

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06642

研究課題名（和文）膜蛋白質の発現制御を標的とするKSHV分子海賊機構

研究課題名（英文）Dysregulation of membrane protein expression by molecular piracy of Kaposi Sarcoma-Associated Herpesvirus

研究代表者

藤室 雅弘 (fujimuro, masahiro)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：20360927

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)は感染者の免疫不全時にカポジ肉腫やB細胞性リンパ腫(PEL)を引き起こす。KSHVは、宿主細胞のシグナル伝達や細胞機能を利用または破綻させることで、がん化や感染維持を行なう。本研究では、KSHV感染は感染細胞の膜蛋白質Xの発現低下と膜蛋白質Yの発現上昇を誘導することとそれらの分子機構について幾つかの知見を得た。また、KSHVのウイルスキャプシドの形成機構と、後期遺伝子発現機構を明らかにし、論文として発表した。また、PELを標的とした抗腫瘍薬スクリーニングも実施し、ニゲリシンやカプサイシンがPEL細胞にアポトーシスを誘導することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

KSHVは健常者に感染すると深刻な疾患を起こさずにそのまま宿主に潜伏感染する。しかし、感染者の免疫不全時にKSHVはカポジ肉腫やリンパ腫(PEL)を引き起こす。KSHVの潜伏感染者の割合はアフリカでは90%以上で、日本では5-1%程度と報告されている。KSHV関連疾患のPELに関してはCHOP療法が用いられているが、有意な治療法効果は得られないことが報告されている。さらに、アシクロビルやガンシクロビルはKSHVには無効であることが知られている。よって、有効な抗KSHV薬の開発が期待されている。以上の理由により、KSHVの基礎研究とそのデータを基にした創薬研究は社会的意義を有していると言える。

研究成果の概要（英文）：Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV), also known as human herpesvirus 8 or HHV-8, was discovered as the 8th human herpesvirus. KSHV is the etiologic agent of Kaposi's sarcoma, Castleman's disease, and primary effusion lymphoma (PEL). We have demonstrated that KSHV downregulated cellular membrane proteins (X and Y) and the underlying molecular mechanism involved. In addition, we analyzed the mechanisms of KSHV capsid formation relating with ORF17 and KSHV lytic gene expression through the vPIC (Viral Pre-Initiation Complex) including ORF66. We obtained several novel and interesting data, and those data were reported by scientific papers. Furthermore, drug screening was performed, and we found that capsaicin, a pungent component of chili pepper, and arctigenin, a natural lignan compound found in plants of *Arctium lappa*, are the novel and effective drugs against PEL.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ヘルペスウイルス カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス ユビキチン プロテアソーム 遺伝子発現 シグナル伝達 ウイルス発がん タンパク質分解

## 1. 研究開始当初の背景

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)は、8番目のヒト・ヘルペスウイルスとして同定されたことからヒト・ヘルペスウイルス 8型(HHV-8)とも呼ばれる。KSHVは、エイズ発症者などの免疫不全患者にカポジ肉腫や原発性体腔液性リンパ腫(B細胞性リンパ腫の一種)を引き起こす。KSHVの潜伏感染者の割合は、アフリカでは50%以上で、イタリアと北米では10%程度、日本国内では4%以下と報告されている。KSHVの伝播経路は、唾液や粘膜分泌液を介した経口感染と性交渉等による接触感染が多い。

EBVと同じヘルペスウイルス亜科のKSHVはB細胞と血管内皮細胞に潜伏感染する。KSHVはインテグリン 3 1 やシスチン・トランスポーター(xCT)をレセプターとして宿主に吸着すると言われている。KSHVは侵入すると脱殻してエピゾームDNAとして細胞核内で潜伏感染し、少数の潜伏感染遺伝子を発現する。その1つ、LANA(Latency-associated nuclear antigen)/ORF73はKSHVのエピゾームの安定化に必須であり、またKSHV関連腫瘍で最も多く発現するウイルス蛋白質である。LANAはKSHVのエピゾーム維持の他に、発がんに関連した活性も有している。LANAは細胞内のpRb、p53、GSK-3と結合して、細胞増殖の亢進、アポトーシス阻害、Wntシグナル活性化など発がんに関連した機能も発揮する。また、ごく一部のKSHV潜伏感染細胞では、ウイルス再活性化により溶解感染に移行し、ウイルス複製を開始する。なお、KSHVの再活性化にはKSHVの前初期遺伝子である転写スイッチ分子RTA/ORF50の発現が必要である。

