の新規分子診断法に関する研究	東京医科歯科大学	池内 達郎	5,184	5,153	5,202	15,539
FISH 法と高精度バンディング法による組換えウイルスの分子診断法に関する研究	厚生労働省 国立感染症研究所	向井 鎌三郎	8,523	7,673	8,670	24,866
組換え SIV 感染個体を利用した組換えウイルスの分子診断法に関する研究						
組換えウイルスの分子進化の数学的解析に関する研究	文部科学省 国立遺伝学研究所	五條堀 孝	5,072	4,637	4,681	14,390
組換えウイルス遺伝子の高感度検出法のバリデーション(評価試験)とその標準化(SOP)に関する研究	(株)ジャパンエナジー	三沢 悟	5,852	5,122	6,117	17,091
研究運営	理化学研究所	横山 和尚	2,971	6,386	6,483	15,840
合 計			151,872	158,018	171,349	481,289

【第二期】

(単位:千円)

研究項目	担当機関等	研究担当者	平成 13 年	平成 14 年	合計
組換えウイルス・コアバンク創設のための整備技術に関する研究					
(1) 組換えウイルス資源の開発と保存及びその安定性に関する研究	理化学研究所	村田 武英	30,094	27,193	57,287
(2) 組換えウイルスの変異検出法の開発に関する研究	理化学研究所	横山 和尚	24,081	21,194	45,275
(3) 組換えウイルスの分子検出法の開発に関する研究	京都大学	上田 國寛	9,022	6,931	15,953
(4) 組換えウイルスデータベースの作成と整備技術に関する研究	(独)農業生物資源研究所	長村 吉晃	12,208	10,325	22,533
組換えウイルス・コアバンクの高度利用に関する研究					
1. 組換えウイルス遺伝子の改変及びその動態					
(1) 組換えアデノウイルスの改変と宿主との相互作用に関する研究	札幌医科大学	濱田 洋文	29,704	24,242	53,946
(2) 組換えレトロウイルスの改変と宿主との相互作用に関する研究	理化学研究所	天沼 宏	7,468	6,040	13,508
(3) 組換えアデノ随伴ウイルスの改変と宿主との相互作用に関する研究	自治医科大学	小澤 敬也	9,789	7,131	16,920
(4) 組換え HIV ウイルスの改変と宿主との相互作用に関する研究	日本医科大学	島田 隆	9,152	7,250	16,402
分子進化を基盤とした組換えウイルスベクターの変異予測に関する研究	文部科学省 国立遺伝学研究所	五條堀 孝	7,107	6,754	13,861
組換えウイルス検出法のバリデーションとその標準化(SOP)に関する研究	東邦大学	小林 芳郎	7,680	7,229	14,909
研究運営	理化学研究所	横山 和尚	7,689	8,305	15,994
合計			153,994	132,594	286,588

研究成果の概要

総括

ウイルス・コアバンク設立のための実行体制を整備し、その実現に向けて研究を推進した。特に、グループ は組換えウイルスデータベースの充実化とウイルス遺伝子材料の整備に焦点を合わせ、グループ 、 はそのための研究の推進や評価を行う事を目標とした。第 グループでは組換えウイルス遺伝子材料 927 株を揃え、これらの遺伝子資源に関するデータを公開用ウイルス・コアバンクデータベースに入力し、公開した。また独自に品質管理のために混入する自律増殖型ウイルス(RCA)の検出方法を確立し、SOP を作成した。更に組換えウイルスの提供、寄託、申込書の書式の作成、MTA の作成を行い本格分譲に向けての体制づくりを行った。品質管理のための開発研究としては、組換えウイルスの変異点の同定法として、基質指向性 TDI 法や Exonuclease 共役 PCR 法や CSA 法や TRC-INAF 法などの組換えウイルスの臨床検体の新規の検出法が開発された。第 グループでは遺伝子治療用ベクターとして範囲されているアデノウイルス、レトロウイルス、アデノ随伴ウイルス、HIV レンチウイルスベクターのターゲティングを中心に様々な改変をし、各々、各血液型やレセプターやリガンドの改変等を行って世界をリードしようとする研究成果が生み出された。これらの改変ベクターを用いて更に遺伝子治療用への実用化を踏み出した。第 グループは分子進化論を基盤にしてアミノ酸の置換度を計算し、変異の予測プログラムを完成させた。第 のグループは、上記の研究開発チームで開発された技術を基にそのスタンダード手順書を作成し、これをデータベース化した。以上、組換えウイルス・コアバンクの創設を目的とした本プロジェクトは次々と新しい技術を創案し、これを基に組換えウイルスの作成と品質の評価を行い、世界でも類をみないバンクが完成した。

