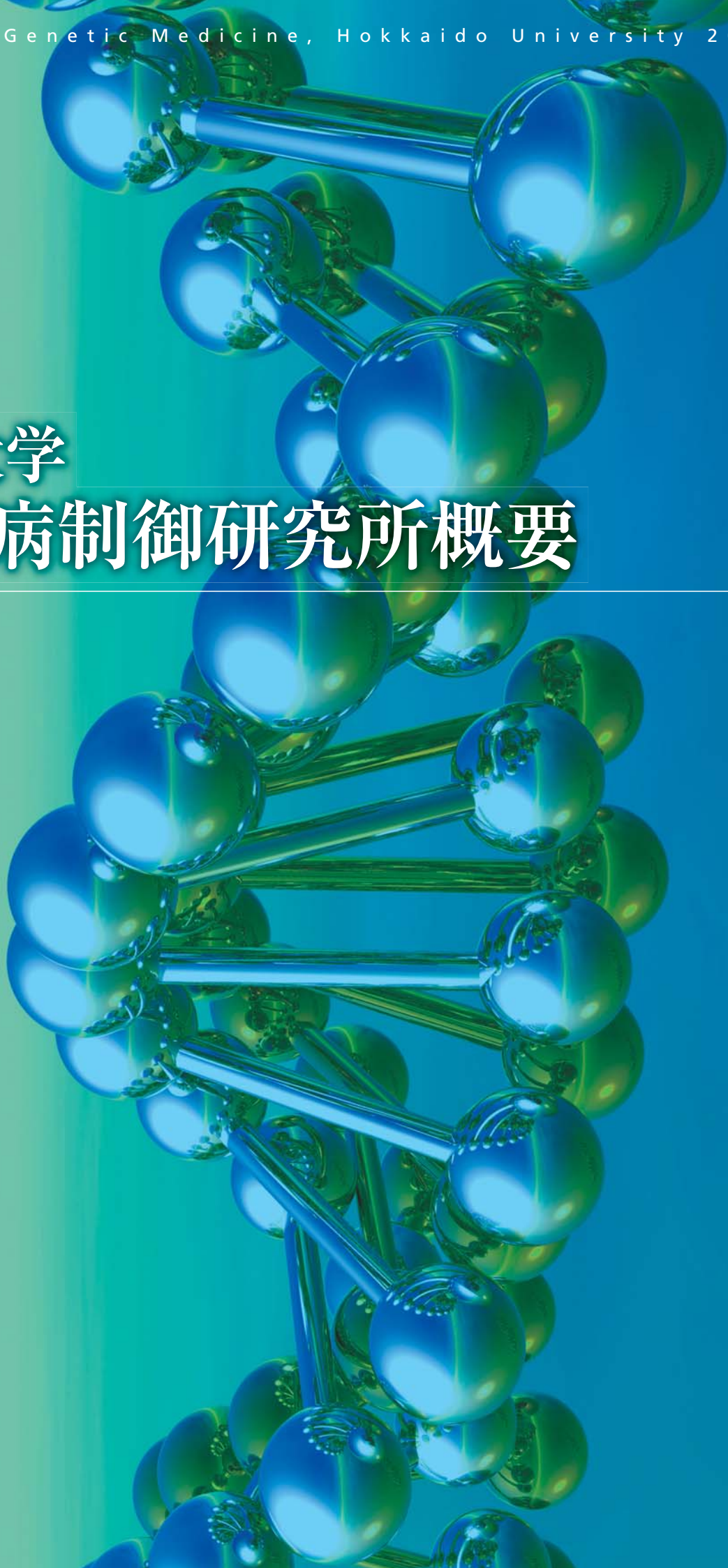


北海道大学 遺伝子病制御研究所概要

【平成20年】



● 目的と使命	
Aim and Mission	1
● 沿革	
History	2
● 歴代所長・施設長及び名誉教授	
Chronological List of Director and Professor Emeritus	4
● 機構	
Organization	6
● 職員・学生	
Staff and Student	8
● 研究活動	
Research Activities	
病因研究部門	
Research Section of Molecular Pathogenesis	
癌ウイルス分野 Division of Tumor Virology	10
癌関連遺伝子分野 Division of Cancer Related Genes	12
分子生体防御分野 Division of Signaling in Cancer and Immunology	14
分子免疫分野 Division of Molecular Immunology	16
病態研究部門	
Research Section of Pathophysiology	
癌生物分野 Division of Cancer Biology	18
感染病態分野 Division of Molecular Virology	20
分子腫瘍分野 Division of Molecular Oncology	22
免疫生物分野 Division of Immunobiology	24
疾患制御研究部門	
Research Section of Disease Control	
疾患モデル創成分野 Division of Disease Model Innovation	26
免疫制御分野 Division of Immunoregulation	28
分子間情報分野 Division of Molecular Interaction	30
附属施設	
Attached Facility	
動物実験施設 Laboratory of Animal Experiment	32
感染癌研究センター Center for Infection-associated Cancer	34
寄附研究部門	
Endowed Department	
マトリックスメディスン研究部門 Department of Matrix Medicine	36
ROYCE' 健康バイオ研究部門 Department of ROYCE' Health Bioscience	38
● 教育活動	
Education Activities	40
● 代表論文	
Selected Paper	41
● 北海道大学配置図	
Campus Map of Hokkaido University	

目次

Contents

目的と使命



所長
上出 利光



副所長
田中 一馬

北海道大学遺伝子病制御研究所は、50数年の歴史を有する北海道大学結核研究所を前身とする免疫科学研究所と40数年の歴史を有する医学部附属癌研究施設を統合し、「ヒトの遺伝子病の病因、病態解明とその予防、治療法の開発」を目的として2000年4月に発足しました。

研究組織は、病因研究部門、病態研究部門、疾患制御研究部門の3大部門11研究分野と動物実験施設、感染癌研究センターの2附属施設で構成されています。感染癌研究センターは、外国人研究員を特任教授あるいは准教授として招聘し、海外の研究拠点との積極的な人的交流や共同研究を推進する役目を担っています。

当研究所は、医学研究科、理学研究科、生命科学院、獣医学研究科の協力講座として、常時100名を超える大学院生や留学生を受け入れています。極めて多様なバックグラウンドを有する学生が、学際的、国際的な環境の下、切磋琢磨しています。癌、免疫疾患、感染症、生活習慣病等を研究対象として総勢150名を超える基礎研究者が集うこの研究所は、東日本最大の生命医学研究の研究拠点の1つであり、2008年からスタートした医学系Global-COEプログラムである「人獣共通感染症国際共同教育研究拠点の創成」に3名の事業推進担当者を送り出しています。

2004年には大学が法人化され、大学の使命としてこれまで以上に「研究成果の社会への還元」「大学の社会への関り」が強く求められるようになってきました。当研究所は、企業からの寄付による寄付研究部門の設置、あるいは教員の研究成果を下にベンチャー企業の設立と社会のニーズに対応する活動を積極的に進めてきました。しかしながら、大学附置研究所の果たす役割は、教員が先頭に立って、時流に流されない、独創的、個性的な基礎研究を、長期的視野に立って粘り強く勧めていくことであると信じています。同時に、このような環境下で、世界の第一線で活躍する、高い倫理観に裏打ちされた、若手研究者を育成し、社会へ送り出していこうと考えています。

平成20年7月

北海道大学遺伝子病制御研究所長 上出 利光

Aim and Mission

The Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University was established in April 2000 by unifying two mother facilities into a middle-sized research organization for human life science; one, the Institute of Immunological Science with fifty some years' history and the Cancer Institute, School of Medicine with forty some years' history. The aim and mission of this Institute is to conduct basic research for better understanding and elucidating the molecular basis of various disorders including cancer, immune diseases, infectious diseases, neurological disorders and cardiovascular diseases, and provide means for diagnosis and therapeutics for those diseases. In July 1, 2008 a new research center, a center for infection-associated cancer was established. This new research center hopefully serves as a world leading research center in the area of infection-associated cancer, which allows us to interact with not only domestic, but also overseas scientists. There are over 34 faculty members with close to 100 graduate students and post-doctoral research fellows. Our faculty members are appointed as teaching stuff at Graduate School of Medicine, Graduate School of Science, Graduate School of Veterinary Medicine, and Graduate School of Life Science. Our faculty members have been actively involved in a Global-COE (center of excellence) program in the field of Medical Science since 2008. Nevertheless, this Institute attracts not only domestic, but also overseas students and research fellows. More importantly, our faculty members and students are quite heterogeneous in their scientific background. Thus our Institute allows us to put and mix them together under the New Frontier Spirit of Hokkaido University and right environment. Hopefully, we will be able to assist them to become not only very competitive and independent scientists but also individuals with high morals and to assist them to depart for international scientific communities.

2008.7

Director, Institute for Genetic Medicine,
Hokkaido University
Toshimitsu Ueda, M.D., Ph.D.

沿革

〔免疫科学研究所〕

- 昭和16. 2. 財団法人北方結核研究会が設置された。
- 昭和20. 8. 1 北方結核研究会に北方結核研究所が設置された。
- 昭和25. 4. 1 北方結核研究会北方結核研究所は文部省に移管され、北海道大学結核研究所が設置された。研究部門として予防部門、細菌部門が設置された。
- 昭和26. 3.15 結核研究所に北方結核研究会から北方結核研究所建物（1,935m²）の寄付を受けた。
- 昭和26. 4. 1 結核研究所に化学部門、病理部門が設置された。
- 昭和28. 4. 1 結核研究所に診療部門（内部措置）が設置された。
- 昭和29. 2.20 結核研究所は定期刊行誌「結核の研究」第1集を発行した。
- 昭和43.11.30 結核研究所は医学部北研究棟（4階、5階）に移転した。
- 昭和44. 4. 1 結核研究所に生化学部門が設置された。
- 昭和49. 6. 7 北海道大学結核研究所は北海道大学免疫科学研究所に改組された。免疫科学研究所の研究部門として細菌感染部門、血清学部門、化学部門、病理部門、生化学部門が設置された。
- 昭和50. 1.28 免疫科学研究所は定期刊行誌の名称を「北海道大学免疫科学研究所紀要」に改めた。
- 昭和51. 5.10 免疫科学研究所に附属免疫動物実験施設が設置された。
- 昭和55. 3.29 免疫科学研究所は定期刊行誌の名称を「Collected Papers from the Institute of Immunological Science, Hokkaido University」に改め、第1号を発行した。
- 昭和55. 4. 1 免疫科学研究所に細胞免疫部門（時限10年）が設置された。
- 平成 2. 3.31 免疫科学研究所の細胞免疫部門が廃止された。
- 平成 2. 6. 8 免疫科学研究所に免疫病態部門（時限10年）が設置された。

〔医学部附属癌研究施設〕

- 昭和37. 4. 1 医学部附属癌免疫病理研究施設が設置された。癌免疫病理研究施設に病理部門が設置された。

History

Institute of Immunological Science

1941. 2 Founded, Hoppou Foundation for Tuberculosis Research
1945. 8 Founded, Research Institute for Tuberculosis in Hoppou Foundation for Tuberculosis Research
1950. 4 Founded, Research Institute for Tuberculosis, Hokkaido University. Established, Research Section of Prophylaxis and Research Section of Bacteriology
1951. 3 Donated, Building of Research Institute for Tuberculosis (1,935m²) from Hoppou Foundation for Tuberculosis Research
1951. 4 Established, Research Section of Chemistry and Research Section of Pathology in Research Institute for Tuberculosis
1953. 4 Established, Clinical Section in Research Institute for Tuberculosis
1954. 2 Started publishing periodically “Tuberculosis Research”
- 1968.11 Research Institute for Tuberculosis, Moved to North Building, Hokkaido University School of Medicine
1969. 4 Established, Research Section of Biochemistry in Research Institute for Tuberculosis, Hokkaido University
1974. 6 Research Institute for Tuberculosis, reorganized and Renamed, Institute of Immunological Science, Hokkaido University. Established, Research Section of Bacterial Infection, Research Section of Serology, Research Section of Chemistry, Research Section of Pathology and Research Section of Biochemistry in the Institute of Immunological Science
1975. 1 Started publishing periodically “Bulletin of the Institute of Immunological Science, Hokkaido University”
1976. 5 Established, Laboratory of Animal Experiment in Institute of Immunological Science
1980. 3 Started publishing periodically “Collected Papers from the Institute of Immunological Science, Hokkaido University”
1980. 4 Established, Research Section of Cellular Immunology in Institute of Immunological Science, Hokkaido University
1990. 3 Discontinued, Research Section of Cellular Immunology in Institute of Immunological Science, Hokkaido University
1990. 6 Established, Research Section of Immunopathogenesis in the Institute of Immunological Science, Hokkaido University
- ### Cancer Institute, School of Medicine
1962. 4 Founded, Cancer Immunopathology Institute, Hokkaido University School of Medicine, Established, Division of Pathology in the Cancer Immunopathology Institute

昭和42. 4. 1	癌免疫病理研究施設にウイルス部門が設置された。	1967. 4	Established, Division of Virology in Cancer Immunopathology Institute, Hokkaido University School of Medicine
昭和44. 4. 1	医学部附属癌免疫病理研究施設は医学部附属癌研究施設に改称された。	1969. 4	Cancer Immunopathology Institute, Hokkaido University School of Medicine was renamed Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
昭和46. 4. 1	癌研究施設に生化学部門が設置された。	1971. 4	Established, Division of Biochemistry in Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
昭和54. 4. 1	癌研究施設に遺伝部門が設置された。	1979. 4	Established, Division of Genetics in Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
昭和61. 3.31	癌研究施設の遺伝部門が廃止された。	1986. 3	Discontinued, Division of Genetics in Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
昭和61. 4. 1	癌研究施設の分子遺伝部門が設置された。	1986. 4	Established, Division of Molecular Genetics in Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
平成 4. 4.10	癌研究施設に細胞制御部門が設置された。	1992. 4	Established, Division of Cell Biology in Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
平成 8. 3.31	癌研究施設の分子遺伝部門が廃止された。	1996. 3	Discontinued, Division of Molecular Genetics in Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
平成 8. 5.11	癌研究施設に遺伝子制御部門、遺伝子治療開発部門（客員）が設置された。	1996. 5	Established, Division of Gene Regulation and Division of Gene Therapy Development in Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
〔遺伝子病制御研究所〕		Institute for Genetic Medicine	
平成12. 4. 1	医学部附属癌研究施設と免疫科学研究所が改組統合されて、遺伝子病制御研究所が設置された。	2000. 4	Founded, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University by integrating the Institute of Immunological Science, Hokkaido University and the Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
平成16. 4. 1	寄附研究部門「マトリックスメディスン研究部門」が設置された。	2004. 4	Established, Department of Matrix Medicine as Endowed Department in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University
平成18. 4. 1	寄附研究部門「ROYCE' 健康バイオ研究部門」が設置された。	2006. 4	Established, Division of ROYCE' Health Bioscience as Endowed Department in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University
〔遺伝子病制御研究所〕		Institute for Genetic Medicine	
平成20. 7. 1	附属疾患モデル動物実験施設は、附属動物実験施設に改称された。 附属ウイルスベクター開発センターが廃止された。 附属感染癌研究センターが設置された。	2008. 7	Laboratory of Animal Experiment for Disease Model was renamed Laboratory of Animal Experiment Discontinued, Center for Virus Vector Development Established, Center for Infection-associated Cancer

歴代所長・施設長 及び名誉教授

結核研究所歴代所長

初代	安田 守雄	昭和25. 4. 1	～昭和28. 3. 31
2代	高橋 義夫	昭和28. 4. 1	～昭和43. 3. 31
3代	柿本 七郎	昭和43. 4. 1	～昭和46. 3. 31
4代	高橋 義夫	昭和46. 4. 1	～昭和49. 3. 31

免疫科学研究所歴代所長

初代	大原 達	昭和49. 4. 1	～昭和54. 4. 1
2代	森川 和雄	昭和54. 4. 2	～昭和60. 3. 31
3代	山本 健一	昭和60. 4. 1	～昭和63. 3. 31
4代	東 市郎	昭和63. 4. 1	～平成 6. 3. 31
5代	柿沼 光明	平成 6. 4. 1	～平成 8. 3. 31
6代	小野江和則	平成 8. 4. 1	～平成12. 3. 31

医学部附属免疫病理研究施設長

初代	武田 勝男	昭和37. 4. 1	～昭和40. 3. 31
2代	安倍 三史	昭和40. 4. 1	～昭和42.12.27
3代	小林 博	昭和42.12.28	～昭和44. 3. 31

医学部附属癌研究施設歴代施設長

初代	小林 博	昭和44. 4. 1	～昭和48. 3. 31
2代	大里外誉郎	昭和48. 4. 1	～昭和50. 3. 31
3代	牧田 章	昭和50. 4. 1	～昭和52. 3. 31
4代	小林 博	昭和52. 4. 1	～昭和56. 3. 31
5代	大里外誉郎	昭和56. 4. 1	～昭和60. 3. 31
6代	牧田 章	昭和60. 4. 1	～平成元. 3. 31
7代	大里外誉郎	平成元. 4. 1	～平成 5. 3. 31
8代	葛巻 暹	平成 5. 4. 1	～平成 9. 3. 31
9代	斉藤 政樹	平成 9. 4. 1	～平成 9.10.31
10代	細川眞澄男	平成 9.11. 1	～平成12. 3. 31

遺伝子病制御研究所歴代所長

初代	小野江和則	平成12. 4. 1	～平成14. 3. 31
2代	高田 賢藏	平成14. 4. 1	～平成18. 3. 31
3代	上出 利光	平成18. 4. 1	～

Chronological List of Director and Professor Emeritus

Successive Director of Research Institute for Tuberculosis

Morio YASUDA, M.D.,Ph.D.	1950. 4-1953. 3
Yoshio TAKAHASHI, M.D.,Ph.D.	1953. 4-1968. 3
Shichiro KAKIMOTO, Ph.D.	1968. 4-1971. 3
Yoshio TAKAHASHI, M.D.,Ph.D.	1971. 4-1974. 3

Successive Director of Institute of Immunological Science

Toru OHARA, M.D.,Ph.D.	1974. 4-1979. 4
Kazuo MORIKAWA, M.D.,Ph.D.	1979. 4-1985. 3
Ken-ichi YAMAMOTO, M.D.,Ph.D.	1985. 4-1988. 3
Ichiro AZUMA, Ph.D.	1988. 4-1994. 3
Mitsuaki KAKINUMA, M.D.,Ph.D.	1994. 4-1996. 3
Kazunori ONOÉ, M.D.,Ph.D.	1996. 4-2000. 3

Successive Director of Cancer Immunopathology Institute, School of Medicine

Katsuo TAKEDA, M.D.,Ph.D.	1962. 4-1965. 3
Sanshi ABE, M.D.,Ph.D.	1965. 4-1967.12
Hiroshi KOBAYASHI, M.D.,Ph.D.	1967.12-1969. 3

Successive Director of Cancer Institute, School of Medicine

Hiroshi KOBAYASHI, M.D.,Ph.D.	1969. 4-1973. 3
Toyoro OSATO, M.D.,Ph.D.	1973. 4-1975. 3
Akira MAKITA, M.D.,Ph.D.	1975. 4-1977. 3
Hiroshi KOBAYASHI, M.D.,Ph.D.	1977. 4-1981. 3
Toyoro OSATO, M.D.,Ph.D.	1981. 4-1985. 3
Akira MAKITA, M.D.,Ph.D.	1985. 4-1989. 3
Toyoro OSATO, M.D.,Ph.D.	1989. 4-1993. 3
Noboru KUZUMAKI, M.D.,Ph.D.	1993. 4-1997. 3
Masaki SAITO, M.D.,Ph.D.	1997. 4-1997.10
Masuo HOSOKAWA, M.D.,Ph.D.	1997.11-2000. 3

Successive Director of Institute for Genetic Medicine

Kazunori ONOÉ, M.D.,Ph.D.	2000. 4-2002. 3
Kenzo TAKADA, M.D.,Ph.D.	2002. 4-2006. 3
Toshimitsu UEDE, M.D.,Ph.D.	2006. 4-