KSHV関連疾患に関して、KSに対してはドキシルが有効な治療薬として用いられている。一方、PELに関してはCHOP療法やリツキシマブが用いられているが、これらは有効な治療法とは言い難い。ヒトに感染するヘルペスウイルスは現在8種類同定され、全てのヘルペスは感染者の免疫不全により日和見感染症を誘発する。臨床で用いられているアシクロビルやガンシクロビルはヘルペスウイルス亜科(KSHVとEBウイルス)以外のヘルペスウイルスに対して、高い選択性を示す。しかし、有効な治療薬が開発されていないKSHV感染症は、特に深刻な問題であり、有効な抗KSHV薬の開発が期待されている。

我々は、KSHVが発現するLANAによる宿主Wntシグナル活性化によるがん化機構を明らかにしてきた。LANAは-カテニンのリン酸化酵素であるGSK3を核内で拘束し、-カテニンのリン酸化とそれに続くポリユビキチン化とプロテアソームによる分解を阻害する。その結果、安定化した-カテニンは核移行しTCFと2量体を形成して、CyclinDやMycの転写を活性化する。GSK3は主に細胞質に局在し、細胞周期のS期に核移行し、S期終了後に細胞質に再局在する。この様な、ウイルス性蛋白質による細胞機能の乗っ取り行為は海賊行為に例え、Molecular Piracy(分子海賊)と言われ、我々はKSHVの分子海賊による宿主細胞発がんや、ウイルス複製、免疫回避、感染維持の機構を解析している。

## 2. 研究の目的

アフリカを中心に世界中では年間約3000万人がHIVに感染し、400万人がエイズを発症し年間死者は300万人を超えている。その死因の多くはカリニ肺炎やカポジ肉腫などの日和見感染症である。一方、米国、EUを中心とした医療先進国での臓器移植の急激な増加に伴い、KSHV感染ドナーによって提供されるウイルス汚染臓器によるレシピエントの新規感染や免疫抑制剤投薬によるKSHVのカポジ肉腫発症という新たな問題が生じている。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あることがその特徴的な事実を証明している。現代の高度に管理化された医療機関においても、臓器移植や自己免疫疾患、アレルギー治療等で用いられる免疫抑制剤の使用は不可避であり、日和見感染症の原因となるKSHVは深刻な問題である。日本国内においては、臓器移植手術の件数が少なく、また、HIV感染者数も少ないのが現状である。しかし、将来の日本でKSHV感染症が問題視されていく可能性は非常に高いと予想されている。有効な抗KSHV薬開発とウイルス検査により安全保証された臓器移植は日本を含む世界の国々からの社会的要請と言える。

我々は、KSHVは感染細胞内の膜蛋白質Xの発現低下と膜蛋白質Yの発現上昇を見出している。そこで、それらの分子機構の解明を目指して研究を実施した。さらに、KSHVの溶解感染期におけるウイルスキャプシドの形成機構と、vPIC(Viral Pre-Initiation Complex)が関与する後期遺伝子発現機構について、それらの解明を目指して研究を実施した。また、申請者はこれらの基礎研究で得られた知見を活かして、KSHV関連疾患のPELを標的とした抗腫瘍薬と抗ウイルス薬の開発を目指した創薬研究も実施し、有効な抗KSHV化合物とKSHV関連疾患治療薬を創り出すことが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