サブテーマ毎、個別課題毎の概要

サブテーマ 1: 組換えウイルス・コアバンクの高度利用に関する研究

(1) 組換えウイルス資源の開発と保存及びその安定性に関する研究【理化学研究所 村田 武英】

ウイルス・コアバンクを設立するための遺伝子材料の収集および保管を行い、品質管理ならびに分譲業務に関する手順書を作成し、標準化マスに達した後にウイルス・コアバンクを仮開設し、収集・保存・品質管理・分譲業務を行った。累積で組換えアデノウイルス 342 株、組換えウイルス作製用シャトルベクター 497 株、クローン化ウイルス遺伝子断片 33 株、アデノウイルス野生株並びに分離株 32 株を保存した。最終年度には仮開設から本運用に切り替えるために、仮開設期間中に明らかとなった問題点を整理し、実行体制を整えた。品質管理では自律増殖可能アデノウイルス(RCA)を検出するための PCR による検出方法を開発し組換えウイルスの品質検査の後、分譲業務を行った。また本検出方法の SOP 化を行いデータベースに入力した。分譲業務では「組換え DNA 実験指針」及び「ヒトゲノム、遺伝子解析に関する倫理指針」に沿った分譲に必要な書類の整備を行った。組換えウイルス遺伝子材料情報、組換えウイルス検出方法、調整方法、取扱方法、実験方法等を整備し、組換えウイルスデータベースで公開した。現在までの仮分譲では 195 株を提供し、提供した遺伝子材料を用いてこれまでに少なくとも 15 報の学術論文が報告された。

(2) 組換えウイルス変異検出法の開発に関する研究【理化学研究所 横山 和尙】

高感度ウイルス変異検出法の開発のために基質として癌抑制遺伝子 p53 を使用し、この組換え p53 アデノウイルスを使用して様々な変異検出法を比較検討した。変異点の判明している場合は、RNA 診断法では、RNase Protection 法、RNase H を用いる解析法、Dinucleotide フィンガープリント法、等を DNA 診断法として、DNA フィンガープリント法、Allele Specific PCR 法、等を開発しその実用化を測った。そして変異点の同定スキャンニングプログラムとして"Overlap I"を開発した。更に実際に組換えウイルスでヒトへの臨床応用がなされている癌抑制遺伝子の p53 を例にとり組換えアデノウイルス粒子として調整した時に生じる変異の同定と、変異点未知の変異の同定法を開発した。特にその中で Taq-Man 5'-nuclease assay 法、基質指向性 dye-termination incorporation 法、Exonuclease 共役 PCR 法、を自ら開発しその応用例を示した。

(3) 組換えウイルスの分子検出法の開発に関する研究【京都大学化学研究所 上田 國寛】

CSA(catalyzed signal amplification)法は 3' 末端に複数のピオチンをテイル状に標識したオリゴ DNA プロープに加えて複数箇所にピオチン標識を入れた cDNA をプロープとする事により検出感度を高めるという方法である。組換えアデノウイルス感染マウスにおけるアデノウイルス DNA の検出に有効であった。TRC-INAF (Transcription Reverse transcription Concerted section-Intercalation Activating Fluorescent)法は、INAF プロープを用いて相補的塩基配列に統合、挿入されて蛍光を発するプロープであり、このプロープを RNA ポリメラーゼと逆転写反応の組合せで RNA の検出に用いて、RNA をリアルタイムにモニタリングしながら増幅検出する。これを利用してウイルス感染細胞での効果を解析し、良好な結果を収めた。その他に インターカレーションモニタリング - PCR 法、in situ PCR 法、生体試料からの直接 PCR 法、も独自に開発し HCV や HBV 肝炎ウイルスのゲノムや MRSA (メチシリン耐性藍色ブドウ球菌)mecA 遺伝子、変異 K-ras 遺伝子、病原大腸菌 O157 ペロ毒素遺伝子、結核菌リボソーム RNA などで良好な成績をおさめ、組換えウイルス感染細胞や感染個体への適用を行った。