免疫科学研究所附属免疫動物実験施設歴代施設長

Successive Director of Laboratory of Animal Experiment, Institute of Immunological Science

初代 森川 和雄 昭和51. 5.10～昭和54. 3.31
 2代 有馬 純 昭和54. 4. 1～昭和56. 3.31
 3代 山本 健一 昭和56. 4. 1～昭和60. 3.31
 4代 東 市郎 昭和60. 4. 1～昭和63. 3.31
 5代 奥山 春枝 昭和63. 4. 1～平成 3. 2.28
 6代 小野江和則 平成 3. 2.28～平成 8. 3.31
 7代 生田 和良 平成 8. 4. 1～平成10.10.31
 8代 上出 利光 平成10.11. 1～平成12. 3.31

Kazuo MORIKAWA, M.D.,Ph.D. 1976. 5-1979. 3
 Jun ARIMA, M.D.,Ph.D. 1979. 4-1981. 3
 Ken-ichi YAMAMOTO, M.D.,Ph.D. 1981. 4-1985. 3
 Ichiro AZUMA, Ph.D. 1985. 4-1988. 3
 Harue OKUYAMA, M.D.,Ph.D. 1988. 4-1991. 2
 Kazunori ONOÉ, M.D.,Ph.D. 1991. 2-1996. 3
 Kazuyoshi IKUTA, M.D.,Ph.D. 1996. 4-1998.10
 Toshimitsu UEDE, M.D.,Ph.D. 1998.11-2000. 3

遺伝子病制御研究所附属動物実験施設歴代施設長

Successive Director of Laboratory of Animal Experiment, Institute for Genetic Medicine

初代 上出 利光 平成12. 4. 1～平成16. 3.31
 2代 菊池九二三 平成16. 4. 1～平成18. 3.31
 3代 畠山 昌則 平成18. 4. 1～平成20. 6.30
 4代 志田 壽利 平成20. 7. 1～

Toshimitsu UEDE, M.D.,Ph.D. 2000. 4-2004. 3
 Kunimi KIKUCHI, D.Med.Sc 2004. 4-2006. 3
 Masanori HATAKEYAMA, M.D.,Ph.D. 2006. 4-2008. 6
 Hisatoshi SHIDA, Ph.D. 2008. 7-

遺伝子病制御研究所附属ウイルスベクター開発センター歴代センター長

Successive Director of Center for Virus Vector Development, Institute for Genetic Medicine

初代 高田 賢藏 平成12. 4. 1～平成14. 3.31
 2代 葛巻 暹 平成14. 4. 1～平成18. 3.31
 3代 志田 壽利 平成18. 4. 1～平成20. 6.30

Kenzo TAKADA, M.D.,Ph.D. 2000. 4-2002. 3
 Noboru KUZUMAKI, M.D.,Ph.D. 2002. 4-2006. 3
 Hisatoshi SHIDA, Ph.D. 2006. 4-2008. 6

遺伝子病制御研究所附属感染症研究センター歴代センター長

Successive Director of Center for Infection-associated cancer, Institute for Genetic Medicine

初代 畠山 昌則 平成20. 7. 1～

Masanori HATAKEYAMA, M.D., Ph.D. 2008. 7-

名 誉 教 授

Professor Emeritus

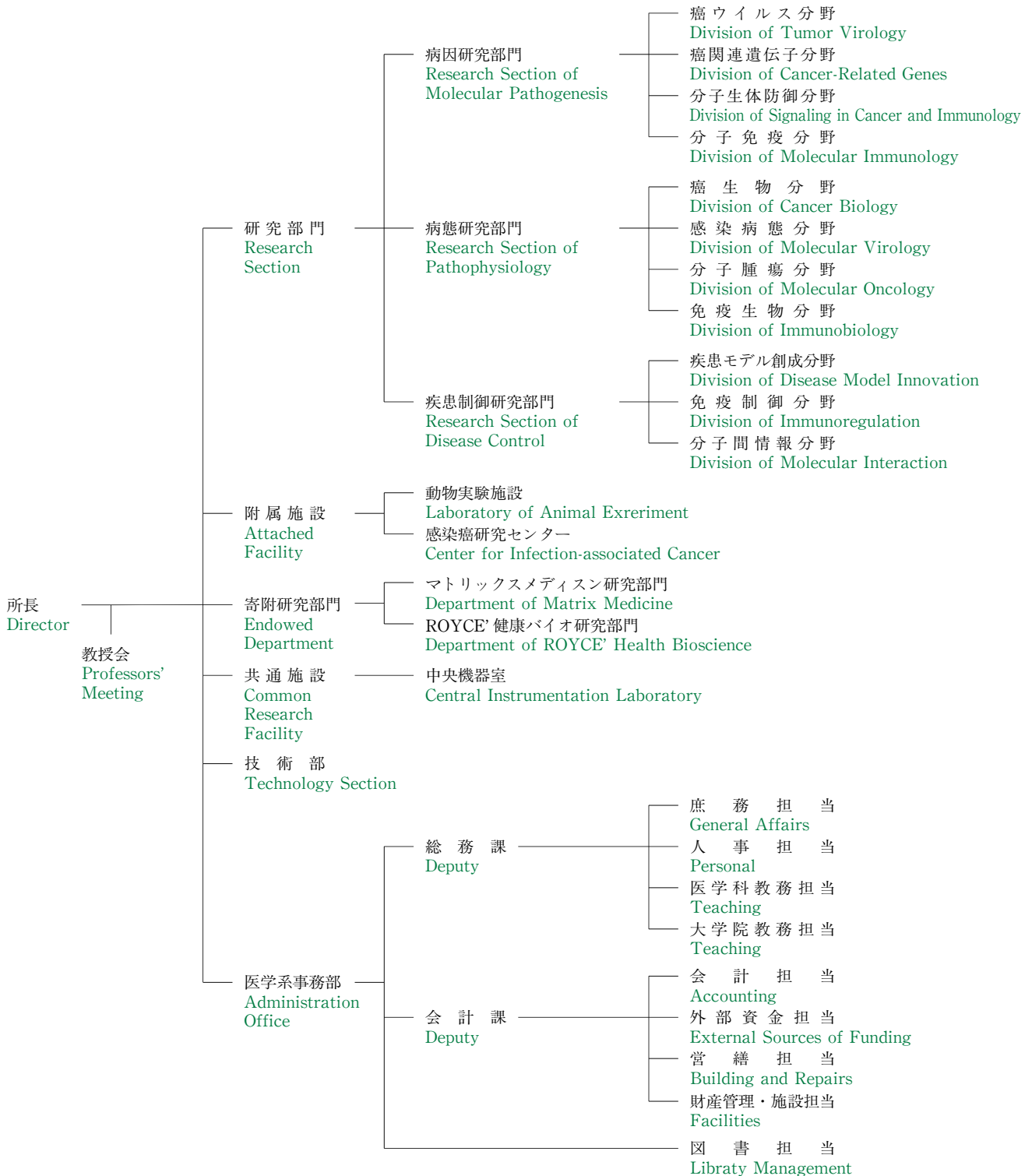
(称号授与年月日)

医学博士 森川 和雄 昭和60. 4. 1
 医学博士 山本 健一 昭和63. 4. 1
 理学博士 塩川 洋之 昭和63. 4. 1
 医学博士 奥山 春枝 平成 3. 3. 1
 医学博士 小林 博 平成 3. 4. 1
 医学博士 牧田 章 平成 6. 4. 1
 医学博士 柿沼 光明 平成10. 4. 1
 薬学博士 東 市郎 平成11. 4. 1
 医学博士 細川眞澄男 平成14. 4. 1
 医学博士 菊池九二三 平成18. 4. 1
 医学博士 葛巻 暹 平成18. 4. 1

Kazuo MORIKAWA, M.D.,Ph.D. 1985. 4
 Ken-ichi YAMAMOTO, M.D.,Ph.D. 1988. 4
 Hiroyuki SHIOKAWA, Ph.D. 1988. 4
 Harue OKUYAMA, M.D.,Ph.D. 1991. 3
 Hiroshi KOBAYASHI, M.D.,Ph.D. 1991. 4
 Akira MAKITA, M.D.,Ph.D. 1994. 4
 Mitsuaki KAKINUMA, M.D.,Ph.D. 1998. 4
 Ichiro AZUMA, Ph.D. 1999. 4
 Masuo HOSOKAWA, M.D.,Ph.D. 2002. 4
 Kunimi KIKUCHI, D.Med.Sc 2006. 4
 Noboru KUZUMAKI, M.D.,Ph.D. 2006. 4

機構

Organization



職員数	平成20年 7 月 1 日現在	Number of Staff	2008.7.1
教授	10	Professor	10
准教授	12	Associate Professor	12
寄附研究部門准教授	1	Associate Professor (Endowed Department)	1
助教	12	Assistant Professor	12
寄附研究部門助教	2	Assistant Professor (Endowed Department)	2
事務職員 (医学系事務部)	42	Administrative Officer	42
技術職員	7	Technical Officer	7
非常勤職員	28	Part-timer	28
計	114	Total	114

学生数	平成20年 7 月 1 日現在	Number of Student	2008.7.1
医学研究科博士課程	13	Graduate School of Medicine, Doctor Course	13
医学研究科修士課程	39	Graduate School of Medicine, Master Course	39
理学院博士課程	7	Graduate School of Science, Doctor Course	7
理学院修士課程	4	Graduate School of Science, Master Course	4
生命科学院博士課程	3	Graduate School of Life Science, Doctor Course	3
生命科学院修士課程	4	Graduate School of Life Science, Master Course	4
ビジティングフェロー	8	Visiting Fellow	8
ビジティングスチューデント	21	Visiting Student	21
計	99	Total	99

職員・学生

Staff and Student

病因研究部門

●癌ウイルス分野

教授 高田 賢藏
准教授 丸尾 聖爾
助教 岩切 大
技術職員 安藤 友美
技術補助員 吉本 紀江
事務補助員 井田 頼子
大学院生 中島 款冬 (博士4年)
大学院生 勝村紘一リカルド (博士3年)
大学院生 ALI AHMED KAMAL (博士3年)
大学院生 渡邊 亜美 (博士2年)
大学院生 石垣 絵里 (修士2年)
大学院生 伊藤 美穂 (修士2年)

●癌関連遺伝子分野

教授 守内 哲也
准教授 濱田 淳一
准教授 多田 光宏
研究支援推進員 矢野目雅子
非常勤研究員 ハッサン, ヌル モハメド モンスル
技術補助員 平野 千明
大学院生 斉藤 典子 (博士4年)
大学院生 木下 桂一 (博士4年)
大学院生 吉川 和人 (博士4年)
大学院生 亀山 武志 (博士4年)
大学院生 吉田 美樹 (博士4年)
大学院生 鈴木友希子 (博士3年)
大学院生 中島誠一郎 (博士4年)
大学院生 伊川 真弓 (修士2年)
大学院生 篠原 祐太 (修士2年)

●分子生体防御分野

教授 高岡 晃教
准教授 瀧本 将人
助教 早川 清雄
技術職員 吉田 栄子
技術補助員 数馬田美香
事務補助員 佐藤 裕香

●分子免疫分野

教授 上出 利光
助教 森本 純子
技術職員 木村智恵美
事務補助員 小倉 朋美
大学院生 中山 洋佑 (博士4年)

大学院生 黒滝 大翼 (博士4年)
大学院生 齋藤 善也 (博士4年)
大学院生 池末 昌弘 (博士2年)
大学院生 伊藤 甲雄 (博士2年)
大学院生 金山 剛士 (博士2年)
大学院生 太田 大地 (博士1年)
大学院生 檀崎 敬子 (修士2年)

病態研究部門

●癌生物分野

教授 野口 昌幸
助教 水津 太
助教 福元 隆浩
非常勤研究員 奥村 晶子
技術補助員 小島 麻子
大学院生 平向 洋介 (修士1年)

●感染病態分野

教授 志田 壽利
准教授 大橋 貴
助教 張 陰峰
技術補佐員 陳 晶
研究支援推進員 平野亜記子
大学院生 高柳 亮 (博士3年)
大学院生 岡田 紘幸 (博士3年)
大学院生 永井 美佳 (博士2年)

●分子腫瘍分野

教授 畠山 昌則
准教授 東 秀明
助教 紙谷 尚子
特任准教授 ディン, ソンジェ
技術職員 石川 晋
博士研究員 大西なおみ
博士研究員 セイディ, アザデ
外国人研究員 バグダディ, ムハンマド
技術補助員 西島 由理
技術補助員 張 紅梅
技術補佐員 矢野 晶子
大学院生 菊地 健司 (博士3年)
大学院生 高橋 昌史 (博士3年)
大学院生 藤井裕美子 (博士3年)
大学院生 呂 懷盛 (博士3年)
大学院生 齊藤 康弘 (博士3年)
大学院生 山橋 幸恵 (博士2年)
大学院生 林 剛瑠 (博士1年)

大学院生 ファテメ, サファリ (博士1年)
 大学院生 三浦 太浩 (修士2年)
 大学院生 梅田真由美 (修士2年)
 大学院生 笹谷 大輔 (修士1年)
 大学院生 蓬田 泰弘 (修士1年)
 大学院生 小山 康平 (修士1年)
 学部生 柳谷 公平 (学部4年)
 学部生 柏葉 結 (学部4年)

●免疫生物分野

教授 小野江和則
 准教授 岩淵 和也
 助 教 柳川 芳毅
 研究支援推進員 岡部 レイ
 大学院生 武田 真光 (博士4年)
 大学院生 小野 武紀 (博士4年)
 大学院生 岩田 大樹 (博士3年)
 大学院生 平田 徳幸 (修士2年)
 大学院生 佐藤 雅 (修士1年)
 大学院生 小倉 尚子 (修士1年)

疾患制御研究部門

●疾患モデル創成分野

准教授 森松 正美
 助 教 富岡 幸子

●免疫制御分野

教授 西村 孝司
 准教授 北村 秀光
 助 教 茶本 健司
 研究支援推進員 菅原 和佳
 非常勤研究員 芦野 滋
 学術研究員 八木 清香
 学術研究員 芦崎 純子
 大学院生 大栗 敬幸 (博士4年)
 大学院生 成田 義規 (博士4年)
 大学院生 脇田 大功 (博士4年)
 大学院生 池田 詩子 (博士2年)
 大学院生 野口 大輔 (博士2年)
 大学院生 小泉 真一 (博士1年)
 大学院生 小林 稔 (博士1年)
 大学院生 但馬 正樹 (博士1年)
 大学院生 木田明公子 (修士2年)
 大学院生 増子 和尚 (修士1年)

●分子間情報分野

教授 田中 一馬
 准教授 鎌田このみ
 助 教 山本 隆晴
 研究支援推進員 伊藤絵里子
 事務補助員 伊藤 鮎子
 大学院生 鈴木 理紗 (博士2年)
 大学院生 鉢呂 健 (博士2年)
 大学院生 武田美代子 (修士2年)
 大学院生 花松 久寿 (修士2年)
 大学院生 三岡 哲生 (修士2年)
 大学院生 岩村 崇史 (修士1年)

附属施設

●動物実験施設

施設長 志田 壽利
 准教授 森松 正美 (兼務)
 助 教 富岡 幸子 (兼務)
 技術職員 尾関 祐一
 技術職員 室田 宏之
 研究支援推進員 佐藤 織絵

●感染癌研究センター

センター長 畠山 昌則
 准教授 吉山 裕規
 技術補助員 柴田 幸子

寄附研究部門

●マトリックスメディスン研究部門

教授 上出 利光 (兼務)
 特任准教授 松井 裕
 技術補助員 山森 織絵

●ROYCE'健康バイオ研究部門

教授 西村 孝司 (兼務)
 特任助教 富樫 裕二
 事務補助員 中垣志寿華

技術部

技術職員 山口 桂

癌ウイルス分野

研究課題

EB ウイルスによる発がんの分子機構



教授・医学博士
高田 賢藏



准教授・博士(医学)
丸尾 聖爾



助教・博士(医学)
岩切 大

がんは、化学発がん物質(タバコ、食事成分など)、放射線、紫外線、ウイルスなどの作用により多段階的に発生する。化学発がん物質(タバコ、食事成分など)、放射線、紫外線が細胞遺伝子のランダムな変異の蓄積によりがんを起こすのに対して、ウイルスは少数のウイルス遺伝子の作用により、一定のメカニズムでがんを起こす。従って、ウイルス発がんは発がんのメカニズムを研究するのに極めて適しており、がん遺伝子、がん抑制遺伝子の発見と理解にも多大の貢献をしてきた。また、肝がん、子宮がんなど、ヒトのがんの約15%はウイルスが原因となっている。

当分野では、ヒトがんウイルスの1つであるEBウイルスに焦点を絞り、発がんの分子メカニズム解明をめざしている。EBウイルスは一部の胃がん、エイズ・臓器移植に合併するリンパ腫の原因として、最近特に注目されている(表1、図1)。

EBERは約170塩基の小RNAで、多数のstem-loopからなる2本鎖RNA様構造をとるものと予測されている(図2)。癌細胞中に多数コピー(～10⁷コピー/細胞)存在し、La、EAP/L22、PKRなどの宿主蛋白質と結合することが知られているが、その結合の意義は十分明らかとなっていない。また、各種EBV株間でEBER1は100%保存されており、EBER2もわずかに1塩基の変異が報告されているのみで、EBVの維持にEBERが重要な役割を果たしているものと予想される。

我々は、EBV感染、非感染細胞クローンの比較により、EBV感染によりBリンパ球ではIL-10、Tリンパ球ではIL-9、上皮細胞ではIGF-1の発現が誘導され、産生されたこれらサイトカインがオートクライン増殖因子として作用することを明らかにした。また、これらサイトカイン

誘導が腫瘍バイオプシーの検討でも確認された。しかし、サイトカインの発現誘導が転写レベルで起こることまでは明らかにしたが、そのメカニズムは長らく不明であった。

RIG-I (retinoic acid-inducible gene I)は細胞内におけるウイルス二本鎖RNA検知システムであり、活性化によりIRF-3 (interferon regulatory factor 3)、NF- κ Bが活性化され、その結果、I型インターフェロンによる抗ウイルス活性、炎症性サイトカインによる獲得免疫系の誘導に至る。我々は、EBERがRIG-Iにより二本鎖RNAとして検知され、その結果インターフェロン、IL-10の誘導が起こることを明らかにした。さらに、炎症性サイトカインの誘導はRIG-IによるNF- κ B活性化によることが知られているが、IL-10の誘導は、NF- κ Bではなく、IRF-3によって起こることを明らかにした(図3)。

一方、誘導されたインターフェロンに対しては、EBERはインターフェロン誘導性キナーゼPKRに結合し、その活性化を阻害することにより拮抗し、癌細胞においてはアポトーシス誘導性を賦与する。以上の結果は、EBERが自然免疫系のシグナル活性化を巧妙に利用して発癌に貢献していることを示している。

Epstein-Barr Virus (EBV)

- a member of the herpesvirus family
- DNA virus with 170kbp genome
- most people carry the virus in a latent state
- associates with various malignancies

Burkitt's lymphoma, Nasopharyngeal carcinoma
T/NK cell lymphoma, Hodgkin's lymphoma
Lymphoma in immunodeficient hosts
AIDS, Posttransplantation
Gastric carcinoma

表1. EBウイルス

Table 1. Epstein-Barr virus.