### (1) 遺伝子組換え KSHV の作製

米国カルフォルニア州立大学の Jae U Jung 博士の研究室で開発された BAC-KSHV16(BAC-16)を用いて遺伝子改変 KSHV を作製した。この BAC-KSHV は KSHV の全ゲノムに複製開始点と GFP 遺伝

子、薬物耐性遺伝子が導入され、大腸菌での大量調製が可能なプラスミド様 KSHV ゲノムである。BAC-KSHV を用いて 2 回連続して相同性組換えを大腸菌体内で起こすことで、任意の ORF に DNA 変異を導入できる。さらに、BAC-KSHV を培養細胞にトランスフェクションすれば KSHV 感染細胞も調製できるという強力なウイルス解析ツールである。(詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (2) プラスミド DNA と遺伝子導入

リン酸カルシウム法、または PEI (polyethyleneimine) を用いてプラスミド DNA を細胞に遺伝子導入した。プラスミド DNA に挿入する任意の cDNA は HeLa または BCBL1 細胞から抽出したゲノム DNA を鋳型に、KOD FX neo を用いて PCR 法にて増幅した。増幅した PCR 産物は各種制限酵素サイトを利用して、N 末端側に Flag-, T7-, S-tag を付加された形でタンパク質が発現するように、pCIneo にクローニングした。作製したプラスミドはシーケンス解析を行い、変異がないことを確認した。また、一部のプラスミドは Addgene 社から購入した。(詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (3) 免疫沈降法による相互作用解析

細胞を冷却した PBS で洗浄した後、IP buffer [10 mM NEM、100  $\mu$ M PMSF、および 1 mM DTT を含む] で細胞を懸濁し、超音波破碎した。得られた細胞破碎液から 15000 rpm、4、10 分間遠心することで不溶性画分を除去し、上清を回収した。1 サンプルあたり、ビーズボリューム 10  $\mu$ L の Protein A/G PLUS-Agarose を IP buffer で洗浄した後、抗体 1  $\mu$ g を加え抗体をビーズに結合させた。なお、S-protein agarose beads、T7-Tag Antibody agarose、および Anti-FLAG M2 affinity gel を用いて免疫沈降する際は、上述の操作は省略した。細胞破碎液から得た上清と調製したビーズを混合し、4 で 2 時間震盪した後、IP buffer で洗浄することで、目的タンパク質を精製した。このサンプルをウェスタンブロット法を用いて解析した。(詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (4) プロモーター・ルシフェラーゼ・レポーター解析

ルシフェラーゼレポータープラスミド DNA と、内部標準として pSV-beta-Gal プラスミド DNA (Promega 社から購入) を用いて、実験を行った。リン酸カルシウム法により、各レポータープラスミド DNA を遺伝子導入した細胞を passive lysis buffer を加え、室温で 30 分間反応させることで、細胞抽出液を調製した。この細胞抽出液に対して、ルシフェリン基質溶液を加え混合した後、ホタル・ルシフェラーゼの発光を測定した。次に、細胞数と遺伝子導入効率の差異により生じるサンプル間の誤差を補正するため、ONPG を基質に用いた beta-ガラクトシダーゼの酵素活性を測定した。各サンプルのホタル・ルシフェラーゼの発光強度値を吸光測定値で割ることで、補正したレポーター活性値を算出した。(詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (5) Real-time RT-PCR 法による遺伝子発現解析

細胞からの RNA 抽出は phenol 含有 RNA 抽出試薬 RNAiso Plus を、逆転写反応による cDNA 合成には ReverTra Ace qPCR RT Kit を使用した。PBS で 1 回洗浄した細胞を RNAiso plus と chloroform に溶解し、得られた RNA ペレットを滅菌水に溶解した。20 ng の RNA を鋳型に ReverTra Ace qPCR RT Kit を用いて、37、30 分間の逆転写反応を行った。合成した cDNA 溶液を鋳型に、各遺伝子特異的プライマーセットを用いて、サンプル中の遺伝子発現量を real-time PCR 法により解析した。Real-time PCR による定量は、THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix を用いて行い、PCR 反応条件は 95、1 分間変性させた後、95、15 秒間の熱変性と 60 で 60 秒間の伸長を 40 サイクル行った。1 サンプルあたりの PCR 反応液組成は以下の通りである。なお、GAPDH を内部標準として用い、各遺伝子の発現量を比較定量法にて算出した。(用いたプライマー配列等の詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (6) PEL を標的とした抗腫瘍化合物と抗 KSHV 化合物の探索:

PEL に対して細胞増殖抑制活性を持つ化合物や KSHV に対してウイルス増殖抑制活性を持つ化合物の探索と作用機序解析を行った。細胞増殖アッセイには、各種化合物存在下 24 時間培養を行い、生存細胞数を測定するため、CK-8 を添加し呈色反応後に 450 nm における吸光度を測定した。

#### (7) KSHV の増殖抑制活性を有する化合物 (抗 KSHV 化合物) の探索

各化合物が KSHV のウイルス増殖抑制活性を有するか否か、リアルタイム PCR を用いたウイルス定量法により解析した。PEL 細胞株 (BCBL1 細胞) を 20 ng/ml の TPA 処理し、溶解感染へと移行させ、培地中に放出されるウイルス DNA 量をリアルタイム PCR により解析した。BC3 細胞に 20 ng/ml の TPA 処理および候補薬物を同時に添加し、培養液を回収した。培養液上清を 5 units の DNase で 37 40 分間処理し、死滅した細胞由来のウイルス DNA を除去した。次に、98 で 7 分間処理し DNase を失活させた。QIAamp DNA Blood Mini Kit を用いて、上清から KSHV 由来の DNA を溶出した。その後、KSHV の ORF50 増幅用のプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い、Melting Curve より、KSHV ウイルス量を算出した。(詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (8) 蛍光抗体免疫染色

PBS にて再懸濁した細胞懸濁液をスライドガラス上に滴下し、室温で乾燥させた後、-20℃ に冷した methanol に 1 時間浸漬することで、細胞を固定した。次に、PBS で希釈した 3% FBS 溶液を細胞接着面に滴下し、ブロッッキングを行った。PBS で洗浄後、200 倍に希釈した一次抗体液を細胞接着部に滴下し、室温で 1 時間反応させた。500 倍希釈した二次抗体と 5000 倍希釈した hoechst を含む溶液を細胞接着面に滴下し、室温で 1 時間、遮光して反応させた。PBS-T で 1 回、PBS で 3 回スライドガラスを洗浄した。その後、細胞接着部に fluoromount-G を滴下し、カバーガラスにて細胞接着部を封入し、共焦点蛍光顕微鏡を使用して観察した。(詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (9) PEL 移植マウスの作製

本実験のプロトコルおよび実施は、京都薬科大学動物実験委員会により承認され、京都薬科大学「動物実験に関する指針」に従って、実行した。5 週齢のメス CB17 SCID マウス (CLEA Japan から購入) に、25G 注射針を装着した 1 mL シリンジを用いて BCBL1 細胞を腹腔内に移植した。移植一週間後から、corn oil で希釈した各化合物を 5 mg/kg body weight となるように、21 日間、腹腔内に隔日投与した。なお、コントロールマウス群は、溶媒である corn oil を同様に投与した。また、薬物投与前にマウス体重を測定した。(詳細は発表した学術論文に記載している)

#### (10) 有意差検定について

有意差検定は、最初に F 検定を行い、分散の検定を行った後、t 検定を行った。p 値が 0.05 未満の場合に、「有意差あり」と評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 膜蛋白質 X と膜蛋白質 Y を標的とした KSHV の分子海賊の解析