(4) 組換えウイルスデータベースの作成と整備技術に関する研究【(独)農業生物資源研究所 長村 吉児】

組換えウイルス・コアバンクの創設に向けた整備技術研究の中で、組換えウイルスデータベースを構築する事を目的とする。アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、HIV ウイルスベクターの作製プロトコル、変異検出技術、安定性検定技術を東邦大学が SOP 化したものに関して、標識操作手順書としてマニュアル化しデータベース化した。また組換えウイルスの STS マーカー情報の収集を行いデータベースに組み込んだ。また収集した組換えウイルス情報や STS マーカー情報をクライアント端末からサーバへアップロードし、データベースに組込む管理用ソフトウェアを作成した。これで本格分譲へ向けての万全の準備が完了した。本データベースはインターネットを通じて <http://rvd.rtc.riken.go.jp/rvd/> で閲覧できる。

サブテーマ 2: 組換えウイルスの高度利用に関する技術開発

1. 組換えウイルス遺伝子の改変とその動態

(1) 組換えアデノウイルスの作製と宿主との相互作用【札幌医科大学 医学部 濱田 洋文】

組換えアデノウイルスの改変を目的として、ファイバー変異アデノウイルスベクターをキャプシドタンパク変異体を作製した。また、これらの生物活性を検討し、ウイルスバンクの基礎データとした。導入する遺伝子群は アポトーシス関連遺伝子、細胞周期関連遺伝子、腫瘍抑制遺伝子、薬剤感受性遺伝子などであり、これらを高発現する Ad ベクターを用いてアポトーシス耐性の分子メカニズムを解析した。p53 や p16/Rb などの腫瘍抑制遺伝子に変異をもつ腫瘍細胞特異的な遺伝子導入ベクターを開発した。腫瘍に対して細胞傷害を得る手段を組合せた効果的な治療ベクターを開発した。間葉系幹細胞や神経幹細胞などの組織標的性の高い正常細胞をベクターのキャリアーとして用いてミサイル療法的な細胞投与療法を検討した。そして難治性癌疾患に対する効果的な遺伝子治療の開発を目指す。() Ad5 本来の受容体である CAR と結合しない Ad40 型の短いファイバーを有するキメラアデノウイルスベクター F40S を作製した。本シャフトには肝臓に取り込まれやすいペプチドモチーフ KKTK を欠如しているため肝臓への遺伝子導入のバックグラウンドは極めて少ない。() NG2 プロテオプリカンの発現は、メラノーマ、グリオーマなどの悪性腫瘍とその腫瘍血管に局限されており、これを標的とするペプチドモチーフ TAASGVRSMH (TAA) を含んだ、Adv-F40S/TAA を作製し、NG2 を発現するメラノーマやグリオーマに高い選択性を

有するベクターを作製した。() 静脈内投与で標的可能なアデノウイルス変異型として F40S/TAA に EGFP を連結したウイルスを作成した。更に、Adr-F40S/TAA をベースとした治療実験をヒトIL-2 を用いて解析した。静脈投与による効果をメラノマ担癌モデルで治療実験を開始した。その他、ヒト5型アデノウイルスのファイバー分子の発現を誘導することのできる A549 細胞を用いて AdF40S/TAA で5型アデノウイルスのファイバーを有するシュートタイプファイバー型キメラを作製でき、ファイバー変異型の高力価のウイルスを作製する方法、固形腫瘍に対する CD40 Ligand の遺伝子導入、アポトーシス促進性遺伝子を用いた遺伝子治療法、更にリボザイムや Si-RNA を用いた癌の遺伝子治療法の開発などの研究開発においても本グループは画期的な発見をし、世界をリードしている。