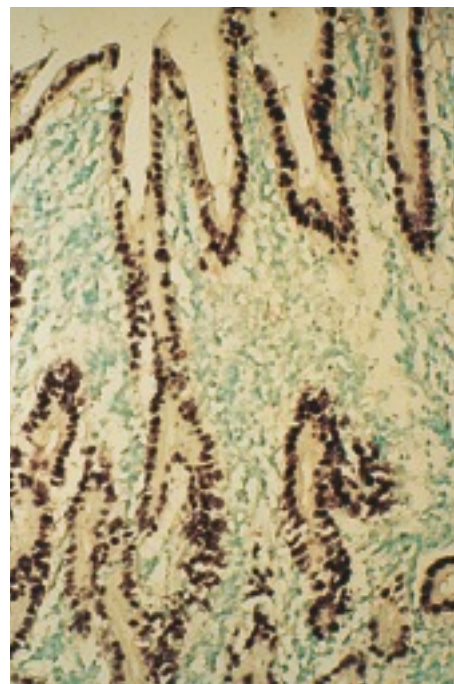


図1. 胃がんにおけるEBウイルス遺伝子の発現

Fig. 1. EBV associated gastric cancer

Division of Tumor Virology

Research Project:

Oncogenesis by Epstein-Barr virus

Professor **Kenzo TAKADA, M.D., Ph.D.**

Associate Professor **Seiji MARUO, M.D., Ph.D.**

Assistant Professor **Dai IWAKIRI, M.D., Ph.D.**

The cancer arises through multistep processes by the action of chemical carcinogens (tobacco, diet component, etc.), radiations, viruses, and etc. The viruses cause the cancer in the fixed mechanism by the action of the small number of their genes, while the chemical carcinogens and radiations cause the cancer through the random mutations of cellular genes. The viral carcinogenesis is, therefore, the most suitable model for studying the mechanism of carcinogenesis and has contributed to the discovery and understanding of oncogenes and tumor suppressor genes. In addition, approximately 15% of the human cancer is caused by viruses.

We focus our interest on a human tumor virus, Epstein-Barr virus (EBV), and aim at elucidation of the molecular mechanism of the carcinogenesis by EBV.

The Epstein-Barr virus (EBV) is associated with various malignancies including Burkitt's lymphoma, T/NK cell lymphoma, Hodgkin lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, gastric carcinoma, and lymphomas in immunodeficient individuals (Table 1, Fig. 1). The entire EBV DNA is maintained as a plasmid form in all EBV-associated carcinoma cells and a restricted number of EBV genes are expressed without production of progeny viruses. The pattern of EBV expression is different by a kind of the malignancy, and only EBV-determined nuclear antigen 1 and EBV-encoded small RNA (EBER) are commonly expressed in all EBV-associated carcinoma cells. Our series of studies have demonstrated that EBER plays key roles in oncogenesis. EBER confers resistance to apoptosis and induces expression of cellular growth factors, i.e. IL-10 in B-cells, IL-9 in T-cells and IGF-1 in epithelial cells, each of which act as an autocrine growth factor.

EBER, consisting of EBER1 and EBER2, is non-

polyadenylated, untranslated RNA with 170 nucleotides long. EBER exists most abundantly in latently EBV-infected cells, and is expected to form double-stranded RNA (dsRNA)-like structures with many short stem-loops (Fig. 2). We have demonstrated that EBER is recognized by the innate immunity system as dsRNA and thereby exhibits oncogenic activities.

Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) is a cytosolic protein that detects viral dsRNA inside the cell and initiates signaling leading to the induction of protective cellular genes, including type I interferon (IFN) and inflammatory cytokines. We have demonstrated that EBERs is recognized by RIG-I as dsRNA and activate RIG-I signaling to induce type I IFN in lymphoid and epithelioid cells. Furthermore, we have demonstrated that RIG-I signaling induces IL-10 in B-cells, which acts as an autocrine growth factor. Although NF- κ B is reported to function downstream of RIG-I signaling to induce inflammatory cytokines, our results have demonstrated that IFN-regulatory factor 3 (IRF-3) but not NF- κ B is involved in the induction of an anti-inflammatory cytokine IL-10 (Fig. 3).

On the other hand, against IFN-induced apoptosis, EBER binds dsRNA-activated protein kinase (PKR), which plays a central role on IFN-induced apoptosis, and inhibits its phosphorylation and confers resistance to apoptosis.

We have also found that a substantial amount of EBER is released from the EBV-infected cells and induces signaling from toll-like receptor 3 (TLR3), which is a sensor of viral dsRNA on the cell surface.

These findings demonstrate a novel mechanism of oncogenesis utilizing the innate immunity system.

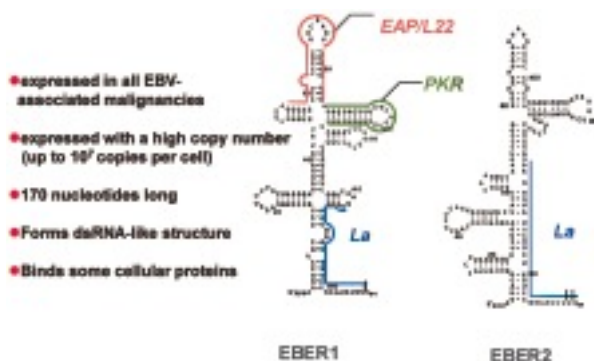


図2. EBERの二次構造

Fig. 2. The secondary structure of EBER

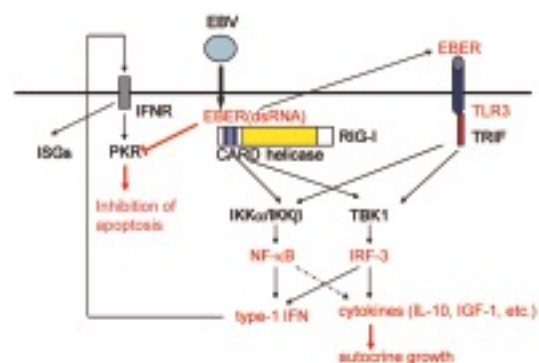


図3. EBERによる自然免疫系の修飾と発がん

Fig. 3. Modulation of the innate immunity system by EBER and oncogenesis

癌関連遺伝子分野

研究課題

癌関連遺伝子ネットワークの研究



教授・医学博士
守内 哲也



准教授・医学博士
濱田 淳一



准教授・医学博士
多田 光宏

1. 酵母を用いた癌関連遺伝子の解析と遺伝子診断法の開発

遺伝子診断には正確、簡便、迅速、低コストなスクリーニングが必須だが、従来の方法にはいずれかに限界があった。我々は酵母中にヒト遺伝子を発現させ、蛋白機能の異常・構造の異常として遺伝子変異検出を行うアッセイを開発・応用している。これは酵母の高い DNA 相同組換え能力、ヒト・酵母蛋白の互換性、セントロメア型プラスミドなどを応用したものである。これにより p53 機能アッセイや様々な遺伝子のストップコドンアッセイを開発し、癌における変異とその意義を明らかにしてきた。また酵母内にヒト遺伝子ネットワークを再構築し、変異診断に応用する研究も行っている。

2. 癌転移のマスター遺伝子の探求

癌の転移は、癌細胞の位置情報の乱れに基づく現象と捉えることができる。形態形成過程において細胞に位置情報を与える遺伝子に HOX 遺伝子群が知られている。HOX 遺伝子は、転写因子をコードしており、その下位にある標的遺伝子の発現を調節しながら形態形成を進めていく。ヒトの HOX 遺伝子は合計39遺伝子あり、その発現

パターンは HOX コードと呼ばれている。我々は、様々な癌組織において HOX コードの異常がみられること、ならびに特定の HOX 遺伝子の発現を変化させると癌細胞の転移性が変わること明らかにしている。現在、HOX コードの異常を引き起こす原因としてのマイクロ RNA の役割、個々の HOX 蛋白によって転写調節をうける癌関連遺伝子の同定、ならびに転移マーカーとしての HOX 蛋白の有用性について検討している。

3. 生物配列専用並列計算ハードウェアによる遺伝子・RNA ネットワークの解析

遺伝子間には蛋白質相互間、蛋白質と核酸の相互作用などによる複雑なネットワークがあることが知られているが、最近 RNA 同士の相互作用による非常に複雑なネットワークがあることが判明した。遺伝子の数倍以上の数の non-coding RNA が mRNA を RNA-RNA 相互作用により制御している。こうした相互作用は膨大で複雑なネットワークを作るため、コンピュータによる解析が必要である。我々は、ゲノム・RNA 相互作用探索専用のハードウェアを産学連携で開発し、それにより遺伝子間、RNA 間ネットワーク解析を行っている。

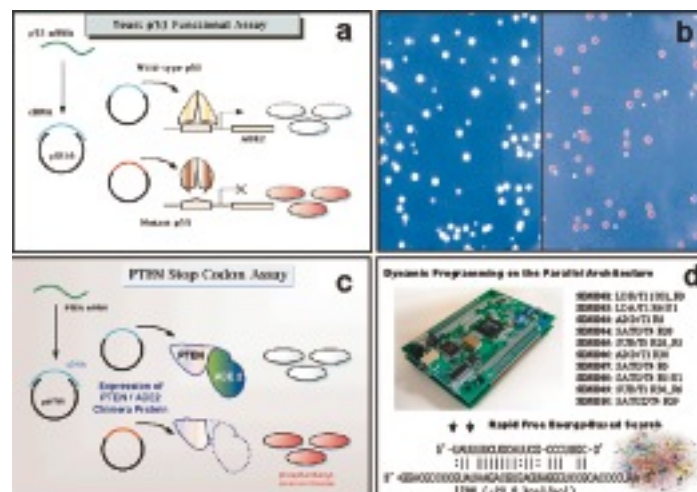


Fig. 1

- 酵母 p53 機能アッセイの原理。酵母内に発現された p53 蛋白による ADE2 リポーターの転写活性化を起こすことができる野生型 p53 は白色コロニーを、転写活性化能を失った変異型 p53 では赤色コロニーとなる。
- 酵母 p53 機能アッセイの結果。左は野生型、右は変異型 p53 を持つ腫瘍サンプル。
- ストップコドンアッセイの原理。被検遺伝子と ADE2 をキメラ蛋白として発現させる。被検遺伝子内にストップコドンまたはフレームシフト変異がある場合には ADE2 が働かず、酵母は赤色コロニーとなる。
- 並列アーキテクチャ上での高速自由エネルギーベース配列探索。これにより RNA 同士の相互作用を網羅的・高速に計算でき、RNA 新大陸の探索に有用である。

Figure 1.

- Schematic presentation of yeast p53 functional assay. Depending on transcriptional activity of the expressed p53, the assay gives white and red colonies for wild-type and mutant p53, respectively.
- Assay results of yeast p53 functional assay.
- Schematic presentation of yeast stop codon assay. By expressing a test gene in a chimera form with ADE2, truncating type mutation can be detected as red colonies.
- High-speed free energy-based search on a parallel computing architecture. The newly developed hardware (GenoQuester2) enables a large scale computation of RNA-RNA interactions for the investigation of the 'RNA new continent.'

Division of Cancer Related Genes

Research Project:

Analysis of cancer-related gene network

Professor **Tetsuya Moriuchi, M.D., Ph.D.**

Associate Professor **Jun-ichi Hamada, Ph.D.**

Associate Professor **Mitsuhiro Tada, M.D., Ph.D.**

1. Development of yeast-based assay for molecular diagnosis of cancer-related genes.

Molecular diagnostics needs screening methods for mutation detection that fulfill sufficient sensitivity and reliability. We have been developing screening methods that test functional and/or structural abnormality of human genes expressed in yeast. This technology is based on the highly efficient homologous recombination, interchangeability of human/yeast proteins, and usage of a low copy number yCp-type plasmid. We have established a yeast p53 functional assay and stop codon assays for a variety of genes, and applied them to analyze mutations in human cancers and their biological and clinical significance. We are currently developing an innovative method, which accomplishes reconstitution of an *en bloc* network of human genes in yeast.

2. Analysis of a master regulator in cancer metastasis and invasion.

Tumor metastasis can be considered as a phenomenon resulting from dysregulation of positional information of tumor cells. HOX genes are well known to give the positional information to cells during embryonic morphogenesis. HOX genes encode transcription factors which control the expressions of their

target genes and execute the morphogenic program. In human, there are 39 HOX genes, and their expression patterns are called HOX codes. We have reported that HOX codes are different between tumor and normal tissues in a variety of solid tumors. We have also revealed that the dysregulated expression of particular HOX genes enhances metastatic ability of tumor cells. We are now analysing the roles of microRNA in the disordered HOX codes in tumors, identification of metastasis-related genes controlled by HOX genes, and availability of HOX proteins as molecular markers of metastasis.

3. Gene/RNA network analysis with a parallel computing hardware for searching biological sequences.

In addition to the complex networks of protein-protein and protein-nucleic acid interactions, the presence of far more complex network of RNA-RNA interactions has recently been highlighted. Non-coding RNAs (several times of genes in number) modulate mRNAs by RNA-RNA interactions such as RNA interference and sense-antisense helix formation. We are analyzing the gene/RNA networks with a parallel computing architecture (hardware) and algorithms (software) newly developed by an industrial-academic cooperation.

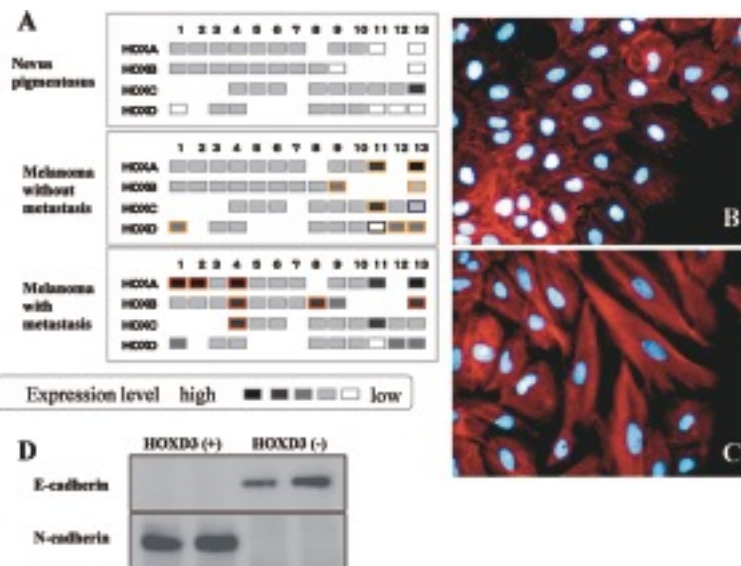


Fig. 2

- ヒト色素性母斑および悪性黒色腫における HOX コード。悪性黒色腫の HOX コードは、色素性母斑のそれとは異なること、さらに遠隔転移のある悪性黒色腫は遠隔転移のないものに比べ高い発現を示す HOX 遺伝子が多いことがわかる。
- C. HOXD3 を発現していない肺癌細胞 (B) は上皮細胞様の形態を呈するが、HOXD3 を過剰発現させる (C) と線維芽細胞様の形態に変化する。癌転移の早期において重要な形態学的変化とされる上皮-間葉移行に類似している。
- ウエスタンブロット法による細胞間接着因子 E-カドヘリンと N-カドヘリンの発現解析。HOXD3 を発現していない肺癌細胞に HOXD3 を過剰発現させると、E-カドヘリンが消失し、N-カドヘリンが新たに出現してくる。

Figure 2.

- HOX codes in human nevus pigmentosus and malignant melanoma. HOX codes of melanoma tissues are different from those of nevus pigmentosus tissues. Further, melanoma with distant metastasis shows high expressions of more HOX genes than that without metastasis.
- C. Overexpression of HOXD3 converts human lung cancer cells with epithelial cell-like morphology into fibroblastic morphology. This phenomenon resembles epithelial-mesenchymal transition which is important at an early step of metastasis.
- Expression of E- and N-cadherin in HOXD3-overexpressing lung cancer cells. HOXD3-overexpression loses E-cadherin expression and induces expression of N-cadherin in lung cancer cells.

分子生体防御分野

研究課題

がんと感染における自然免疫シグナルの解析とその治療応用への分子基盤



教授・医学博士
高岡 晃教



准教授・医学博士
瀧本 将人



助教・博士 (食品栄養科学)
早川 清雄

＝当研究室の概要＝

分子生体防御分野 (Division of Signaling in Cancer and Immunology) は、平成19年5月1日からスタートした新しい研究室です。現在スタッフは教授、准教授、助教の3名に技術職員、技術補助員および事務補助員の3名の他、客員研究員1名、学部学生2名、大学院博士課程の学生2名と計11名の構成員からなっている。

＝当研究室の研究内容＝

人類の歴史は、様々な微生物との格闘の歴史であったといっても過言ではないほど、このような小さな生き物は大きな影響を我々の生命や生活に与えてきた。また感染症の概念の大きな変革には顕微鏡の発見が貢献したが、つい100年ほど前のことである。感染症が病原微生物によって引き起こされるものであることが明らかになった現在においても、人と微生物との攻防戦は未だに収束を迎えない。実際、近年にみられる麻疹/インフルエンザの流行や、SARSなどの新興ウイルスの出現が報告されているなど、病原微生物をコントロールするには未だ至っていない。このように感染症制御の問題は、社会的な必要性の高い、重要な研究課題であると認識される。当研究室では、このような問題を分子レベルでアプローチすることを考えている。我々生体にはこのような微生物が侵入した際にそれを排除する巧妙な防御システムを備えていることが明らかになってきた。一方で、このような感染が様々な疾患の病態増悪の引き金と成り得る場合もある、もう一つの大きな問題としてがんの克服が挙げられる。がん細胞の出現に対しても類似の防御システムが関与することも示されてきた。

当研究室では、生体の恒常性を乱す外因的あるいは内因的なストレス、具体的には、感染やがんに着目し、これらに対する生体防御システムにおいて引き起こされる細胞応答について分子レベルでの解析を行っている。生体防御システムの中でも自然免疫系において Toll 様受容体 (TLR) に代表される特徴的な受容体 (パターン認識受容体) によって体内に侵入した微生物を認識する機

構が存在していることが明らかとなってきた(図1)。さらにこの受容体を介するシグナルは自然免疫系のみならず、その後の適応免疫系の活性化に重要な役割を担っていることも示されている。我々はこの生体防御の最も初めのプロセスと考えられる『認識機構』に着目し、新たな認識受容体の探索を行い、その下流のシグナル伝達経路の解析を進めることで、感染症や自己免疫疾患、癌といった難治性疾患の分子病態の解明、さらには治療への分子基盤の発見を目指したいと考えている。最近、細胞質内に存在する DNA を認識するセンサーの候補分子として DAI (DNA-dependent activator of IRFs) という分子を新たに同定した(図2)。さらにこれ以外にも細胞質内 DNA センサーの存在が示唆されていることから新たなセンサー分子の同定も行っている(図2)。このように当研究室では、次の3つの局面から研究を進めている。

- (1) 感染における DNA センサーの役割およびその活性化シグナル経路の解明
- (2) 自己免疫疾患の病態における DNA センサーの関与
- (3) がんの免疫応答における核酸認識機構の関連性

このように自然免疫において本研究の特色である『DNA 認識機構に着目』して解析を進めることで、感染症やがんのみならず、炎症性疾患や、あるいは DNA が病態と深く関わっている自己免疫疾患などの難治性疾患の分子病態の解明につなげたい。将来的には、見出した新たなパターン認識受容体およびリガンド間の相互作用を解析し、新しい免疫賦活剤や免疫抑制剤の薬剤開発を目指したい(図3)。

＝当研究室での教育＝

学部と問わず、様々な background をもった学生をはじめ、積極的に異分野からの研究者を受け入れたいと考えております。実際に教育関連として理学部化学専攻の協力講座となっております。お互い異なった知識や背景をもった研究者が交流することで得られる独創的な研究推進への相乗効果を生み出すことで、これを生かした形で『人材育成』も行っていきたいと考えている。