KSHV は感染細胞内の膜蛋白質 X の発現低下と膜蛋白質 Y の発現上昇を見出している。そこで、それらの分子機構を解析した。膜蛋白質 X に関しては、その分解機構と遺伝子発現機構が未知だったため、それらを明らかにすることから研究を開始した。その結果、膜蛋白質 X はポリリビキチン依存的に細胞内にクラスリン依存的にサイトシスで内在化し、リソソーム経路で分解されていることを明らかにし、それらの論文発表も行った。また、膜蛋白質 X の発現機構に関しては、転写因子 Z が責任因子であることと、転写因子 Z が結合するプルモーター配列も同定した(論文に投稿済み、リバイス中)。また、KSHV は感染細胞からエキソソームを放出させるが、そのエキソソームに膜蛋白質 X が含まれることで、KSHV は感染細胞内の膜蛋白質 X の発現が低下することを明らかにした(投稿準備中)。膜蛋白質 Y の発現上昇に関しては、KSHV がコードする ORFX が責任因子であることを突き止めたが、その詳細な分子機構は完全には明らかになっておらず、研究を継続中である。

#### (2) ウイルス複製機構の解明

KSHV 後期遺伝子の転写開始には、ウイルス特異的開始前複合体 (vPIC) の複合体形成が必要であると考えられている。KSHV vPIC は、少なくとも 6 つの転写因子 (ORF18、24、30、31、34、66) で構成され、ORF24 は細胞の RNA ポリメラーゼと KSHV 後期遺伝子のプロモーターに結合すると報告されている。我々は、BAC-16 を使用して ORF66 欠損 KSHV を作製し、ウイルス複製中のその役割を評価した。その結果、ORF66 は後期遺伝子発現とウイルス生産に不可欠で、ORF66 分子内の高度に保存された 3 つの C-X-X-C 配列とロイシンリピートが、ORF34 との相互作用およびウイルス産生に不可欠であること見出し、専門誌に発表した。

次に、ウイルスプロテアーゼ前駆体 (ORF17) によるウイルス粒子の形成 (カプシド形成) について解析を行った。ORF17 欠損および ORF17 プロテアーゼ活性欠失 KSHV-BAC16 を作製し、カプシド形成を評価した。その結果、両方の突然変異体は、ウイルス生産の減少を示しましたが、DNA 複製は減少しなかった。そのことから、ORF17 とそのプロテアーゼ機能は、適切なカプシド成熟に不可欠であることが明らかになり、その成果は論文で発表した。

#### (3) ユビキチン様タンパク質 FAT10 化修飾に対する分子海賊機構の解析

LC-MS/MS を使用して潜伏感染と溶解感染中のタンパク質発現動態を比較することにより、KSHV 溶解複製に関与する新しいキー分子の特定を行い、FAT10 と UBE1L2 が溶解期に発現が上昇することを明らかにした。FAT10 は UBL (Ubiquitin like protein) ファミリーの一種であり、UBE1L2 は FAT10 化の最初のステップに不可欠な FAT10 活性化酵素 (E1) である。UBE1L2 および FAT10 に加えて、FAT10 化タンパク質は溶解誘導直後に発現し、溶解複製中に経時的に増加した。CRISPR/Cas9 を介した UBE1L2 のノックアウトは、ウイルスの生成を抑制した。さらに、KSHV でエンコードされた ORF59 と ORF61 を FAT10 化のウイルス基質として同定した。これらにより、KSHV 溶解複製における UBE1L2-FAT10 システムの重要性が示され、研究成果は論文に発表した。

#### (4) KSHV 関連疾患治療薬 (PEL を標的とした抗腫瘍化合物) の探索

我々は、唐辛子の辛味成分であるカプサイシンが PEL 細胞で産生される IL-6 の発現を阻害

することにより、PEL 細胞の増殖を阻害することを明らかにした。カプサイシンは、PEL 細胞内の ERK および p38 MAPK のリン酸化を抑制し、それらシグナル伝達抑制による hIL-6 産生の阻害がカプサイシンの作用機序であることを見出した。