(2) 組換えレトロウイルスの改変と宿主との相互作用に関する研究【理化学研究所 天沼 宏】

マウス同種指向性モロニー白血病ウイルスのベクターの改変を行った。SDF-1 キメラ Env を有するマウスレトロウイルスベクター(S3ベクター)を作製し、内在的に CXCR4 を高発現するヒト乳癌細胞 10^3 以上の力価で遺伝子導入した。また S3 の 84 位の D K 置換させた S3-D84K ベクターを改変型レトロウイルスを用いてヒト HOS、CXCR4 細胞に対して 10^4 以上の力価で感染させる事に成功した。

(3)アデノウイルス随伴組換えウイルスの改変と宿主との相互作用【自治医科大学 小澤敬也】

AAV ベクターを用いた遺伝子導入が可能な臓器、組織に関して高発現を得るためのベクター構築を行い、最適な各血液型由来キャプシド及びプロモーターを同定した。更に最適化したベクターを用いて動物個体に遺伝子を導入し、その効果や宿主側の免疫反応に関しての解析を行った。肝臓に対しては CAG プロモーターを骨格筋には CMV プロモーターを使用し、既知の ~5 型までの血清型由来のキャプシドを用いてエリスロポエチンを搭載するベクターを作製し、経門脈及び筋肉内投与における遺伝子導入効率を比較検討した。その結果、臓器では 5 型が、骨格筋に対しては 1 型が最も高く、5 型がこれに次ぎ、残りはいずれも 2 型と同程度であった。肝臓でも骨格筋でも血中濃度は 16 週間の観察期間を通じてほぼ一定レベルを維持した。血液凝固第 1 因子を用いた SCID マウスを用いた比較では 1 型を用いた場合が最良で 5 型がこれに次ぎその他の血清型の場合には更に低かった。いずれの場合にも第 1 因子の血中濃度は投与後 10 週間にわたって一定のレベルを保っていた。カニクイザルに対する投与実験では 1 型が高く、これに 2 型が続き、5 型は効果がなかった。いずれも注入後、6 週を過ぎると血中濃度は著明に低下し、検出限界以下となった。

(4)組換え HIV ウイルスの改変と宿主との相互作用【日本医大 島田 隆】

HIV ベクターのプロモーターの改良や cis-element の付与を行い、より安全で導入効率の高いベクターを作製した。血管新生抑制因子を発現する HIV ベクターを作製し、眼内新生血管モデルのマウスでの治療を行い、良好な結果を得た。また、BtK 遺伝子を発現する HIV ベクターを作製し、X 連鎖無ガンマグロブリン血症のモデルマウスでの治療を行い、良好な結果を得た。HSV-tR 遺伝子を導入したレトロウイルスベクターや HIV ウイルスベクターは高頻度に変異が導入されることを明らかにした。以上より本来 HIV ウイルスゲノムやレトロウイルスゲノムは高度に変異が入る不安定なウイルスゲノムであると考えられた。そこで遺伝子変異の起こりにくい組込み型ベクターの開発を行うために HIV プロウイルスゲノムを PCR で合成し、これをインテグラーゼを用いて染色体に組み込ませることに成功した。導入されてしまった遺伝子変異を修復する技術も開発した。