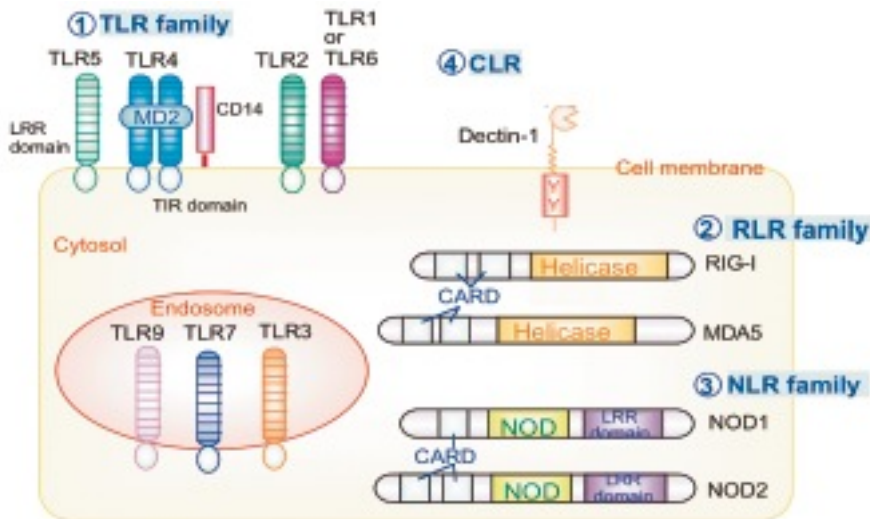


図1. 自然免疫系におけるパターン認識受容体

自然免疫系においても特異性は高くはないが、適応免疫系の抗原受容体に相当するような生体内に侵入した微生物を認知する受容体(パターン認識受容体; pattern recognition receptors; PRRs)が存在することがわかってきた。そのような受容体は、核酸をはじめ、細胞壁や鞭毛などの構成分子について、微生物由来の特有の分子パターンを認識することからパターン認識受容体と呼ばれる。元々は、ショウジョウバエの体軸形成に重要な分子として知られていた Toll という分子が欠損すると、真菌感染の感受性が増強するという報告がはじめとなり、そのヒトのホモログが Toll 様受容体 (Toll-like receptor; TLR) と呼ばれ、現在では10以上のメンバーが同定されている。TLR4 はリポ多糖類 (LPS) などを認識するなど、受容体個々にリガンドが決まっている。TLRs に代表されるように受容体下流においてサイトカイン遺伝子発現を誘導するシグナル伝達経路を活性化する受容体としては現在のところ、(1) TLR ファミリー; TLRs, (2) RHR (RNA helicase-like receptor) ファミリー; RIG-I, MDA5, (3) NLR (NOD-like receptor) ファミリー; NOD1, NOD2 など、(4) CLR (C-type lectin receptor) ファミリー; Dectin-1, DC-SIGN などの4つに分類される。

Division of Signaling in Cancer and Immunology

Research Project:

Sensing mechanisms and signaling pathways for the activation of innate immunity

Professor **Akinori Takaoka, M.D., Ph.D.**

Associate professor **Masato Takimoto, M.D., Ph.D.**

Assistant professor **Sumio Hayakawa, Ph.D.**

How does the host recognize the invasion of pathogenic microbes? Part of the answer lies in the pattern recognition receptors in the innate immune system. These receptors, which are represented by Toll-like receptors (TLRs) and retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I), are innate sensors that transduce signals inside the cells to activate the induction of cytokines and chemokines. This leads to the activation of innate immune responses and the subsequent adaptive immune responses for the elimination of pathogens. Furthermore, PRRs can also sense molecular patterns derived from host cells when the cells undergo necrosis/apoptosis, which may reflect aberrant inflammatory responses in autoimmune diseases.

Research projects currently being conducted began in relation to the identification of DAI (DNA-dependent activator of IRFs), a DNA sensing molecule that activates innate immune responses. There is also evidence indicating additional sensors of cytosolic DNA. The team is trying to explore such a DNA sensor(s) and to elucidate underlying mechanisms of disease pathogenesis at a molecular level, in terms of the function of the sensing molecules in the immune system. In particular, the laboratory focuses on microbial infections, cancer, and autoimmune dis-

eases.

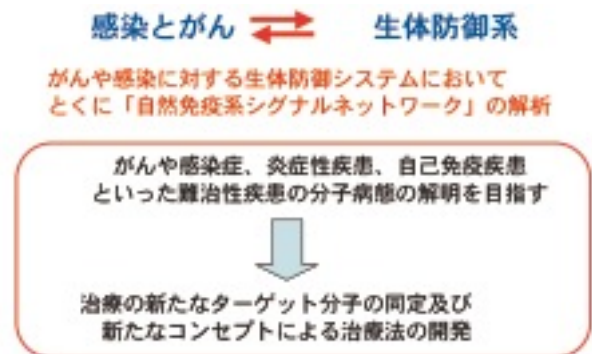


図3. 当研究室における研究概要

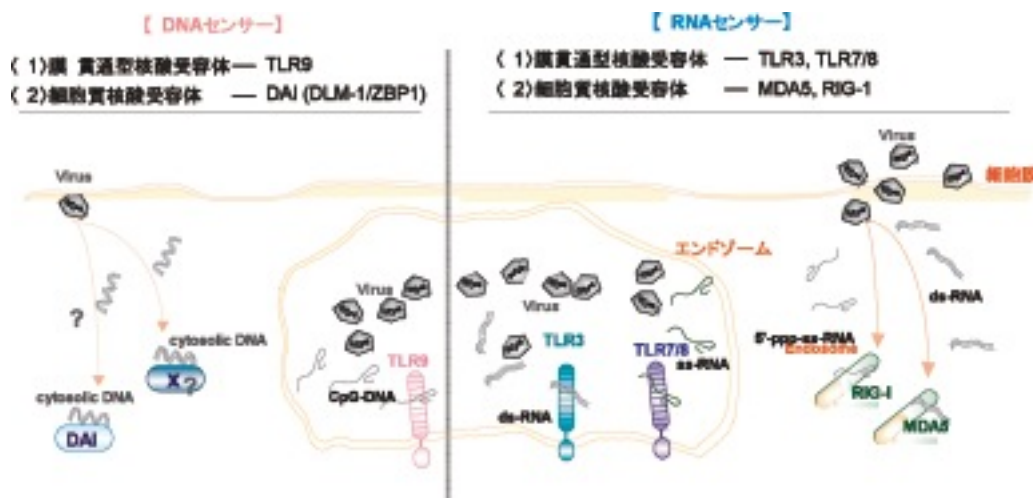


図2. 自然免疫系核酸受容体

自然免疫系における核酸受容体は DNA および RNA に対する認識受容体（センサー）が存在し、さらにそれぞれを局在から膜貫通型と細胞質型の2つに分類できる。細胞質 DNA センサーについては、DAI (DLM-1/ZBP1) の他に、未知なる受容体 (X) の存在が考えられる。TLR, Toll-like receptor ; DAI, DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors ; MDA5, melanoma differentiation-associated gene 5 ; RIG-I, retinoic acid-inducible gene I ; 5'-ppp ss-RNA, 5'三リン酸一本鎖 RNA ; ds-RNA, 二本鎖 RNA ; ss-RNA, 一本鎖 RNA.

分子免疫分野

研究課題

細胞外マトリックス蛋白および インテグリン分子による 生体防御免疫反応の制御機構の解析



教授・医学博士
上出 利光



助教・博士(医学)
森本 純子

分子免疫分野では、細胞基質間、細胞間相互作用の制御機構を中心に研究を行っている。特に細胞外マトリックス蛋白およびインテグリン分子の相互作用が、生体防御免疫応答をどのように制御しているのかを分子レベルで解析している。相互作用に関わる遺伝子群の同定はもとより、関節リウマチ、自己免疫性肝炎、多発性硬化症といった難治性疾患の病態解析、治療法の検討を行っている。

(1) 自己免疫疾患の病態発症におけるインテグリン分子の機能解析

インテグリンはオステオポンチンやテネイシンといった細胞外マトリックス蛋白などと接着することにより、発生や分化、免疫応答など生体内において必須の機能を調節している。さらに近年インテグリン機能の亢進や減退によって、癌および自己免疫疾患など様々な疾患が引き起こされることが明らかとなってきた。インテグリン欠損マウスはその発生過程で死亡することが多く、インテグリン機能を *in vivo* でダイレクトに解析することは困難であることが知られている。我々はこれまでの研究より関節リウマチや肝炎の病態局所において alpha9 インテグリンやそのリガンドである細胞外マトリックス蛋白の発現が上昇していることを見いだした。さらに当研究室ではマウス alpha9 インテグリンに対する抗体を作製することに成功し、現在作製した抗体を用

いて自己免疫疾患を含めた難治性疾患における alpha9 インテグリンの機能を解析している。

(2) オステオポンチン機能の制御による難治性疾患の治療とそのメカニズムの解析

細胞外マトリックス蛋白の一種であるオステオポンチン (Opn) は、種々のインテグリンと結合することで細胞接着および細胞遊走に関与する。当研究室では Opn 欠損マウス、Opn 遺伝子導入マウス、中和抗体、siRNA を利用した解析から、Opn の機能を制御することにより関節リウマチや肝炎といった難治性疾患の病態が治療できることを見いだしている。現在はその治療メカニズムを分子レベルで解析している。

(3) ウイルス感染防御免疫応答におけるオステオポンチンの機能解析

Opn は上述した細胞外マトリックス蛋白として細胞接着や細胞遊走に関与するだけでなく、サイトカインとしての機能も有している。Opn は活性化 T 細胞や抗原提示細胞より産生され、Th1 型免疫応答を誘導するサイトカインであり、これまで *Listeria* や *Mycobacterium* 感染に対する抵抗性に関与することが報告されている。当研究室ではインフルエンザ A ウイルスを用いてウイルス感染防御免疫応答における Opn の機能解析を行っている。

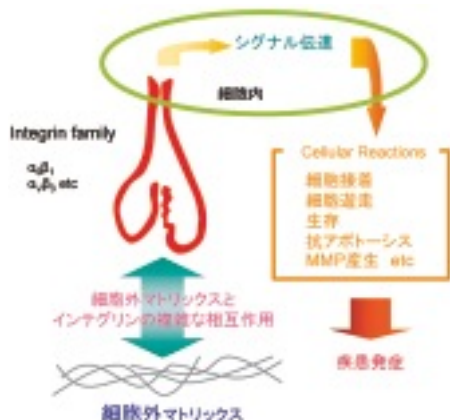


図 1. インテグリンを介する細胞接着機構の解明
インテグリンからのシグナルは遺伝子発現、細胞の形態、運動性、生存などを制御している。近年インテグリンからのシグナルの欠如や過剰なシグナル伝達により様々な疾患が発症することが報告されている。

Fig. 1. Molecular analysis of integrin-mediated signaling
Signals through intergerins after binding to ECM lead to gene expression, cell morphology, cell motility and cell survival. Dysfunction of integrin-mediated signaling is critically involved in the development of several diseases.

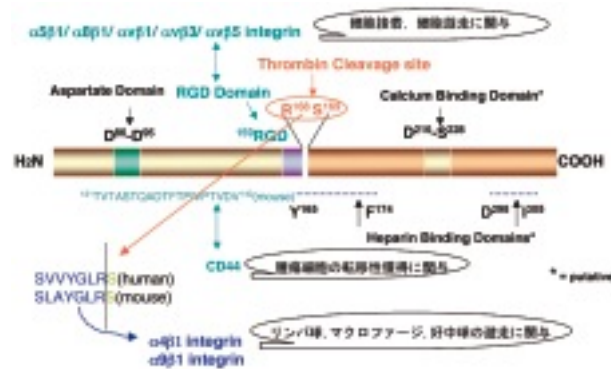


図 2. Opn の構造およびその受容体

Fig. 2. Structure of Opn and its receptors
Opn contains several binding domains interacting with αv and $\alpha 4$ integrins. Opn cleaved by thrombin at inflammatory sites exposes new binding domain that is recognized by $\alpha 9\beta 1$ integrin. The interaction between Opn and integrins is involved in cell migration and cell attachment including fibroblasts, lymphocytes, macrophages and neutrophils.

Division of Molecular Immunology

Research project:

Molecular and cellular mechanisms of the host-defense system by extracellular matrix proteins and integrins.

Professor **Toshimitsu UEDE, M.D., Ph.D.**

Assistant Professor **Junko MORIMOTO, D.V.M., Ph.D.**

Our laboratory is involved in studies elucidating the role of extracellular matrix proteins (ECM) and integrins in the development of inflammatory diseases and autoimmune diseases such as arthritis, multiple sclerosis (MS) and hepatitis. Our long-term goal is to understand how ECM and integrins regulate host-defense system in order to define potential targets for the treatment of these diseases.

(1) Functional analysis of integrins in the development of autoimmune diseases.

Integrins are expressed by many cells, such as immune cells and tumors. The interaction between integrins and ECM is involved in various processes including cell migration and cell attachment. Although, it has been demonstrated that dysfunction of integrins results in autoimmunity, precise mechanisms are still poorly understood. Our research focuses on defining the role of $\alpha 9$ integrin in the development of autoimmune diseases such as arthritis and MS, since we have found that the mRNA expression of $\alpha 9$ integrin is up-regulated in arthritic joints. Recently, we succeeded to generate the monoclonal antibody that is capable of reacting mouse $\alpha 9$ integrin. Lessons learned from experiments using this antibody will make us understand how $\alpha 9$ integrin regulates development of autoimmune diseases.

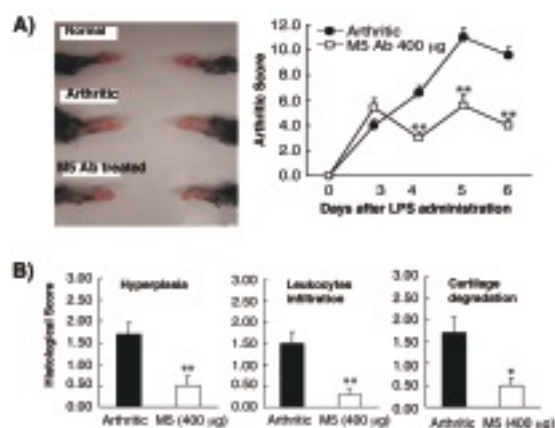


図3. Opn 中和抗体による関節リウマチの治療効果の検討 (A) Opn 中和抗体 (M5) 投与マウスでは顕著な四肢の腫脹の抑制が認められた。(B) M5投与マウスでは滑膜の肥厚、炎症性細胞の浸潤、関節破壊の抑制が認められた。

Fig. 3. Inhibition of development of arthritis by administration of neutralizing anti-Opn antibody (M5). Severity of arthritis was significantly reduced following treatment mice with M5.

(2) Osteopontin as a novel therapeutic target for inflammatory diseases.

Osteopontin (Opn) has been classified as an ECM. It has been well known that the function of Opn as an ECM is cell migration and cell attachment through the interaction with integrins. We have been demonstrated that Opn is involved in the development of inflammatory diseases and autoimmune diseases, and our current interest is to develop an effective treatment for these diseases with neutralizing anti-Opn antibody and small interference RNA.

(3) Cellular and molecular analysis of Opn in the protective immunity against virus infection

Opn is also a cytokine that is expressed by activated T cells and antigen presenting cells such as DCs and macrophages. It has been known that Opn is capable of inducing strong Th1 type immune response by a mechanism depending on up-regulation of IL-12 expression by macrophages. Our laboratory is interested in study defining the role of Opn in the host-defense system against virus infection, specifically focusing on how Opn influences the generation and maintenance of virus-specific cytotoxic and memory response. Our final goal is to generate the most efficient protective immune memory against virus infection.

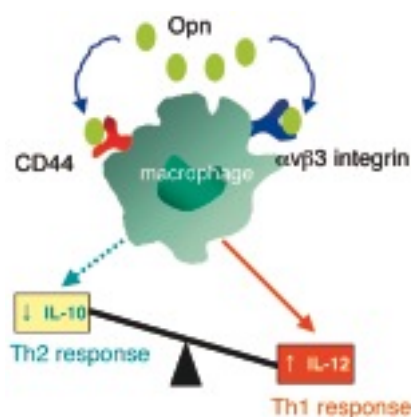


図4. Opn による Th1型免疫応答の制御 Opn は $\alpha v \beta 3$ インテグリンを介してマクロファージからの IL-12 産生を促進し、その一方で CD44 を介してマクロファージからの IL-10 産生を抑制することで、Th1 型免疫応答誘導を制御している。

Fig. 4. Regulation of Th1-type immune response by Opn Opn plays an important role in the development of Th1-type immune response by a mechanism depending on the regulation of IL-12 and IL-10 expression by macrophage.

癌生物分野

研究課題

細胞死と増殖の制御の分子機構の解明



教授・医学博士
野口 昌幸



助教・理学博士
水津 太



助教・医学博士
福元 隆浩

私(野口)は、13年間の米国での基礎医学研究生活を経て2002年10月より現在の北海道大学、遺伝子病制御研究所、癌生物分野を主宰することになりました。2006年4月より水津太助教が Harvard 大学を経て加わり、2008度から福元隆浩助教が Harvard 大学一和歌山医科大学を経て加わり、これらのスタッフと新たに研究員奥村(城尾)晶子と技官、大学院生が加わりました。

私(野口)はこれまでの米国 NIH での研究の中で重症複合免疫不全症の原因の遺伝子がサイトカイン受容体のひとつであるコモンガンマ鎖であることを報告しました(Noguchi et al., *Cell* 1993; Noguchi et al., *Science* 1993)。この発見によりこれまでその原因も治療もわからなかったヒト重症免疫不全症の原因と治療に方向性を与え、フランスの Allain Fisher らにより行われた世界で初めての遺伝子治療の成功を可能になりました。

1998-2002年のハーバード大学助教授としての研究の中でプロトオンコジンは TCL1 の異常が細胞の異常な増殖を起こし T 細胞芽球性白血病の分子学的な原因を明らかにしました(Laine et al., *Mol. Cell* 2000; Laine et al., *J. Biol. Chem.* 2002; Kunstle et al., *Mol. Cell Biol.* 2002)。

これらの研究を通して私たちの研究室では細胞の営む機能の中でも特に細胞の持つ細胞死と増殖のバランスが細胞の集合体である生体のホメオスタシス制御機構の仕組みとその破綻がどのように癌や、免疫不全症、その他様々なヒトの疾病の原因となっているかに興味を持

ち、特にセリンスレオニンキナーゼ AKT 分子を中心とした細胞内シグナル伝達に注目して研究を進めています(図1. Hiromura et al., *J. Biol. Chem.* 2004; Hiromura et al., *J. Biol. Chem.* 2006; Noguchi et al., *FASEB J.* 2007; Noguchi et al., *Curr Sig Thera* 2008; 国内、国際特許出願 2003-416556)。

AKT を介した細胞内シグナル伝達系は様々な成長因子、増殖因子により活性化され、膜リン脂質の働きを介し細胞内の細胞増殖と細胞死を制御する中心的な役割を担っています。この PI3K-AKT は細胞増殖、細胞周期、蛋白合成、糖代謝など様々な細胞反応を制御し、その制御機構の破綻は多くの疾病の原因として知られています。この PI3K-AKT シグナル伝達系にかかわる分子の遺伝子変異は悪性腫瘍をはじめ糖代謝異常、自己免疫疾患、統合失調症など様々な疾病の原因となっていることが知られています。我々はこの AKT を介したシグナル伝達がどのように細胞増殖と細胞死のバランスを制御しその結果生体のホメオスタシスを保っているか、さらにはこの制御機構の破綻がヒト疾病の原因に結びついているかに注目し、これら未だ原因の分からない疾病の発症機序の解明と治療法の開拓を目標に日々研究を進めています。

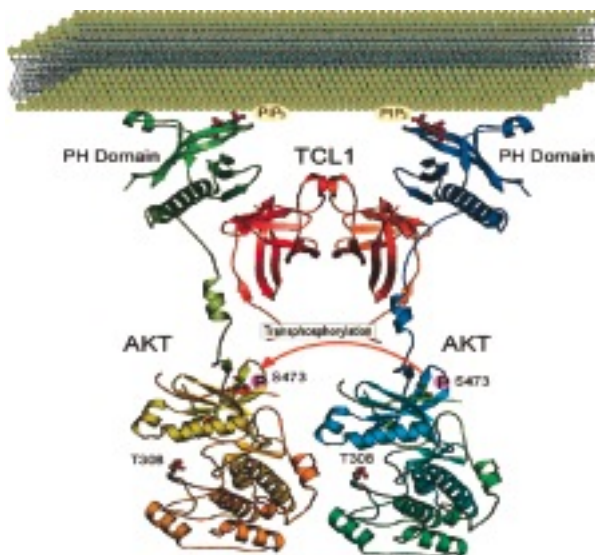


図1. プロトオンコジン TCL1による AKT 活性化
我々はプロトオンコジン TCL1が AKT の重合化を促進し AKT の活性化を促進する「AKT 活性化補助因子」であることを示し、ヒトリンパ球芽球性白血病 (TPLL) の分子学的発症機序を明らかにした。

Figure 1. Model of TCL1-dependent Akt kinase activation
TCL1 binds to the Akt PH domain and facilitates the formation of Akt/TCL1 hetero-oligomers, as a consequence, facilitates Akt transphosphorylation, promoting kinase activity and its downstream cell survival signals. This mechanism can explain some of the manifestations of the human T-PLL, in which *TCL1* gene is upregulated secondary to chromosomal translocations, but also gives new insight into the molecular process of activation of Akt, the core anti-apoptotic regulatory molecule.