次に、我々はゴボウ植物ゴボウ (*Arctium lappa*) の抽出物由来アルクチゲニン、グルコース欠乏下で PEL 細胞の増殖を阻害することを明らかにした。アルクチゲニンは、グルコース飢餓状態の PEL 細胞において、ATP レベルの低下、ミトコンドリア膜の障害、およびカスパーゼ 9 の活性化を介したアポトーシスを誘導した。さらに、アルクチゲニンは、GRP78 および ATF6 を含む、小胞体ストレス応答 (UPR) 関連分子の発現を阻害した。アルクチゲニンのこれらの表現型は、グルコース飢餓 PEL 細胞で細胞傷害性エフェクターとして機能すると考えられた。

カプサイシンとアルクチゲニンが KSHV 非感染 B 細胞には影響を与えず、KSHV 感染特異的に PEL にアポトーシスを誘導したことからこれらの化合物が PEL 治療の新規シード化合物になる可能性が示され、それらの成果は論文に発表した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Sugimoto A, Abe Y, Watanabe T, Hosokawa K, Adachi J, Tomonaga T, Iwatani Y, Murata T, Fujimuro M	4. 巻 95
2. 論文標題 The FAT10 post-translational modification is involved in the lytic replication of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Virology	6. 最初と最後の頁 e02194-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.02194-20.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tsurumi S, Watanabe T, Iwaisako Y, Suzuki Y, Nakano T, Fujimuro M	4. 巻 558
2. 論文標題 Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ORF17 plays a key role in capsid maturation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virology	6. 最初と最後の頁 76-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virol.2021.02.009.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishimaru H, Hosokawa K, Sugimoto A, Tanaka R, Watanabe T, Fujimuro M	4. 巻 10
2. 論文標題 MG132 exerts anti-viral activity against HSV-1 by overcoming virus-mediated suppression of the ERK signaling pathway.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 6671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-63438-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Watanabe T, Nishimura M, Izumi T, Kuriyama K, Iwaisako Y, Hosokawa K, Takaori-Kondo A, Fujimuro M	4. 巻 94
2. 論文標題 Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ORF66 is essential for late gene expression and virus production via interaction with ORF34.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Virology	6. 最初と最後の頁 e01300-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01300-19.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K Hosokawa, H Ishimaru, T Watanabe, M Fujimuro.	4. 巻 43
2. 論文標題 The lysosome pathway degrades CD81 on the cell surface by poly-ubiquitination and clathrin-mediated endocytosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bio. Pharm. Biol.	6. 最初と最後の頁 540-545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b19-01097.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishiura Yuki, Ishimaru Hanako, Watanabe T, Fujimuro M	4. 巻 42
2. 論文標題 Sulforaphane exhibits cytotoxic effects against primary effusion lymphoma cells by suppressing p38MAPK and AKT phosphorylation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bio. Pharm. Biol.	6. 最初と最後の頁 2109-2112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b19-00659.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 T Suzuki, Y Wakao, T Watanabe, M Hori, Y Ikeda, H Tsuchiya, K Kogure, M Harada-Shiba, M Fujimuro and Hiroyuki Kamiya	4. 巻 38
2. 論文標題 No enhancing effects of plasmid-specific histone acetyltransferase recruitment system on transgene expression in vivo.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids,	6. 最初と最後の頁 942-949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15257770.2019.1638514.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moriguchi M, Watanabe T, Fujimuro M	4. 巻 42
2. 論文標題 Capsaicin Induces ATF4 Translation with Upregulation of CHOP, GADD34 and PUMA.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bio. Pharm. Biol.	6. 最初と最後の頁 1428-1432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b19-00303.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okano Y, Saito-Tarashima N, Kurosawa M, Iwabu A, Ota M, Watanabe T, Kato F, Hishiki T, Fujimuro M, Minakawa N	4. 巻 27
2. 論文標題 Synthesis and biological evaluation of novel imidazole nucleosides as potential anti-dengue virus agents.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 2181-2186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.04.015.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moriguchi M, Watanabe T, Kadota A, Fujimuro M	4. 巻 9