サブテーマ 3: 分子進化を基盤とした組換えウイルスベクターの変異予測に関する研究【国立遺伝学研究所 五條堀 孝】

国際 DNA 配列データベース(DDBJ/EMBL/Genbank)より、各種ウイルスの遺伝子配列データベース化を行った。更にこれらの遺伝子配列を多重整列化し、分子進化系統樹の作成を行い、遺伝子配列によるウイルスの同定・分類を進めるとともに、このデータを利用して塩基置換速度、塩基置換パターンの推定を行うためのシステムの統合化をすすめた。この結果を用いて、ウイルス遺伝子における組換え領域の推定や遺伝子ごとの可変領域の推定方法の開発・検討を行った。これと並行して、データベースと解析ツールの WWW を経由した利用のためのユーザーインターフェースの開発とネットワーク化に着手した。また、ウイルスの進化パターン推定方法の検証と実データを用いた解析を進めた。この過程において、さまざまな RNA ウイルスのファミリー間での同義、非同義置換の速度を求めた。更に、人のゲノムの中に存在する RNA ウイルス遺伝子様配列の探索をヒトゲノムを対象にスキャンニングした。

サブテーマ 4: 組換えウイルス検出法のバリデーション(評価試験)とその標準化(SOP)に関する研究

【東邦大学 理学部 小林 芳郎】

標準的な組換えウイルス遺伝子の高感度検出法の評価を行うための標準化プロトコール(SOP)を作成し、これらをデータベース化して一般に公開した。前期では、組換えアデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、HCV の作製とその取扱いプロトコールを、後期では組換えアデノウイルスと HIV ウイルスの作製や取り扱い方法のプロトコールを SOP 化した。その他京都大学が開発した CSA 法のバリデーションを行った。これらの SOP されたプロトコールを組換えウイルス・コアバンクのデータベースに取り入れ、公開した。

波及効果、発展方向、改善点等

組換えウイルス株の整備は、プロジェクト開始当初の作製及びデータ登録目標値である 300 株を越え、クリティカル、マスを達成することができた。この中には基礎研究に広く利用されていると考えられるヒト及びマウス由来遺伝子搭載株が各々 135 株ならびに 60 株あり、有効に利用されるのに十分な数がそろったが、今後も学会に所属する研究者へのアンケートや学術論文の調査により有用な遺伝子を搭載した株を積極的に収集、あるいは作製してゆきたい。更に本年度の 3 月には国際学会のワールド・スプリング・ハーバー・ミーティングの「ウイルスベクター」で本バンクを紹介する機会を得、世界の研究者に公開した。また、最近になってこれらの遺伝子材料を利用した研究成果が世界的に高い評価を得ている学術誌に掲載されるようになり、本研究課題が単に材料を収集するだけのプロジェクトではなく、収集した材料の提供によって成果を生み出すことに貢献する。まさしく「知的基盤整備」に合致した研究プロジェクトであったと痛感している。単なる一時的な研究成果でなく、目に残る材料やデータベースとしてプロジェクトの成果が生み出されたことは他に類を見ない波及効果を示している。更に仮分譲期間中には「組換えウイルス・データベース」固有の番号で株の提供を依頼する件数が増えてきた。このことは「組換えウイルス・データベース」が研究者間で認知されつつあることを示している。今後は更にコンテンツの工夫と充実化を図り、より一層使いやすいデータベースとして公開し、続けたい。本バンクはまた遺伝子治療の臨床研究を実施している欧米の一線級の研究所からの申し込みもあり、世界的にも「組換えウイルスバンク」世界の中核拠点として認められ始めている。実際、「組換えウイルス・コアバンク」は ATCC などの欧米のどのバンク機関も扱っておらず、極めてユニークな我が国が発信源となる将来性のある機関となっており、期待されている。特に分子生物学もポストゲノム時代が到来し、遺伝子機能を探求する時代に突入し、個体への遺伝子導入のツールとしてのウイルスベクターは次世代の必須の実験技術となっている。また遺伝子治療の進展ともあいまって本バンクは Ready-made の遺伝子材料を取り扱う斬新な「バンク」となっている。

研究成果公表等の状況

(1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	第 期 86 件	第 期 20 件	第 期 245 件	第 期 351 件
	第 期 48 件	第 期 13 件	第 期 194 件	第 期 255 件
国際	第 期 208 件	第 期 15 件	第 期 85 件	第 期 308 件
	第 期 170 件	第 期 38 件	第 期 55 件	第 期 263 件
合計	第 期 294 件	第 期 35 件	第 期 330 件	第 期 659 件
	第 期 218 件	第 期 51 件	第 期 249 件	第 期 518 件