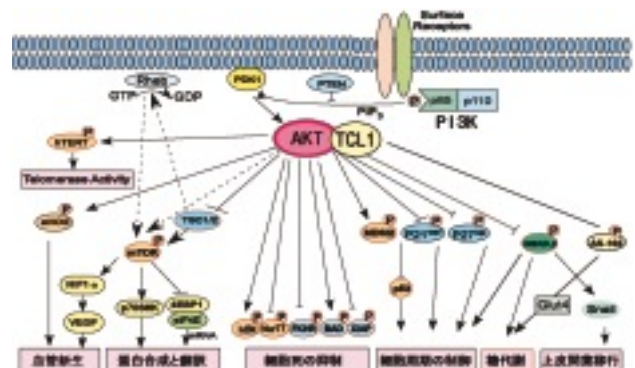


図2. AKT シグナル伝達系による多彩な細胞反応の制御機構
AKT シグナル伝達系は PI3K による膜リン脂質のリン酸化を介して活性化され細胞死(アポトーシス)制御の要として知られる。活性化された TCL1-AKT は様々な標的分子をリン酸化し、細胞死(Apoptosis)、細胞増殖、細胞周期、蛋白合成、血管新生、糖代謝など多彩な細胞反応を制御している。

Figure 2. PI3K-Akt network controls wide varieties of cellular responses *in vivo*.

Akt kinase is a major downstream target of the growth factor receptor tyrosine kinase that signals *via* PI3K. Akt is a well established survival factor exerting anti-apoptotic activity by preventing release of cytochrome c from mitochondria and inactivating FKHRL, known to induce expressing proapoptotic factors such as FAS legend. Other than its anti-apoptotic effect, Akt plays a multiple roles in regulating intracellular responses in various tissues. For example, Akt induces phosphorylation and inactivation of GSK to stimulate glycogen synthesis, thus regulating glucose metabolism and cell cycles via p21waf and p27kip to promote cell growth. Akt activates *eNOS*, thus promoting angiogenesis, and induces telomerase activity *via* telomerase reverse transcriptase subunit phosphorylation. Akt also mediates the activation of endothelial nitric oxide synthase, an important modulator of angiogenesis and vascular tone.

Division of Cancer Biology

Research Project:

To clarify the molecular basis of the regulation between cell death and survival

Professor **Masayuki NOGUCHI (MD, PhD)**

Assistant Professor **Futoshi SUIZU (PhD)**

Assistant Professor **Takahiro FUKUMOTO (PhD)**

On October 2002, after spending 12 years in US National Institute of Health (Bethesda, MD) and Harvard Medical School (Boston, MA), I was appointed as a professor of the Institute for Genetic Medicine, Division of Cancer Biology at Hokkaido University. Recently, two of the faculty members, Futoshi Suizu (Ph.D) and Takahiro Fukumoto (PhD) joined our laboratory as an instructor.

Our research interest is to clarify how the balance between cell death and survival regulates in vivo homeostasis. In past several years we have characterized the binding molecules of serine threonine kinase AKT that functionally modulate its kinase activity.

Our recent work clarified that the protooncogene TCL1 is an Akt kinase co-activator. TCL1 contains two distinct functional motifs responsible for Akt association and homodimerization. We showed that both Akt association and homodimerization of TCL1 are required for the complete function of TCL1 to enhance Akt kinase activity. TCL1 binds to Akt and activates Akt via a transphosphorylation reaction. TCL1 oncogene was first implicated in human T-cell prolymphocytic leukemia (T-PLL), a rare form of chronic adulthood leukemia. Under physiological conditions, TCL1 expression is limited to early developmental stages including the immune system (Laine et al. *Mol. Cell* 2000; Kunstle et al., *Mol Cell Biol.* 2002; Laine et al., *J Biol Chem.* 2002). (Figure 1.)

NMR chemical mapping study of the TCL1-Akt complex provided the structural-functional basis of the protooncogene TCL1 as an Akt kinase coactivator (Auguin et al., *J. Biomol. NMR* 2003; Auguin et al., *J. Biol. Chem.* 2004; Auguin et al., *J. Biomol. NMR* 2004). Further, with the aim to develop a putative Akt kinase inhibitor, we demonstrated that Akt-in, consisted with 14 amino acid, which inhibits association of PtdIns with Akt, is the first molecule to demonstrate specific Akt kinase inhibition potency. Akt-in inhibited anti-apoptosis and tumor cell growth in vivo without any toxic effects.

Together, our results provided a novel molecular mechanism of TCL1-induced Akt activation not only provided a new insight into the molecular process of Akt activation, but also a therapeutic implication for the various human diseases in which AKT, a core intracellular anti-apoptotic regulatory molecule, in

activated (Hiromura et al., *J. Biol. Chem.* 2004; Hiromura et al., *J. Biol. Chem.* 2006; Noguchi et al., *FASEB J.* 2007; Noguchi et al., *Curr Sig Thera* 2008; Patent Pending 2003-416556).

Akt (also known as protein kinase B, PKB), a central component of the PI3K signaling pathways, which plays a central role in the regulation of cell survival and proliferation to maintain in vivo homeostasis. Akt is known to play a pivotal regulatory role in various cellular processes. Akt is composed of three functionally distinct regions: an N-terminal pleckstrin homology (PH) domain, a central catalytic domain, and a C-terminal hydrophobic region. The N-terminal PH domain is a small 100-120-residue module found in many proteins involved in cell signaling or cytoskeletal rearrangement.

In response to various growth factors and other extra-cellular stimuli, Akt is activated by the lipid products [PtdIns (3,4,5) P3 and its immediate breakdown product PtdIns (3,4) P2] of phosphoinositide 3'-kinase (PI3K), which phosphorylates the 3-OH position of the inositol core of inositol phospholipids (PtdIns). Both serine 473 (Ser473) phosphorylation and membrane anchoring are required for Thr 308 phosphorylation and complete activation of Akt. Over 20 molecules have been identified as potential physiological substrates of Akt, including GSK3 β (Glycogen Synthesis Kinase3 β), FKHR (Fork Head Transcription Factor), BAD, and eNOS (endothelial nitric oxide synthase) (Figure 2).

Activation of Akt promotes cell survival; thus it could be the underlying mechanism for numerous human neoplastic diseases. Moreover, in addition to direct involvement Akt in tumorigenesis by genetic alterations of human cancers, the PI3K-Akt network also underlies the clinical manifestation of various stages of viral infection, such as latent infection, chronic infection, and malignant transformation of the Epstein-Barr virus, the Hepatitis C virus, the Hepatitis B virus, or the Human Immunodeficiency Virus (HIV).

As the cell death survival underlies multiple human diseases including cancer, immunological disorder, or infectious diseases, our research together aiming to provide a clue for understanding the molecular basis of various human diseases, but also provide a therapeutic insights to cure the life threatening human diseases.

感染病態分野

研究課題

エイズ・ヒト白血病ウイルスの感染機序と防止



教授・理学博士
志田 寿利



准教授・博士(獣医学)
大橋 貴



助教・博士(医学)
張 陰峰

エイズウイルス (HIV) は累計で7千万人 (内4千万人が生存)に感染し、年間250万人に上る新規感染者の増加は止まっています。日本でも感染者数が年々増大し、感染爆発が憂慮されています。他方、感染を防御するためのワクチン開発は遅々として進んでいません。また、エイズ治療薬は延命効果を示しましたが、種々の問題を持っています。ヒトT細胞白血病ウイルス (HTLV-1) は、白血病 (ATL) をはじめ種々の疾患を引き起こします。特に、国内で100万人以上が感染しており、発症予防・治療法の確立は必須です。当分野では HIV と HTLV-1 の分子生物学の研究成果を基に、予防と治療法の開発を目指して研究をしています。

1. HTLV-1/HIV 感染の新しいラットモデル

これらのウイルスの治療と予防法開発の障害の1つは、ヒトとチンパンジー以外に効率よく感染しないために、高感受性感染動物モデルがないことです。小動物にウイルスが感染できれば研究開発に大いに役立つと思われれます。中でも、ヒトの CD4 とケモカイン受容体を発現させてやれば、HIV がわずかに増殖できる事から、ラットは HIV の良い感染動物モデルになる可能性を秘めています。また、HTLV-1 の増殖が不十分なものの感染モデルとして既に使用されている事からも有望です。

ラットでウイルスが不十分な増殖しかしない理由は、ウイルスの増殖支持因子を欠いているか、阻害因子を有しているのかのどちらか、もしくは両方です。この因子を同定し、ヒトのウイルス増殖支持因子を発現させるか、阻害因子をノックダウンしてやれば高感受性のラットモデルができると考えられます。

我々は、ウイルス mRNA を核から細胞質へ輸送すべきラット CRM1 が機能しないことが、両ウイルスの増殖の非効率の1原因であることを発見しました。そこで、ヒト CRM1 を発現するトランスジェニック (Tg) ラットを作成しました。このラットの T 細胞に HTLV-1 を感染させるとヒト T 細胞に匹敵する HTLV-1 が生産されました。HIV-1 の場合には、ウイルスの転写因子 Tat のコファクターである CyclinT1 がヒト型である必要性を見いだしました。そこでヒト CRM1 と CyclinT1 のダブル Tg ラットを作成して T 細胞とマクロファージに感染させたところ、ヒト細胞近いウイルスが生産されました。

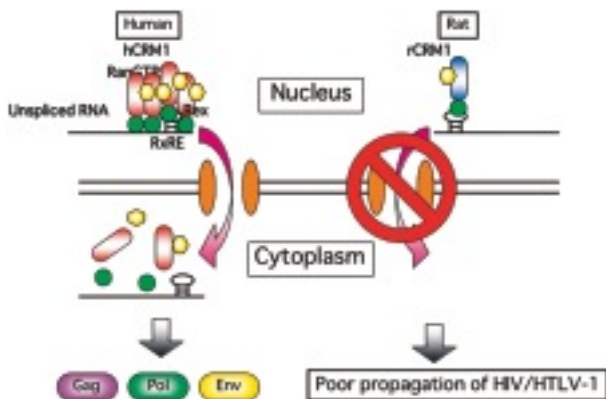


図1. HIV/HTLV-1の増殖におけるCRM1の役割
Fig. 1. Roles of CRM1 in propagation of HIV-1/HTLV-1

上記両因子を発現させることにより、ラット細胞での HTLV-1/HIV-1 の増殖が可能である事が分かったので、ラット個体への感染の可能性について現在研究を進めています。

2. HIV ワクチン開発

HIV ワクチンは今だ開発されていません。種々の理由からワクチン開発は不可能と考えている専門家もいます。しかし、①対 HIV の強い細胞性免疫 (CTL) を有する非感染者の存在、②強い CTL 又は中和抗体を有する長期未感染者の存在、③弱毒 SIV (猿のエイズウイルス) 感染猿の強毒 SIV への抵抗性の獲得、等の事実はワクチン開発の可能性を示唆しています。

ワクチンとして備えるべき条件は抗原性の異なる HIV 株に広範囲に効く中和抗体と強い細胞性免疫の両方を誘導できる事です。このためには、免疫誘起方法と適切な抗原の両面で工夫が必要です。我々は免疫誘起方法としてワクシニアウイルス (VV) ベクター、特に強い免疫を誘導するにも関わらず、副作用を引き起こさない安定な株として開発した m8Δ 株、を提案しています。VV は種痘として天然痘撲滅に寄与した大型 DNA ウィルスです。そのゲノム内には増殖には必須でない領域があり、そこに HIV の抗原遺伝子を挿入して組み換え VV を作成すれば対 HIV ワクチンとなりえます。組み換え VV は感染した体内で HIV 抗原を作るために、抗体と CTL の両方が誘導できます。また、外来遺伝子を効率よく発現できるプロモーターと、組み換え VV を簡単に作成する方法も開発しました。現在、SIV/HIV の抗原遺伝子を発現する m8Δ 株を作成する事によって、新しい HIV ワクチンの開発に努力しています。

3. HTLV-1 感染ラットモデルの解析と白血病の新治療法の開発

上述した HTLV-1 感染ラットモデルをさらに解析し、感染 T 細胞種の同定や in vivo CTL 活性の測定法の開発に成功しています。この基礎データと相伴って、ウイルスによるがん細胞特異的な殺傷効果を利用した白血病 (ATL) の新しい治療法を開発しようとしています。既に、我々は in vitro で有望な結果を得ています。現在、ラットモデルでの検証を行うべく準備を進めています。

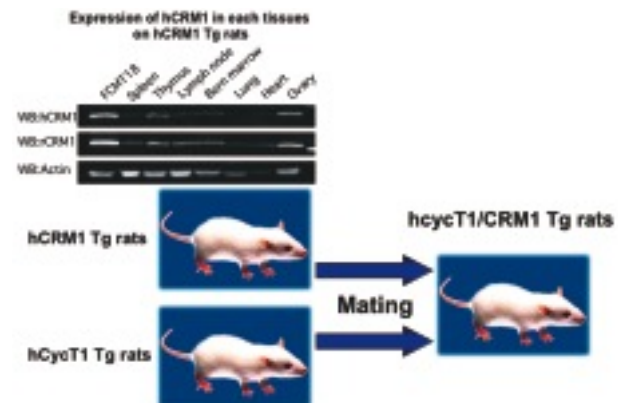


図2. ヒト CRM1 と CyclinT1 発現トランスジェニックラットの作成
Fig. 2. Construction of human CRM1/CyclinT1 expressing transgenic rats

Division of Molecular Virology

Research Project:

Mechanism and prevention of infection of human retroviruses

Professor **Hisatoshi SHIDA, D.Sc.**

Associate Professor **Takashi OHASHI, D.Sc.**

Assistant Professor **Xianfeng ZHANG, D.Sc.**

Research in the laboratory of molecular virology focuses on development of preventive and therapeutic methods, based on our own achievements of molecular biological studies on HIV-1 and HTLV-1.

1. New rat model for HTLV-1/HIV infection

One obstacle in development of preventive and therapeutic methods is lack of suitable small animal models for HIV/HTLV-1 infection. To develop a better animal model for the investigation of HTLV-1 infection, we established a transgenic (Tg) rat carrying the human CRM1 (hCRM1) gene that encodes a viral RNA transporter, which is a species-specific restriction factor, *in vitro*. The finding that CRM1 expression is elaborately regulated during lymphocyte activation initially by post-transcriptional and subsequently by transcriptional, led us to use a hCRM1 containing BAC clone, which would harbor the entire regulatory and coding regions of the *crm1* gene. The Tg rats expressed hCRM1 protein in a manner similar to the intrinsic rat CRM1 in various organs. HTLV-1-infected T cell lines derived from these Tg rats produced 100 to 10,000 fold more HTLV-1 than did T cells from wild type rats, and the absolute levels of HTLV-1 were similar to those produced by human T cells. HTLV-1 invasion into the thymus of intraperitoneally infected Tg rats was greater than observed in similarly infected wild type rats. These results support the essential role of hCRM1 in proper HTLV-1 replication and suggest the importance of this Tg rat as an animal model for HTLV-1.

To demonstrate the molecular basis for developing a rat model for HIV-1 infection, we evaluated the effect of human CyclinT1 (hCycT1) and hCRM1 on Gag p24 production in rat T cells and macrophages, using both established and primary cells prepared from hCycT1/hCRM1 transgenic rats. Expression of hCycT1 augmented Gag production 20~50 fold in rat T cells but little in macrophages. hCRM1 enhanced Gag production 10~15 fold in macrophages and only marginally in T cells. Expression of both factors synergistically enhanced p24 production to levels close to those detected in human cells. R5 viruses produced in rat T cells and macrophages were fully infectious. Collectively, the expression of both hCycT1 and hCRM1 will be key in developing a rat model supporting robust propagation of HIV-1.

2. Development of anti HIV-1 vaccine

As vehicles for delivering antigens of HIV-1, replication-defective viral vectors have been extensively studied because of their safety. For example adenovirus and vaccinia virus-based vectors expressing components of HIV-1 have been evaluated in human trials. They, however, generally have not induced enough immunities nor protected human from HIV-1 infection. Therefore more effective vehicles may be needed for HIV vaccines.

Replication-competent vaccinia virus that has been proven to be safe in human vaccination against small pox could be a good candidate for a better vehicle. Vaccinia LC16m8 strain has been shot to 100,000 people without any serious adverse effects. The LC16m8, however, has been found to be genetical-

ly unstable to generate spontaneously more virulent revertants from stock of LC16m8 viruses. To improve LC16m8, we identified the B5R gene responsible for the reversion, and constructed genetically stable LC16m8Δ, which is essentially as same as LC16m8 in antigenicity and safety in mice, and approximately 1000 fold more immunogenic than non-replicating vaccinia, MVA strain. Therefore LC16m8Δ could be a better vehicle for vaccines against HIV and other human diseases.

Gag proteins of HIV-1 and SIV are major antigens to elicit cytotoxic T cell immunity (CTL). Activity of anti Gag CTL in HIV-1-infected people reverse-correlates with viral loads. In some SIV-monkey experiment, the strength of anti Gag CTL has been reported to correlate the containment of SIV. Therefore, we constructed LC16m8Δ that expresses the gag gene of simian immunodeficiency virus (SIV) to compare its ability to elicit anti Gag immunities with replication-defective vaccinia virus. Immunization in a prime-boost strategy using DNA and m8Δ expressing SIV Gag elicited 7~30 fold more IFN-γ-producing T cells in mice than that using DNA and non-replicating vaccinia.

3. Analysis of HTLV-1-infected rat model to develop anti ATL therapy

Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) causes adult T-cell leukemia (ATL) in infected individuals after a long incubation period. Immunological studies have suggested that insufficient host T cell response to HTLV-I is a potential risk factor for ATL. To understand the relationship between host T cell response and HTLV-I pathogenesis in a rat model system, we have developed activation and detection system of HTLV-I Tax-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) by Epitope expressing Single-Chain Trimers (SCTs) of MHC Class I. Our results demonstrated that human cell lines transfected with the expression vectors encoding Tax epitope/β₂-microglobulin/rat MHC-I (RT1A^b) fusion protein were able to induce IFN-γ and TNF-α production by a Tax180-188-specific CTL line, 4O1/C8. We have further fused the C-terminus of SCTs to EGFP and established cells expressing SCT-EGFP fusion protein on the surface. By co-cultivating the cells with 4O1/C8, we have confirmed that the epitope-specific CTLs acquired SCT-EGFP protein and that these EGFP-possessed CTLs were detectable by flow cytometric analysis. This system will be an important tool in analyzing the role of the virus-specific CTLs in the rat model of HTLV-I infection.