2. 論文標題 Capsaicin induces apoptosis in KSHV-positive primary effusion lymphoma by suppressing ERK and p38 MAPK signaling and IL-6 expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front in Oncology	6. 最初と最後の頁 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2019.00083.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Moriguchi M, Watanabe T, Fujimuro M	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Capsaicin activates ATF-4 expression and ATF-4 dependent transcription.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bio. Pharm. Biol.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okano Y, Saito-Tarashima N, Kurosawa M, Iwabu A, Ota M, Watanabe T, Kato F, Hishiki T, Fujimuro M, Minakawa N	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Synthesis and biological evaluation of novel imidazole nucleosides as potential anti-dengue virus agents.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.04.015.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Moriguchi M, Watanabe T, Kadota A, Fujimuro M	4. 巻 9
2. 論文標題 Capsaicin induces apoptosis in KSHV-positive primary effusion lymphoma by suppressing ERK and p38 MAPK signaling and IL-6 expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front. in Oncology	6. 最初と最後の頁 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2019.00083.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe T, Sugimoto A, Hosokawa k, Fujimuro M	4. 巻 1045
2. 論文標題 Signal transduction pathways associated with KSHV-related tumors.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Adv. Exp. Med. Biol.	6. 最初と最後の頁 321-355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-10-7230-7_15.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Campbell M, Watanabe T, Nakano K, Davis RR, Lyu Y, Tepper CG, Durbin-Johnson B, Fujimuro M, Izumiya Y	4. 巻 9
2. 論文標題 KSHV episomes reveal dynamic chromatin loop formation with domain specific gene regulation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-02089-9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ogawa K, Nakamura S, Hosokawa K, Ishimaru H, Saito N, Ryu K, Fujimuro M, Nakashima S, Matsuda H	4. 巻 72
2. 論文標題 New diterpenes from Nigella damascena seeds and their antiviral activities against herpes simplex virus type-1.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 439-447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-017-1166-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鶴見さやか, 渡部匡史, 鈴木陽一, 中野隆史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするORF17のプロテアーゼ活性は, ウイルス成熟カプシド形成に必須である
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 祝迫佑紀, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス遺伝子ORF7のウイルス複製時における機能解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 花尻美月, 寺尾友岐, 松本遼太郎, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 KSHV感染はSnailの安定化を介して上皮間葉転換を促進する
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉澤想大, 中村甚弥, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするLANA1はがん遺伝子産物ELLを安定化する
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 門田彩乃, 森口美里, 渡部匡史, 中村茂夫, 安野拓美, 大江知之, 増野匡彦, 藤室 雅弘
2. 発表標題 ビリジニウム型フラレン誘導体のウイルス感染リンパ腫に対する抗腫瘍活性
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルス遺伝子ORF66は、ウイルス性転写開始前複合体因子として機能する
3. 学会等名 第60回日本臨床ウイルス学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中美和, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスのコードするウイルス性プロテアーゼ ORF17 はウイルス産生に必須である
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鶴見さやか, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするORF28の機能解析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大川浩史, 石田真紗子, 細川晃平, 渡部匡史, 上田啓次, 藤室雅弘
2. 発表標題 B型肝炎ウイルス由来ウイルス様粒子 (HBV-VLP) の精製法の確立
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tadashi Watanabe, Mayu Nishimura, Kazushi Kuriyama, Aya Hashimoto, Kouhei Hosokawa, Mel Campbell, Ryan Davis, Clifford G. Tepper, Yoshihiro Izumiya, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus ORF66 is Essential for Virus Production and Late Gene Expression
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉本温子, 渡部匡史, 阿部雄一, 足立淳, 藤室雅弘
2. 発表標題 溶解感染におけるユビキチン様タンパクFAT10関連タンパクの機能解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都薬科大学 細胞生物学分野  
<http://labo.kyoto-phu.ac.jp/cellbiology/>  
 細胞生物学分野  
<http://labo.kyoto-phu.ac.jp/cellbiology/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------