(2) 特許等出願件数

第 期 0 件 (うち国内 0 件、国外 0 件)
 第 期 8 件 (うち国内 8 件、国外 0 件) 【準備中: 4 件】
 合計 0 件 (うち国内 0 件、国外 0 件)

(3) 受賞等

第 期 なし
 第 期 なし

(4) 主な原著論文による発表の内訳

* 発表者氏名, 「発表題目」, 文献名, 巻(号), 頁, (掲載年) の順

国内誌 (国内英文誌を含む)

1. 横山和尚: 「アンチセンス法による遺伝子情報ノックアウト戦略法」 「遺伝子治療開発研究ハンドブック」, 日本遺伝子治療学会編, pp.584-595 (1999).
2. 濱田洋文: 「レトロウイルスベクター」 「遺伝子治療開発研究ハンドブック」, 日本遺伝子治療学会編, pp.332-340 (1999).
3. 卜部匡司, 小澤敬也: 「AAV の増殖サイクル」 「遺伝子治療開発研究ハンドブック」, 日本遺伝子治療学会編, pp.369-373 (1999).
4. 三宅弘一, 島田隆: 「HIV ベクター」 「遺伝子治療開発研究ハンドブック」, 日本遺伝子治療学会編, pp.404-409 (1999).
5. 横山和尚: 「遺伝子治療の分子生物学」 細胞工学、秀潤社、**20**, 1210-1214 (2001).
6. 村田武英、鶴飼英世、鈴木恵理香、横山和尚: 「組換えアデノウイルスの安全性」 細胞工学、秀潤社、**20**, 1250-1254 (2001).
7. Ugai, H., Watanabe, S., Suzuki, E., Tsutsui-Nakata, H., Yokoyama, K. and Mutrata, T.: Stability of a recombinant adenoviral vector: Optimization of conditions for storage, transport and delivery. **Jpn. J. Cancer Res.** **93**, 598-603 (2002).
8. 横山和尚、鶴飼英世、村田武英: 「アデノウイルス」 「新世紀の感染症学」 日本臨床社 **61**, 601-607 (2003).
9. 横山和尚、鶴飼英世、村田武英: 「組換えウイルスの高度利用と組換えウイルス・コアバンクの基盤化」 細胞工学、秀潤社、**22**, 448-454 (2003).

国外誌

1. Kawasaki, H., Eckner, R., Yao, T-P., Taira, K., Chiu, R., Livingston, D. M., and Yokoyama, K.: Distinct roles of the co-activators p300 and CBP in retinoic acid-induced F9 cells differentiation. **Nature (London)** **393**, 284-289 (1998).
2. Kawasaki, H., Schiltz, L., Chiu, R., Itakura, K., Taira, K., Nakatani, Y., and Yokoyama, K.: ATF-2 has intrinsic histone acetyltransferase activity which is modulated by phosphorylation. **Nature (London)** **405**, 195-200 (2000).
3. Fukuda, K., Abei, M., Ugai, H., Seo, E., Murata, T., Todoroki, T., Tanaka, N., Hamada, H. and Yokoyama, K.: E1A, E1B double-restricted adenovirus as tumor-selective replacing agent for oncolytic gene therapy of gallbladder cancer. **Cancer Research** **63**, 4434-4440 (2003).
4. Tsuda, H., Wada, T., Ito, Y., Uchida, H., Dehari, H., Nakamura, K., Sakaki, K., Kobune, M., Yamashita, T. and Hamada, H.: Efficient BMP 2 gene transfer and bone formation of mesenchymal stem cells by a fiber mutant adenoviral vector. **Mol. Ther.** **7**, 354-365 (2003).
5. Kawade, T., Nakazawa, M.,and Ozawa, K.: Rescue of hereditary form of dilated cardiomyopathy by rAA-mediated somatic gene therapy: A melioration of muphological findings, sarcolemmal permeability, cardiac performances and the prognosis of TO-2 hamsters. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **99**, 901-906 (2002).
6. Takahashi, H., Hirai, Y.,and Shimada, T.: Long-term systemic therapy of Fabry disease in a knockout mouse by adeno-associated virus-mediated muscle-directed gene transfer. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **99**, 13777-13782 (2002).
7. Tanaka, Y., Hanada, K.,and Gojobori, T.: A comparison of the molecular clock of hepatitis C virus in the United State and Japan predicts that hepatocellular carcinoma incidence in the United States will increase over the next two decades. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **99**, 15584-15589 (2002).