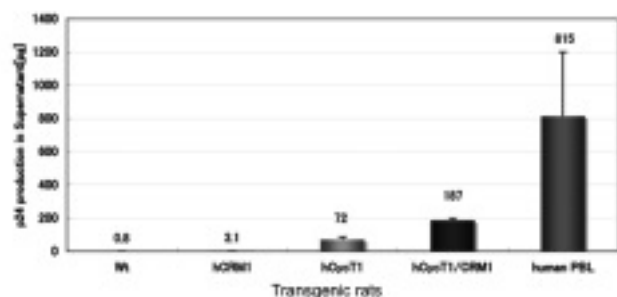


図3. ラットT細胞における HIV-1 Gag 蛋白の生産
Fig. 3. Production of HIV-1 Gag in rat primary T cells

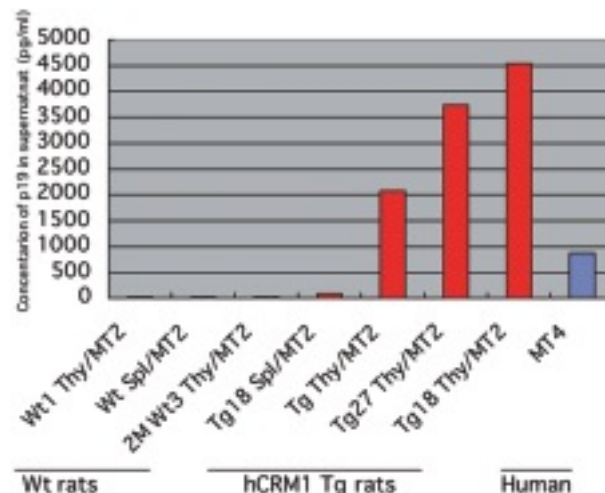


図4. ヒト CRM1 Tg ラットのT細胞における HTLV-1 の増殖
Fig. 4. Production of HTLV-1 in T cells of hCRM1 Tg rats

分子腫瘍分野

研究課題

ヘリコバクター・ピロリ感染による
胃発癌分子機構

准教授(特任)・博士(Ph.D.)

Song-Ze Ding

胃癌は部位別癌死亡の第二位をしめ、その数は全世界癌死亡の10.4%を占める。中でも日本を含む東アジア諸国は胃癌の多発国として知られている。我々はこれまでの一連の研究を通して、CagA タンパク質を保有するヘリコバクター・ピロリ(ピロリ菌)の持続感染が胃癌発症に必須の役割を担うことを明らかにしてきた。さらに、欧米諸国で単離されるピロリ菌ならびに東アジア諸国で単離されるピロリ菌の間でCagAの分子構造に明確な違いが存在し、CagAの生物活性の違いが胃癌発症の地域的偏りを作り出している可能性を示してきた。当分野では、ピロリ菌感染を基盤とする胃発癌における細菌性癌タンパク質としてのCagAの役割ならびにCagAを分子標的とした治療開発を目指し、分子から個体レベルにいたる先端的研究を進めている。

1. CagAによる癌タンパク質 SHP-2の脱制御

cagA 陽性ピロリ菌はIV型分泌機構を介してCagAを胃上皮細胞内に注入する。細胞内に侵入したCagAはSrcファミリーチロシンキナーゼ(SFK)によりチロシンリン酸化を受ける。我々は、リン酸化されたCagAが結合する細胞内標的分子としてヒト癌タンパク質として知られるSrc homology 2-containing protein tyrosine phosphatase (SHP-2)を同定している。CagAとの複合体形成により活性化されたSHP-2は、focal adhesion kinase(細胞接着斑キナーゼ:FAK)の不活性化を介して細胞運動能を亢進し、細胞増殖刺激様形態変化(hummingbird表現型)を誘導することを明らかにした。さらに、CagA依存的に活性化されたSHP-2はErk-MAPキナーゼ経路を介して異常な増殖シグナルを生成することを示した。東アジアで単離されるピロリ菌CagA(東アジア型CagA)は欧米で単離されるピロリ菌CagA(欧米型CagA)に比べSHP-2結合能及びhummingbird表現型の誘導能が高い。CagAによるSHP-2の脱制御が胃癌発症に関連することが強く示唆される。

2. CagAによる上皮細胞極性の破壊

胃粘膜上皮細胞はtight junctionsと呼ばれる細胞間接着構造を介して単層の極性化細胞層を形成する。極性化させた単層上皮細胞にCagAを発現させると、CagA

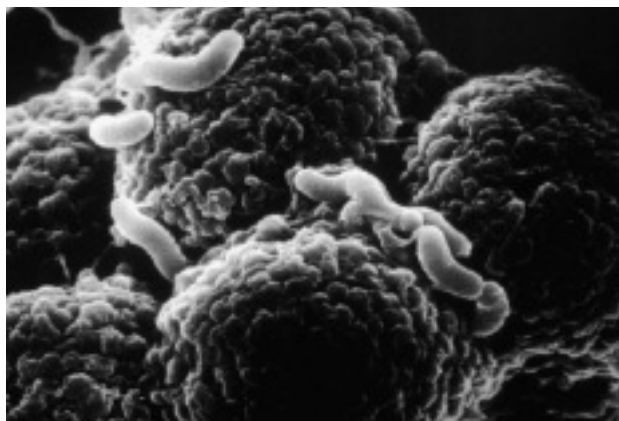


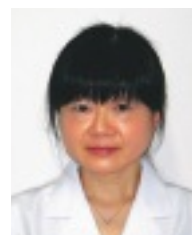
図1. ピロリ菌-胃上皮細胞間相互作用の走査電子顕微鏡像
Fig. 1. Interaction between *H. pylori* and gastric epithelial cells was observed by scanning-electron microscopy.



教授・博士(医学)
畠山 昌則



准教授・博士(薬学)
東 秀明



助教・博士(薬学)
紙谷 尚子

はリン酸化非依存的に上皮細胞極性を破壊する。我々は、上皮細胞極性破壊活性を担うCagA分子内領域を同定し、この部位に特異的に結合する分子を探索した結果、partitioning-defective 1b (PAR1b)を単離した。PAR1bは上皮細胞の極性形成と維持に必須の役割を担うセリン/スレオニンキナーゼである。CagAはPAR1bとの結合を介してPAR1bキナーゼ活性を抑制すると同時に、非定型的タンパクキナーゼC(aPKC)依存的なPAR1bのリン酸化を阻害することにより上皮細胞極性を破壊することを明らかにするとともに、CM配列とよばれるCagA分子内領域がPAR1bとの結合に必須であることを見いだした。CM配列はCagAの多量体形成及びSHP-2との安定な複合体形成に関わる領域である。このことから、CagA/PAR1b複合体形成は上皮細胞の極性破壊のみならず、SHP-2活性化を介したCagAのリン酸化依存的な生物活性においても重要な役割を担うことが明らかになった。

3. 生体内におけるCagAの発癌活性

CagAの発癌活性を実証するため、全身性にCagAを発現する*cagA*トランスジェニックマウス(*cagA*-Tg)を作製した。生後12週齢までに*cagA*-Tgの約半数において胃上皮細胞の過増殖による胃壁の肥厚が観察された。さらに、生後72週齢までに一部の個体から胃癌、小腸癌さらには血液癌(骨髄性白血病ならびにB細胞リンパ腫)が発症した。一方、チロシンリン酸化耐性型CagAを発現するトランスジェニックマウスでは腫瘍性病変を含む異常は認められなかった。従って、*cagA*-Tgにおける癌発症にはCagAによるSHP-2の脱制御が重要な役割を担うものと推察される。以上の結果から、CagAは生体内において発癌活性を有する初の細菌性癌タンパク質であることが証明された。

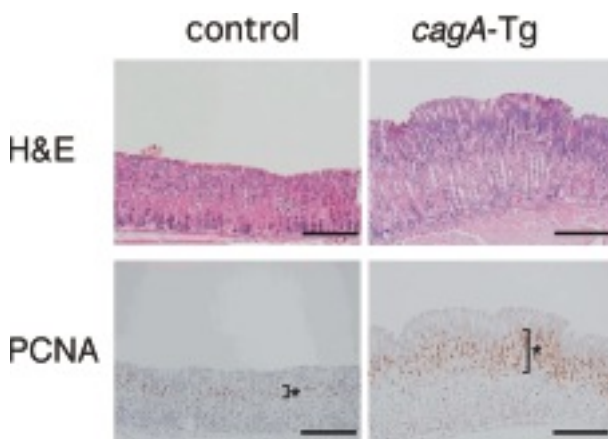


図2. 生後12週齢における*cagA*トランスジェニックマウス(*cagA*-Tg)の胃粘膜組織観察像。*cagA*-Tgの胃粘膜はコントロールマウスと比較して肥厚しており、肥厚部位において抗PCNA抗陽性細胞(*)が認められる。(スケールバー; 300 μ m)

Fig. 2. Histological analysis of the glandular stomachs from 12-week-old control mouse and *cagA*-Tg. *cagA*-Tg have a broad thickening of gastric mucosa due to epithelial hyperplasia of the stomach. *, PCNA-labeled cells. (Scale bars, 300 μ m)

Division of Molecular Oncology

Research Project:

Molecular Mechanism Underlying *Helicobacter pylori*-Mediated Gastric Carcinogenesis

Professor **Masanori HATAKEYAMA, M.D., Ph.D.**

Associate Professor **Hideaki HIGASHI, Ph.D.**

Assistant Professor **Naoko KAMIYA, Ph.D.**

Gastric carcinoma is the second-most common cause of malignancy-related deaths worldwide responsible for 10.4% mortality of all fatal cancer cases. The mortality rates of gastric carcinoma in East Asian countries including Japan are several times higher than those in Western countries. We have demonstrated that infection with *cagA*-positive *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is causatively associated with the development of gastric carcinoma. The *cagA* gene exhibits genetic polymorphism between those derived from Western and East Asian *H. pylori* strains and this sequence polymorphism is considered to be associated with the geographical variations in the incidence of gastric carcinoma. Our laboratory is focusing on the oncogenic mechanism of CagA in terms of the mechanism of carcinogenesis initiated by *H. pylori* infection. Recent scientific achievements from our laboratory are summarized as follow:

1. Deregulation of the SHP-2 oncoprotein by CagA. After attachment to gastric epithelial cells, *H. pylori cagA*-positive strains inject the CagA protein directly into the cells via the type IV secretion system. Injected CagA then undergoes tyrosine phosphoryla-

tion by Src family kinases. We found that tyrosine phosphorylated CagA binds to Src homology 2-containing protein tyrosine phosphatase (SHP-2), a bona-fide human oncoprotein. We also found that CagA-deregulated SHP-2 phosphorylated and thereby inactivates focal adhesion kinase (FAK), resulting in the morphological transformation known as the hummingbird phenotype. In addition, CagA-activated SHP-2 deregulates the Erk MAP kinase cascade to elicit abnormal mitogenic signal. Intriguingly, East Asian CagA exhibits stronger SHP-2 binding activity and greater morphogenetic activity than Western CagA. These observations indicate that CagA-deregulated SHP-2 plays a key role in the development of gastric carcinoma.

2. Disruption of epithelial cell polarity by CagA. In the stomach, gastric epithelial cells form a polarized epithelial monolayer with highly developed tight junctions. Expression of CagA in polarized epithelial cells causes junctional and polarity defects. We found that this CagA activity is mediated by the specific interaction of CagA with partitioning-defective 1b (PAR1b) serine/threonine kinase, which acts as a master regulator in establishment and maintenance of cell polarity. We showed that association of CagA inhibits PAR1b kinase activity while preventing atypical PKC-mediated PAR1b phosphorylation, collectively causing junctional and polarity defects. We also demonstrated that CagA binds to a PAR1b dimer. This PAR1b-mediated CagA dimerization is important for the subsequent complex formation between CagA and SHP-2. Our findings indicate that the CagA-PAR1b interaction is not only crucial in the disorganization of epithelial layer but also critically involved in the tyrosine phosphorylation-dependent CagA-SHP-2 interaction. The finding uncovered a here-to-fore unrecognized link between the PAR polarity regulating system and the human pathogen *H. pylori*.

3. Oncogenic activity of CagA *in vivo*. To investigate the role of CagA in *in vivo* carcinogenesis, we generated transgenic mice that systemically express CagA (*cagA*-Tg mice). Established *cagA*-Tg mice showed gastric epithelial hyperplasia and granulocytosis in the peripheral blood, which were followed by the development of gastric carcinoma, intestinal carcinoma and hematological malignancies such as myeloid leukemias and B cell lymphomas. Intriguingly, transgenic mice expressing phosphorylation-resistant CagA did not show any pathological abnormalities, indicating CagA-deregulated SHP-2 plays an important role in the development of *H. pylori*-associated neoplasms. These results provide formal proof for the oncogenic potential of CagA activity as the first bacterial oncoprotein.

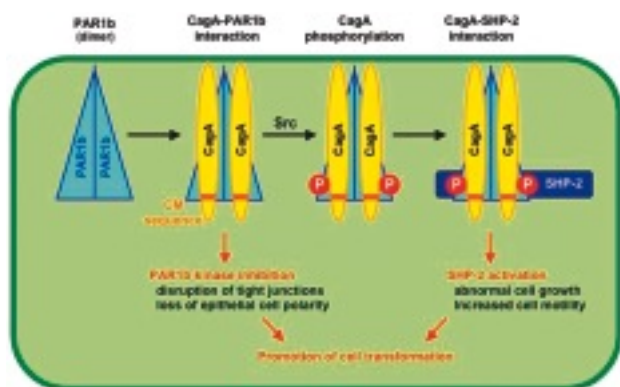


図3. CagA-PAR1b-SHP-2複合体形成モデル。PAR1bは細胞内で多量体（二量体）を形成している。CagAはCM配列を介してPAR1bに結合することにより間接的に二量体化する。CagA-PAR1b複合体形成によりPAR1bのキナーゼ活性が抑制され、上皮細胞の極性が破壊される。CagAはSrcファミリーキナーゼによりチロシンリン酸化を受けた後、SHP-2分子内の2つのSH2ドメインに特異的に結合する。CagAとの複合体形成により活性化されたSHP-2は運動・増殖シグナルを脱制御する。

Fig. 3. Interaction model of CagA with PAR1b and SHP-2. PAR1b is present as a multimer, most probably a homodimer, in cells. CagA binds to the PAR1b via the CM sequence, which induces CagA dimerization. Upon the complex formation, CagA inhibits PAR1b kinase activity and thereby causes polarity defects. Upon tyrosine phosphorylation by Src family kinases, the CagA dimer interacts with SHP-2 via the two SH2 domains of SHP-2 and thereby aberrantly activates SHP-2 phosphatase.

免疫生物分野

研究課題

T細胞、NK-T細胞、樹状細胞分化の分子機構と免疫応答における役割



教授・医学博士
小野江和則



准教授・医学博士
岩淵 和也



助教・博士(薬学)
柳川 芳毅

免疫生物分野では、自然免疫から獲得免疫への免疫系の進化を、これらの免疫応答に関わる免疫細胞の分化の視点から解析し、これを元に生体にとって有利な免疫応答を誘導する、すなわち免疫反応の制御の基本戦略を確立し、最終的には多くの免疫関連疾患、がんなどの治療開発を目指して研究を進めている。

1. 樹状細胞を標的とした免疫制御法の開発

樹状細胞 (dendritic cell, DC) は獲得免疫の誘導に重要な役割を果たしている。DC から産生される interleukin (IL)-12は、Th1 への分化を促進し細胞性免疫を増強する。一方 IL-10は制御性T細胞の誘導に関与し、免疫反応を調節する。したがって、DC によって誘導される IL-10 vs. IL-12産生バランス (免疫抑制 vs. 免疫賦活) を人為的にコントロールすることができれば、新しい免疫制御法の確立につながる。最近われわれは、DC を Toll-like receptor (TLR) 4 および TLR2 リガンドで感作することにより、DC における IL-10 vs. IL-12産生バランスが劇的に変化することを見出した。

精製したマウス骨髄細胞由来 DC (BMDC) を TLR リガンドで刺激し、その後48時間培地のみで培養した。TLR4,2-primed DC は、未感作 (naive) DC と比較して LPS 再刺激後に高い IL-10産生能を示し、逆に IL-12産生は著しく減少していた (図1)。LPS 再刺激下における TLR4,2-primed DC においては p38 MAPK、ERK1/2 や TRAF3 を介する細胞内シグナルバランスが大きく変化し、これによって IL-10 vs. IL-12産生バランスが劇的に変化すると考えられた (図2)。

2. 臓器特異的自己免疫疾患の制御

ベージェット病 (BD)・Vogt-Koyanagi-Harada 病 (VKH) は、眼球の網膜・ぶどう膜を主座とする自己免

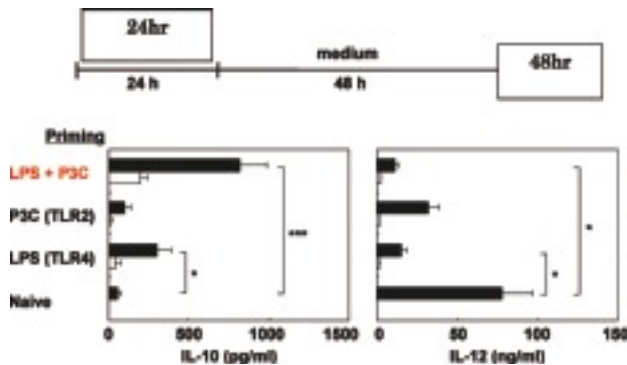


図1. TLR 感作 DC における IL-10産生の増強。マウス骨髄由来 BMDC (CD11c+B220⁻) を TLR4 リガンド (LPS, 1 μg/ml)、TLR2 リガンド (Pam3CSK4, P3C, 300ng/ml)、または TLR4 および TLR2 両リガンドで24時間感作した後、48時間無刺激の状態に培養した。無刺激で72時間培養した DC を naive DC とした (Naive)。それぞれの DC を LPS (1 μg/ml) で24時間再刺激し IL-10 および IL-12産生量を ELISA 法により測定した (mean ± SE, n=4; * : p<0.05; ** : p<0.005, t-test)。

Fig. 1. Effects of TLR4 and TLR2 priming on IL-10 production upon TLR restimulation. Bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs) were primed with upLPS (1 μg/ml) and/or Pam3CSK4 (P3C, 300 ng/ml) for 24h and cultured with medium alone for 48h as a resting interval. DCs were also cultured with medium alone for 78h (Naive control). The cells were restimulated with upLPS (1 μg/ml) for 24h, and amounts of IL-10 and IL-12p40 in the supernatant were quantified. Each column represents the mean ± SE of 4 independent experiments (*: p<0.05; **: p<0.005, t-test).

疫疾患で、放置すれば重篤な視力障害を来す。近年、BD には免疫抑制剤はじめ、抗 TNF-α 抗体などの生物製剤が用いられている。我々は病態をさらに深く理解し、新しい治療標的を探索する目的で、マウスを眼組織特異抗原である視細胞間レチノイド結合蛋白質 interphotoreceptor retinoid binding protein (IRBP) で感作して、マウス自己免疫性ぶどう膜炎モデルを作成し、経時的にサイトカイン・病理組織・免疫応答などを解析した。これまで、NF-κB、オステオポンチン (OPN) などを標的として、良好な疾患制御が達成されている (図3)。また、他の臓器においても、臓器特異的自己免疫疾患に応用可能な制御法を開発する研究も現在進行中である。

3. 生活習慣病における炎症・免疫学的異常に関する NKT細胞の制御

NKT細胞は活性化マクロファージ (Mφ) とともに、動脈硬化症の進展を促進することを明らかにした (図4左) が、高脂肪食給餌による diet-induced obesity (DIO) においても、NKT細胞が増悪因子として働く可能性を示す結果が得られた。したがって、生活習慣病の制御において、NKT細胞は重要な治療標的となると考えられる。

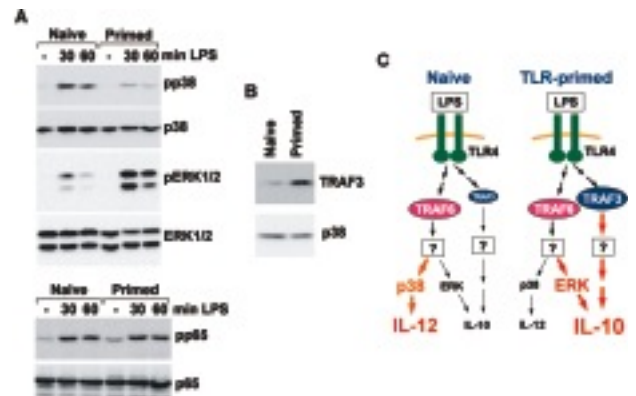


図2. TLR4,2-primed DC における細胞内シグナルバランスの変化。マウス BMDC を LPS+Pam3CSK4 で24時間感作した後、48時間無刺激の状態に培養し、TLR4,2-primed DC とした (Primed)。無刺激で72時間培養した DC を naive DC (Naive) とした。A. それぞれの DC を LPS (1 μg/ml) で30または60分間再刺激し、細胞質中の phospho-p38 MAPK (pp38)、p38 MAPK (p38)、phospho-ERK1/2 (pERK1/2)、ERK1/2 phospho-NF-κB p65 (pp65)、NF-κB p65 (p65) のレベルを immunoblot 法で解析した (mean ± SE, n=3; * : p<0.05; ** : p<0.01, t-test)。B. それぞれの DC の細胞質中の TRAF3 のレベルを immunoblotting 法により解析した (mean ± SE, n=3; * : p<0.05, t-test)。C. TLR4, 2-primed DC におけるサイトカインバランス制御機構の想定図。

Fig. 2. Altered balance of signaling pathways in TLR4,2-primed DCs upon LPS restimulation. BMDCs were primed with upLPS (1 μg/ml) and Pam3CSK4 (300ng/ml) for 24h and cultured with medium alone for 48h (Primed). DCs were also cultured with medium alone for 78h (Naive control). The cells were restimulated with upLPS (1 μg/ml) for 30 or 60 min. A. Levels of phospho-p38 MAPK (pp38), p38 MAPK (p38), phospho-ERK1/2 (pERK1/2), and ERK1/2 in the cell lysates were determined by immunoblotting. B. Levels of TRAF3 in the cell lysates were determined by immunoblotting. C. Postulated mechanism underlying the altered balance of IL-10 vs. IL-12 production by TLR4,2-primed DCs.

Division of Immunobiology

Research Project:

Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Differentiation of T, NKT and Dendritic Cells and the Roles of these Immune Cells in Immunological Responses and Immunological Disorders

Professor **Kazunori ONOÉ, M. D., Ph. D.**

Associate Professor **Kazuya IWABUCHI, M. D., Ph. D.**

Assistant Professor **Yoshiki YANAGAWA, Ph. D.**

Various disease models were used to investigate the differentiation and immunological functions of immune cells involved in acquired as well as natural immunity. The final goal of Division of Immunobiology is to develop techniques that can be applicable for therapy of immune-related diseases including cancer.

1. Development of immune manipulation strategy using dendritic cells (DCs)

DCs are potent antigen presenting cells and play major roles in the initiation and the regulation of innate and acquired immune responses. Interleukin (IL)-12 promotes T helper 1 (Th1) polarization and induces cell-mediated immunity, while IL-10 is involved in induction of regulatory T cells and inhibits undesirable immune responses. Thus, the balance between IL-10 and IL-12 production by DCs is crucial to determine the subsequent acquired immunity. We attempted to control the IL-10 vs. IL-12 balance.

Purified murine bone marrow-derived DCs (BMDCs) were stimulated with TLR ligands for 24 h and then cultured with medium alone for 48 hours as a resting interval (TLR4, 2-primed DCs). The TLR4, 2-primed DCs exhibited significantly enhanced IL-10 production but markedly diminished IL-12p40 production upon TLR4 restimulation compared to unprimed (naive) DCs. TLR4-mediated activation of p38 MAPK was markedly suppressed, while that of ERK1/2 was enhanced in the TLR4, 2-primed DCs. In addition, TNF receptor-associated factor (TRAF) 3

expression was significantly up-regulated in the TLR4,2-primed DCs. Thus, the enhanced IL-10 production by the TLR4,2-primed DCs may be attributed to the altered balance of intracellular signaling pathways.

2. Regulation of organ-specific autoimmune diseases

Behçet's disease (BD), sarcoidosis and Vogt-Koyanagi-Harada disease (VKH) are major uveitic diseases. To better understand the pathogenesis of BD and to exploit novel therapeutic targets for resistant cases, mouse models of uveitis were investigated. Experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) was induced by immunizing mice with interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) peptide, and immunological and pathological parameters were monitored. To date, NF- κ B and osteopontin (OPN) have been selected as target molecules for therapeutic intervention and turned out to be good targets (Fig.3). Using ocular autoimmunity as a model of organ-specific autoimmune disease, a novel approach to the amelioration of autoimmune reactions in various organs is being pursued.

3. Investigation of molecular and cellular immunological mechanism underlying metabolic syndrome.

We have demonstrated that NKT cells accelerate atherogenesis in mice (Fig.4A). Recently, we also found that diet-induced obesity (DIO) was accelerated by the presence of NKT cells (Fig.4B). These results indicate that NKT cell is a key player for the regulation of the life-style-related diseases, such as atherosclerosis, obesity, and insulin resistance.

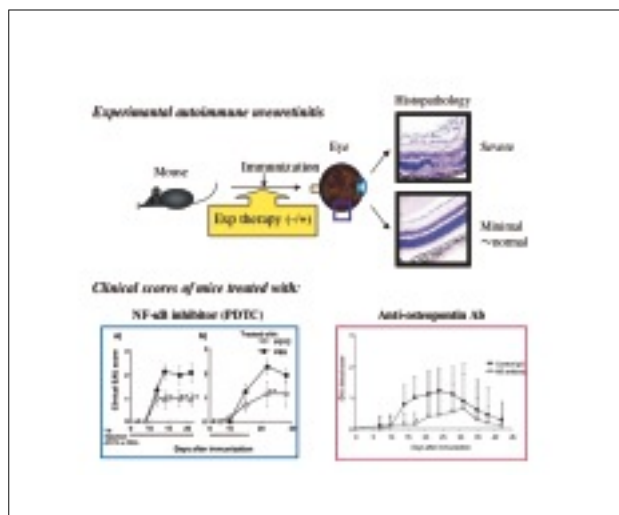


図3. ぶどう膜炎マウスモデルの作製と実験治療
眼球特異的抗原の感作でマウスにぶどう膜炎を誘導する(図上)。誘導時に実験治療を行ない、臨床スコアや病理組織などを比較し、より良い治療法を開発する。NF- κ B インヒビター (PDTIC; 下左) と抗 OPN 抗体 (図下右) を用いた実験治療例の臨床スコアを示す。

Fig. 3. Establishment of a mouse model of uveitis and the exploitation of experimental therapeutics. EAU was induced in mice with IRBP peptide in the presence of adjuvant. Experimental therapeutics were introduced in the induction phase of the disease, and the clinical scores were monitored. Histopathological scores were determined at appropriate times (upper panel). The inhibition of NF- κ B pathways (lower left panel) or application of anti-OPN antibody (lower right panel) ameliorated EAU.

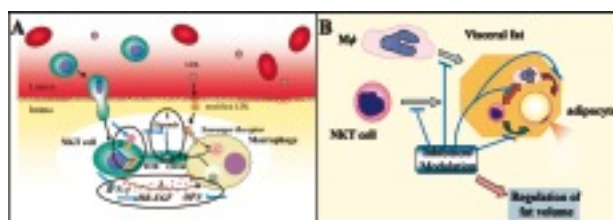


図4. 生活習慣病における治療標的としての NKT 細胞
A. 動脈硬化病巣における NKT 細胞と M ϕ の相互作用と治療標的: NKT 細胞は M ϕ (あるいは DC) 上の CD1d に提示された変性脂質を認識し (1)、活性化受容体からのシグナル (2) が誘導される。その後、NKT/M ϕ 相互作用により NKT 細胞から産生される動脈硬化促進性サイトカイン (IFN- γ 、HB-EGF、OPN など) により、動脈硬化病巣進展を促進する。NKT 細胞の活性化の制御により、病巣拡大や不安定化などを抑制出来ると考えられる。

B. NKT 細胞・マクロファージ・脂肪細胞間の相互作用と肥満の制御: 3 種の細胞間の相互作用を阻害・修飾することで、内臓脂肪症候群を制御することを目的として研究中である。

Fig. 4. NKT cell as a target for regulating life-style-related disease

A. NKT cells recognize the degenerated lipid molecules presented by CD1d on the macrophages (M ϕ) (1) and receive positive signals from activating receptors on the NKT cells (2). Then, putative humoral factors are produced by the interactions between NKT cells and M ϕ (3). In this way NKT cells aggravate atherosclerosis. The regulation of these cellular and subcellular mechanisms results in the inhibition of disease development.

B. Dangerous liaison among the NKT-M ϕ -adipocyte triangle. The inhibition or modification of the interaction may ameliorate the progression of DIO.

疾患モデル創成分野

研究課題

癌・免疫疾患モデル動物および抗病性動物の開発



准教授・博士(獣医学)

森松 正美



助教・博士(獣医学)

富岡 幸子

本分野では、癌・免疫疾患モデル動物や抗病性動物の開発を通じて各種疾患のメカニズムを解明し、それらの新しい予防・治療法の開発に貢献することを目指している。主に発生工学的手法を用いてトランスジェニックマウスやノックアウトマウスを作製し、それらに見られる病態を詳細に解析することによって新規の疾患モデルを創っている。その他、家畜やペットの病気にも注目し、疾患モデルとしての可能性を探っている。

1. アトピー性皮膚炎モデル動物

アトピー性皮膚炎はアトピー素因を有する人に見られる、かゆみをとめない長期間持続する湿疹である。特に小児において発症頻度が高く問題となっているが、その原因遺伝子の詳細には不明な点が多い。核内 I κ B タンパク質である MAIL/I κ B ζ をノックアウトしたマウスに認められるアトピー性皮膚炎様の病態を解析し、その発症機構を解明するための研究を進めている。

2. 遺伝性乳癌モデル動物

遺伝性乳癌原因遺伝子 BRCA2 の産物である BRCA2 タンパク質は、組換え酵素 Rad51 を DNA 二重鎖切断部位に運んで損傷を修復させる。BRCA2 の機能低下は遺伝子変異の蓄積を通じて発癌リスクを上昇させる。BRCA2 の機能をマウスやイヌで解析したり同遺伝子のイヌにおける多型を解析して新しい疾患モデルの確立を目指している。

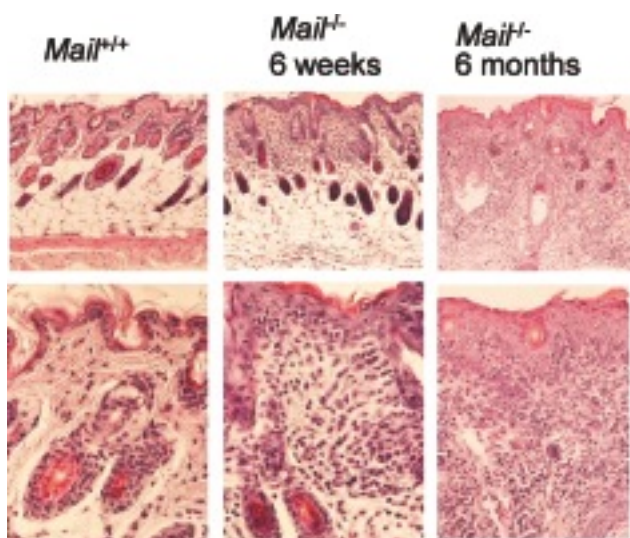


図1. 核内 I κ B タンパク質 MAIL をノックアウトしたマウスのアトピー性皮膚炎様の病態。HE 染色した皮膚組織に表皮の肥厚と炎症性の細胞浸潤が認められる。

Fig. 1. Animal models for atopic dermatitis generated by targeted disruption of a nuclear I κ B protein, MAIL.

3. 小脳形成不全モデル動物

仮性狂犬病ウイルス（ブタヘルペスウイルス1）の転写調節因子を発現するマウスは小脳形成不全を呈する。このマウスの病態解析により、新規の小脳形成不全モデル動物を確立すること、ヘルペスウイルスの新しい病理発生メカニズムを示すこと目指している。

4. 仮性狂犬病抵抗性動物

仮性狂犬病ウイルス感染に抵抗する動物の開発を目的として、ウイルス遺伝子の転写抑制因子やウイルスの細胞への吸着を妨げる吸着阻害分子の開発とその分子育種法への応用を行っている。

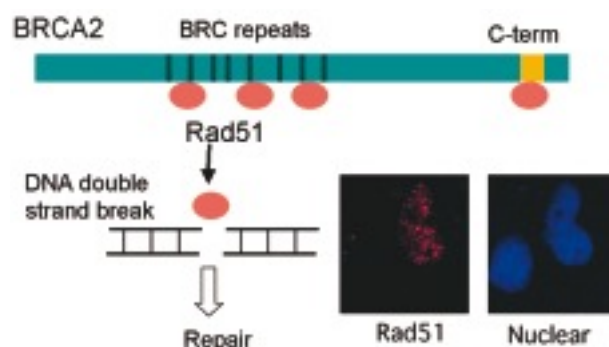


図2. BRCA2 タンパク質は組換え酵素 Rad51 を DNA 二本鎖切断部位に運んで損傷を修復させる。写真は、放射線照射した細胞の核で DNA 損傷部位に Rad51 がフォーカス形成している様子を示す。

Fig. 2. Role of BRCA2 protein in Rad51-mediated repair of a DNA double-strand break.

Division of Disease Model Innovation

Research Project:

Generation of Animal Models for Cancer, Immune, and Infectious Diseases.

Associate Professor **Masami MORIMATSU, D.V.M., Ph.D.**

Assistant Professor **Yukiko TOMIOKA, D.V.M., Ph.D.**

In the Division of Disease Model Innovation, studies have been focused on germ-line transformation in mice to generate animal models for cancer, immune, and infectious diseases. Disease models of farm and companion animals are also studied. Our present research projects are:

1) Animal models for atopic dermatitis

Atopic dermatitis is a common, chronic, inflammatory, pruritic skin disease that occurs in patients with an individual or family history of atopy. By targeted gene disruption of MAIL, a nuclear IκB protein, we generated a new animal model for atopic dermatitis. We are studying the mechanisms through which MAIL deficiency results in this common allergic disease.

2) Animal models for hereditary breast cancer

To establish animal models for hereditary breast cancer, we studied the roles for murine and canine BRCA2 in DNA double-strand break repair. By the analysis of genomic sequences of canine BRCA2, several genetic variations were discovered and some of which were localized to functional domains, BRC repeat 3 and C-terminal Rad51-binding region.

3) Animal models for cerebellar dysplasia

Transgenic mice expressing transcription factor of pseudorabies virus (suid herpesvirus 1) show cerebellar dysplasia. By analyzing the transgenic mice, we aimed to establish novel animal models for cerebellar dysplasia and to suggest novel pathogenesis of herpesvirus infection.

4) Generation of pseudorabies-resistant animals

Transgenic mice expressing resistant genes against pseudorabies were generated for the development of livestock with enhanced resistance to pseudorabies.

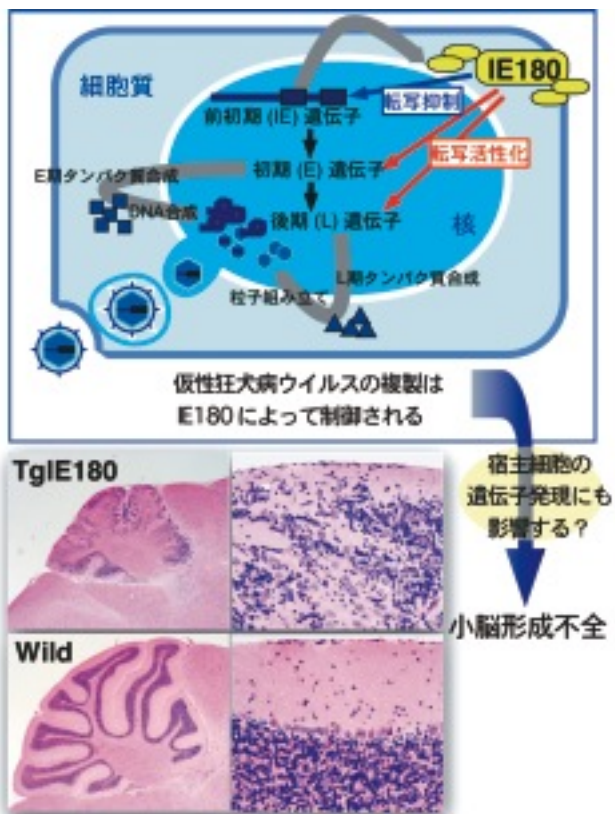


図3. 仮性狂犬病ウイルスの転写調節因子 IE180 を発現するトランスジェニックマウス (TgIE180) は小脳形成不全を呈する。
Fig. 3. The transgenic mice expressing IE180, transcription factor of pseudorabies virus, show cerebellar dysplasia.

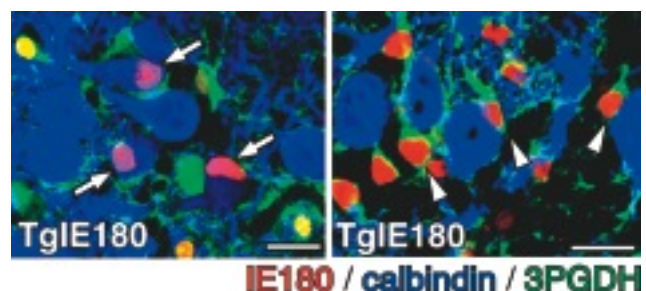


図4. TgIE180 小脳形成不全モデルにおいて IE180 (赤) は小脳のプルキンエ細胞 (青) やグリア細胞 (緑) の核で発現していた。IE180 発現細胞は未熟でしばしば変性しており、その結果として小脳の組織構築異常をもたらしている。
Fig. 4. IE180 (red) was expressed in nuclei of Purkinje cells (blue) and astroglial cells (green). These IE180-positive cells were immature and often degenerated, resulting in abnormality of cerebellar histoarchitecture.