(5)主要雑誌への研究成果発表

Journal	Impact Factor	サブテーマ1		サブテーマ2		サブテーマ3		サブテーマ4		合計	
		前	後	前	後	前	後	前	後	前	後
Nature	27.955	2								55.910	
Gene & Dev.	20.880	1								20.880	
Molecular Cell	16.611		1								16.611
J. Cell Biol.	12.915		1								12.915
Proc. Natl. Acad. Sci. USA	10.896				3	1	1			10.896	43.584
Amer. J. Human Genet.	10.842				1						10.842
Mol. Cell. Biol.	9.836	1	2							9.836	19.672
Blood	9.273			2					1		18.546
Cancer Res.	8.302	1	2	3	6					33.208	66.416
J. Neuroscience	8.178				1						8.178
Hepatology	8.062	1									8.062
J. Biol. Chem.	7.258	5	5							36.290	36.290
J. Immunol.	7.065				1						7.065
Oncogene	6.737		1	1	2					6.737	20.211
Nuc. Acids Res.	6.373	1	4							6.373	25.492
J. Bone Miner. Res.	6.230				3						18.690
EMBO reports	6.046				1						6.046
Gene Ther.	5.893				6						35.358
Human. Gene Ther.	5.751			6	7					34.506	40.257
Mol. Ther.	5.640				2						11.280
J. Virol	5.622			3	3	1	1			22.488	22.488
Dev. Biol.	5.558		2								11.116
Mol. Biol. Evol	5.357						1				5.357
Neurology	5.212		1								5.212
Clinical. Cancer Res.	5.076				2						10.152
Eur. J. Immunol.	4.990			2						9.980	
J. Gene Med.	4.835				6						29.010
J. of Neurochemistry	4.834		1		1						9.668
Cardiovasc. Res.	4.552				1						4.552
J. Leukocyte Biol.	4.516								1		4.516
Biochem. J.	4.326		1								4.326
Int. J. Cancer	4.233				3						12.699
Virology	4.074			1	1	1	2			8.148	12.222
J. Mol. Evol.	4.011					1	2			4.011	8.022
Br. J. Cancer	3.942				1						3.942
Cancer	3.909				1						3.909
FEBS Letters	3.644	1	6		1	1	2		1	7.286	36.440
Genomics	3.418	1				1				6.836	
Bioinformatics	3.421						1				3.421
J. Mol. Med.	3.413	1								3.413	
EXP. Hematol.	3.328				1						3.328
J. of General Virology	3.248			2			2			6.496	6.496
Gene	3.041		1				2				9.123
B. B. A	3.000		1			1			1	3.000	6.000
B. B. R. C.	2.946	2	5	1	9				1	8.838	44.190
Eur. J. of Biochemistry	2.849	1	5							2.849	14.245
Neuro Surgery	2.783				2						5.566
Cancer Gene Ther.	2.756				6						16.536
J. Histochem. & Cytochem.	2.718		2								5.436
Clin. Exp. Immunol	2.716			1			1			2.716	2.716
J. Neurovirology	2.701						1				2.701
Cell. Immunol.	2.604								1		2.604
Methods	2.363				1						2.363
Int. J. Oncol	2.330				3						6.990
J. Cancer Res Clin. Oncol.	2.194				2						4.388
J. Rheumatol.	2.172				1						2.172
Cell & Mol. Neurobiology	2.102		1								2.102
Neuroscience letters	2.021		1								2.021
Anal. Chem.	2.019		1								2.019
Jpn. J. Can. Res.	2.005		2		6						16.040