免疫制御分野

研究課題

Th1/Th2免疫バランス制御法の開発とその癌、アレルギー、免疫病治療への応用



教授・薬学博士
西村 孝司



准教授・博士(地球環境科学)
北村 秀光



助教・博士(医学)
茶本 健司

免疫制御分野においては、免疫バランス制御の新しいパラダイムを世界に発信するとともに、その作用機序に関する分子メカニズムを解明することで、癌、アレルギー、自己免疫病などに対する新しい治療法の開発に結びつける研究を行っている。本成果によって、地域に密着した新しい医療バイオの発展に貢献することを目標としている。

(1)癌ワクチン・細胞治療に関する研究

癌抗原特異的な Th1 細胞の活性化を軸とした新しい癌免疫療法の開発を目指している。本研究に関わるテーマとして、(a) 癌特異的 Th1 細胞誘導法とその癌治療への応用；(b) 癌治療に有効な樹状細胞サブセットの同定；(c) 癌ワクチン療法の開発；(d) 癌の遺伝子治療法の開発；(e) NKT 細胞の抗腫瘍メカニズム；(f) 自然免疫と獲得性免疫の橋渡し機構；(g) 癌の免疫監視機構の解明などがある。

(2)免疫病治療に関する研究

Th1/Th2 免疫バランスの不均衡によって様々な免疫病が発症することが解明されてきている。本研究室では、劇症肝炎が Th1 細胞依存的に発症すること、気道アレルギーが Th2 細胞のみならず Th1 細胞でも発症すること

などを世界に先駆けて報告してきた。また、大腸炎発症における IL-17 産生 CD4⁺ T あるいは CD8⁺ T 細胞の恒常性破壊に発症機序についても解明した。

本研究室では、独自に開発した皮膚炎、アレルギー、肝障害、大腸炎、移植片拒絶反応などの動物モデルを利用して免疫疾患発症における免疫制御の新しいパラダイムを提唱するとともに、その分子メカニズムを明確にすると共に、Th1/Th2 免疫バランスの制御を利用した新たな免疫病治療法や免疫制御剤の開発を目指す。

(3)免疫バランス制御遺伝子の解明

Th1/Th2 バランスは遺伝子支配を受けていることが純系のマウスにおいて明確にされてきている。すなわち、同じ条件で感染あるいはアレルゲンに曝露させても、遺伝的に異なる個々の個体によって疾病の発現頻度や重症度は異なることが示されてきている。従って、もし、Th1/Th2 免疫バランス制御遺伝子を明確にできれば、個々の免疫体質に合わせた新しい治療法（テーラーメイドセラピー）の開発が可能になる。本研究室では、既に Th1/Th2 バランス診断に有用な DNA アレイを開発しており、ヒトの DNA アレイの開発も検討中である。

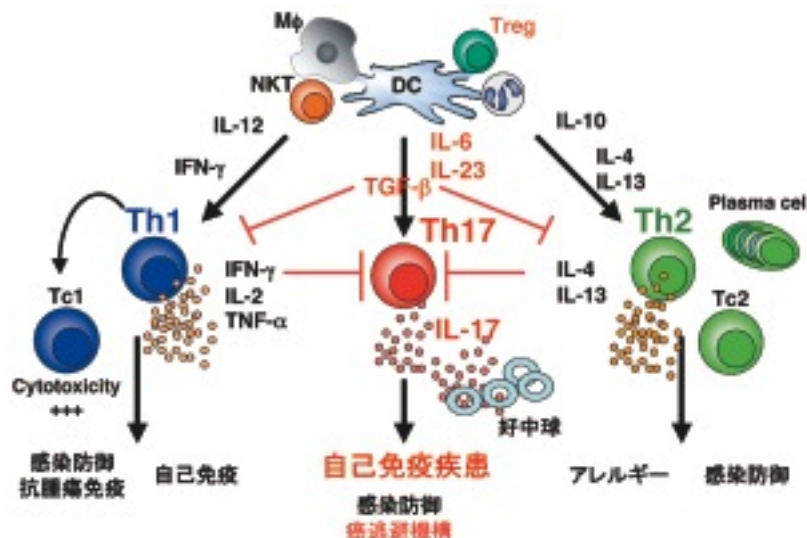


図 1. 免疫バランス制御の機序解明と疾患治療への応用

抗原提示を受けた CD4⁺ ヘルパー T 細胞 (Th0) は、細胞性免疫を活性化する Th1 細胞あるいは体液性免疫を活性化する Th2 細胞へと機能分化し、抗原の処理をコントロールする。しかし、その機構が過剰に活性化されると、Th1 の場合、肝障害などの炎症性免疫疾患などを引き起こし、Th2 の場合、アレルギーなどの原因となる。また TGF-β 等の抑制性サイトカインが産生される場では Treg や Th17 等が誘導され、大腸炎といった自己免疫疾患の発症等に関与している。これらの免疫バランスの制御が癌や免疫病の克服にとって重要である。

Fig. 1. Upon antigenic stimulation, CD4⁺ T helper cells (Th) can differentiate into functionally distinct two subtypes, Th1 cells and Th2 cells. Th1 and Th2 cells eliminate antigen through the activation of cellular immunity and humoral immunity, respectively, however, dysregulation of the balance between Th1- and Th2-type immunity may cause various immune diseases such as inflammatory autoimmune diseases (Th1) and allergy (Th2). Treg and Th17 are induced by immune suppressive cytokines, TGF-β and/or IL-6, which are closely related with various autoimmune diseases such as colitis. The control of immune-balance is essential for the therapy in cancer and various immune diseases.

Division of Immunoregulation

Research Project:

The control of Th1/Th2 immune balance and its application to immune diseases including tumor

Professor **Takashi NISHIMURA, Ph.D.**

Associated Professor **Hidemitsu KITAMURA, Ph.D.**

Assistant Professor **Kenji CHAMOTO, Ph.D.**

In this section, we have been investigating the role of regulation for Th1/Th2 immune balance and its application for immune diseases including tumor, allergy and autoimmune diseases.

(1) Tumor immunology

Our goal of tumor immunology is to develop a novel tumor immunotherapy using tumor-antigen specific T helper type I (Th1) cells in addition to cytotoxic T lymphocytes (CTL). The related research subjects are as follows; (a) Induction of tumor-specific Th1 cells and its application to tumor immunotherapy; (b) Identification of dendritic cell (DC) subsets useful for tumor immunotherapy; (c) Development of tumor-vaccine therapy; (d) Development of tumor-gene therapy; (e) Mechanisms of NKT cell-mediated tumor rejection; (f) Bridging between innate and acquired immunity; (g) Cancer immunosurveillance mechanisms.

(2) Immune diseases

It is now accepted that the imbalance of Th1/Th2 immunity becomes the cause of various immune diseases. Indeed, we first demonstrated that Th1 cells play a pivotal role in fulminant liver injury. Moreover, airway hypersensitivity was induced by Th1

cells as well as Th2 cells. Recently, we revealed the essential role of spontaneous proliferation (SP) on the subsequent generation of colitogenic T cells. In these projects, we will investigate the precise role of effector T cells including Th1, Th2, Th17 and Treg cells in the occurrence of immune diseases using our originally developed animal models of dermatitis, allergy, liver injury, colitis, and GVH diseases. We also pursue to develop a new immunotherapy through the control of Th1/Th2 immune balance.

(3) The evaluation of genetic factor involved in Th1/Th2 immune balance

It has been demonstrated that Th1/Th2 balance is genetically controlled in inbred mice. Namely, BALB/c mice prone to Th2 immunity and C57BL/6 mice prone to Th1 immunity show different susceptibility to infection and allergen. Therefore, if we can identify the gene(s) controlling Th1/Th2 balance, it will provide much contribution to develop a new immunotherapy, so called "tailor-made therapy" which is compatible to individual immune status. We also started developing a new strategy to identify Th1/Th2 status using DNA array system.

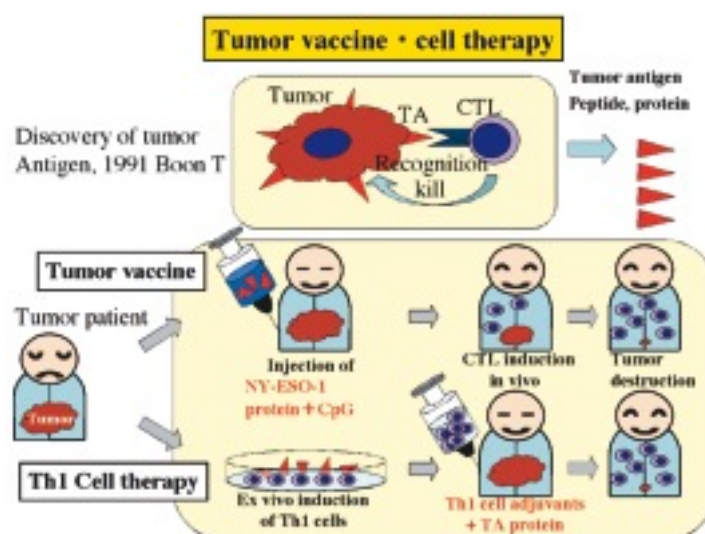


図2. がんトランスレーショナルリサーチ：癌ワクチン・細胞治療

北海道大学病院との共同でCpGと癌抗原タンパクをリポソームに封入させておこなう癌ワクチン療法を開始している。さらに癌特異的Th1細胞やPPD特異的Th1細胞を用いて細胞治療を実施される予定である。これらの臨床研究は世界で初めて実施される癌治療研究である。

Fig. 2. Translational research: Tumor vaccine · cell therapy

We are now planning to start clinical trial of our developed tumor vaccine · cell therapy. The tumor vaccine therapy using TLR-9-ligand, CpG and tumor protein encapsulated in liposome is starting at Hokkaido University Hospital. Th1 cell therapy using tumor-specific Th1 cells or PPD-specific Th1 cells is also planning to start clinical trial.

分子間情報分野

研究課題

細胞の極性形成の制御機構



教授・工学博士
田中 一馬



准教授・博士(理学)
鎌田このみ



助教・博士(バイオサイエンス)
山本 隆晴

癌細胞の特性に無限増殖能と浸潤・転移能があげられる。無限増殖能については細胞周期の異常という観点からとらえられており、様々な研究が展開されている。一方、癌細胞の浸潤や転移の過程には細胞の接着や形態、極性の異常や運動能の亢進等を伴うことが知られている(図1)。これらの細胞機能は接着分子、アクチンやチューブリン等の細胞骨格系、また、細胞内小胞輸送等がダイナミックかつ協調的に制御されることによって支えられていることが知られている(図2)。しかし、これらは時間的、空間的に複雑に制御されているため、その分子機構には明らかにされていないことが多い。当分野では、細胞骨格系の制御機構を中心にして以下の基礎研究を推進しており、将来はここで得た知見を癌細胞の浸潤や転移のメカニズムの解明に役立てたいと考えている。

1. 出芽酵母をモデルに用いた細胞極性形成機構の解析

出芽酵母は、出芽という一種の細胞極性形成過程を通

して増殖する。この過程はアクチン細胞骨格や膜の成長過程によって支えられており、上述した細胞機能の基本形が備わっていると考えられる。出芽酵母は分子遺伝学的な解析を容易に行うことができ、この点を利用して細胞の極性形成機構の解析を行っている(図3)。

2. リン脂質非対称性の細胞極性形成における役割の解明

細胞の形を保持する構造の一つである生体膜は、脂質分子(主にリン脂質)の二重層構造で成り立っている。二層膜の内側と外側ではリン脂質の構成比、分布が異なっており、リン脂質の非対称性と呼ばれている(図4)。リン脂質の非対称性は、リン脂質分子が脂質二重層を横切る動き(トランスロケーション)により調節されていると考えられているが、リン脂質の非対称性の制御機構やその生理的意義についてはまだ不明な点が多い。当分野では、このリン脂質の非対称性が細胞極性形成に関与していることを明らかにしており、細胞内小胞輸送(エンドサイトーシスとエキソサイトーシス)との関連に焦点を当てながら研究を推進している。

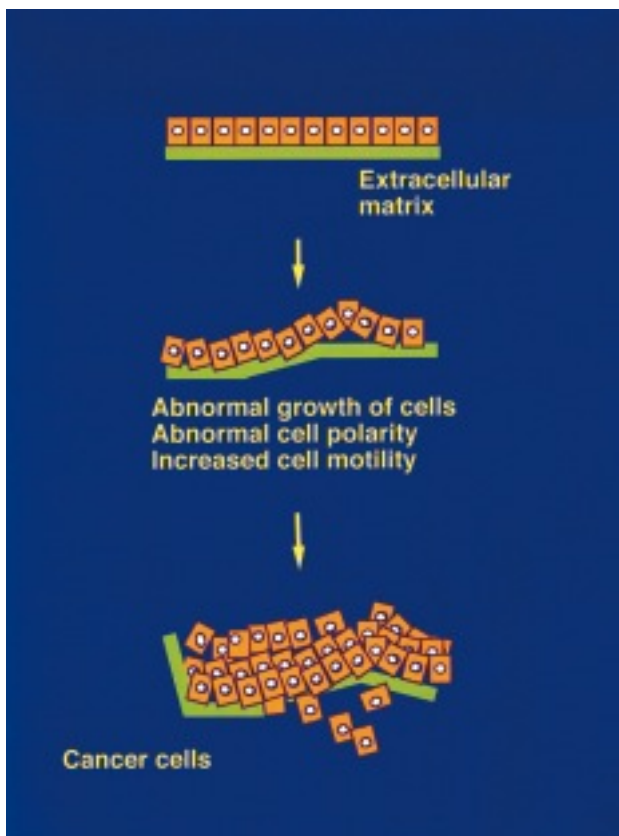


図1. 細胞の癌化。癌細胞の特性として、異常な細胞増殖と細胞極性の異常や細胞運動の亢進等が知られている。

Fig. 1. Cancer cells show abnormalities in cell growth and cell polarity, and enhanced cell motility.

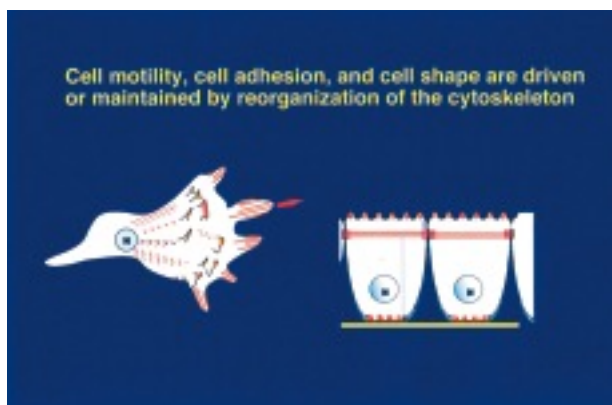


図2. 癌細胞は細胞の運動や接着、形等に異常を示すが、これらの細胞機能は基本的にはアクチン細胞骨格系(赤で示す)の再編成によって制御されている。従って、アクチン系の制御機構を知ることは細胞癌化のメカニズムを知る上で重要である。

Fig. 2. Cancer cells show abnormalities in cell motility, cell adhesion, and cell shape, which are dependent on the reorganization of the actin cytoskeleton (shown in red). It is important for cancer study to know the mechanism of reorganization of the actin cytoskeleton.

Division of Molecular Interaction

Research project:
Development of cell polarity

Professor **Kazuma Tanaka, Ph.D.**

Associate Professor **Konomi Kamada, Ph.D.**

Assistant Professor **Takaharu Yamamoto, Ph.D.**

Cancer cells have two distinguished characters: they grow in defiance of normal restraints and metastasize. Growth abnormality has been studied intensively in terms of cell cycle control. It seems that metastasis is promoted by abnormal cell-cell adhesion and cell polarity, and enhanced cell motility (Fig. 1). Cell adhesion, cell polarity, and cell motility are maintained or driven by co-operated regulation of cell adhesion molecules, cytoskeletal reorganization, and intracellular vesicle transport (Fig. 2). These cellular events are regulated in a temporally and spatially complex manner and much remains to be learned. We focus on molecular mechanisms of reorganization of the actin cytoskeleton.

1. Development of cell polarity in yeast

Cells of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* grow by budding. Budding is established by the formation of cell polarity and is driven by the reorganization of the actin cytoskeleton and vesicular transport. We study development of cell polarity by using the yeast

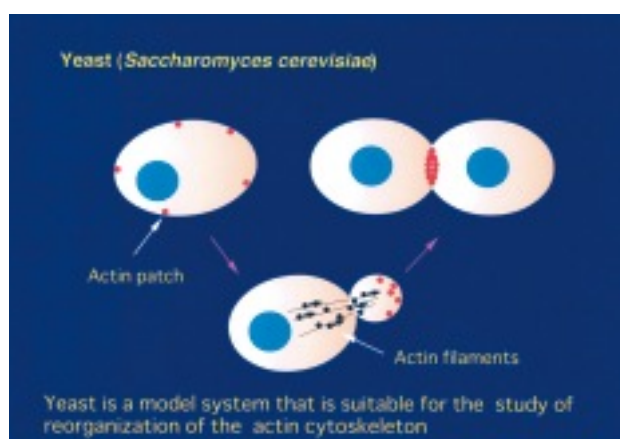


図3. 酵母は細胞生物学において重要なモデル生物である。出芽酵母は出芽と呼ばれる細胞極性形成過程によって増殖する。この出芽過程はアクチン細胞骨格の再編成によって支えられている。出芽酵母では分子遺伝学的な解析が迅速、かつ明確に行うことができ、細胞骨格系のように複雑な制御を受ける系の解析に適している。

Fig. 3. Yeast is an important model organism in cell biology. Yeast cells grow by budding, which is a process of cell polarization. This polarized growth is dependent on reorganization of the actin cytoskeleton. The yeast system is amenable to molecular genetic approach and is suitable for the analysis of reorganization of the cytoskeleton.

system, which is amenable to powerful molecular genetic studies (Fig. 3).

2. Role of membrane phospholipid asymmetry in development of cell polarity

Cell membranes consist of lipid bilayer and the most abundant membrane lipids are phospholipids. The phospholipid compositions of the two monolayers of the lipid bilayer in most cell membranes are strikingly different, which is called “phospholipid asymmetry” (Fig. 4). Phospholipid asymmetry is regulated by lipid translocation, movement across the lipid bilayer. However, the mechanism governing the establishment and regulation of phospholipid asymmetry as well as its physiological function in single cells are largely unknown. We study the role of phospholipid asymmetry in development of cell polarity.

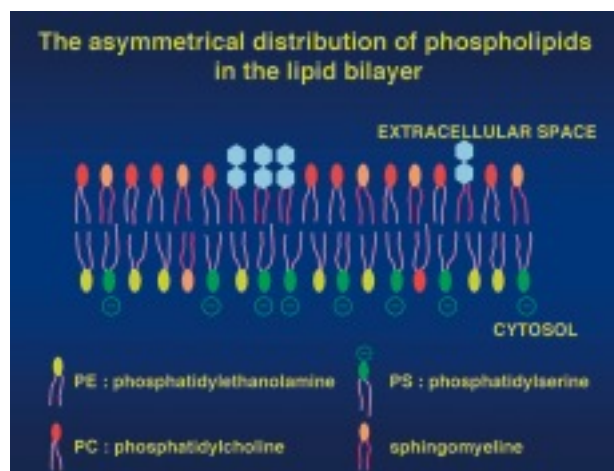


図4. 生体膜リン脂質の非対称性。脂質二重層から成る生体膜は、その内膜と外膜とでは構成成分であるリン脂質の組成が異なる。細胞形質膜では、外膜にフォスファチジルコリン (PC)、スフィンゴミエリン (SM) や糖脂質が、内膜にはフォスファチジルセリン (PS) やフォスファチジルエタノールアミン (PE) が多く存在する。脂質の非対称性の生理的意義は詳しくわかっていない。

Fig. 4. Phospholipid asymmetry in cell membranes. The phospholipid compositions of the two monolayers of lipid bilayer are strikingly different. In the plasma membrane, phosphatidylserine (PS) and phosphatidylethanolamine (PE) are enriched in the inner leaflet facing the cytoplasm, while phosphatidylcholine (PC), sphingomyelin (SM), and glycolipids are predominantly found in the outer leaflet. The physiological function of lipid asymmetry is largely unknown.

動物実験施設

研究課題

癌・免疫疾患モデル動物
および抗病性動物の開発



施設長(併)教授・理学博士

志田 壽利



(併)准教授・博士(獣医学)

森松 正美



(併)助教・博士(獣医学)

富岡 幸子

本施設は、遺伝子病制御研究所の共同利用施設として遺伝子病制御の研究に用いられる動物実験が高い精度と再現性をもって実施されることを目的として、2000年4月に設置された。その前身は、1976年に設置された免疫科学研究所附属免疫動物実験施設である。2008年4月に全面改修工事された施設が開設し、飼育管理設備が拡充された。本施設で実施される全ての動物実験は、北海道大学動物実験委員会による指導の下、科学的および動物福祉の観点からも適正に行われている。現在はマウスとラットの近交系動物や遺伝子操作動物（トランスジェニック動物、ノックアウト動物）を用いる実験、および国立大学法人動物実験施設協議会に定める「安全度2および3」の感染実験が行われている。施設内には一般的な動物飼育室の他、トランスジェニックマウス作製用実験室、学内利用のX線照射室、P3感染実験室、検疫室などが整備され、全館に空調設備が完備されている。



図1. 動物実験施設の設備

A: 空調設備制御装置 B: 両扉式オートクレーブ C: SPF 動物飼育室 D: P3 クラス感染実験室

Fig. 1. Experimental animal facilities and equipments.

A: Air conditioning systems. B: Double-door barrier autoclaves. C: SPF animal room. D: Biosafety level P3 room for animals experimentally infected with highly virulent microbes.



図2. 遺伝子組換えマウスを作製するための胚操作

Fig. 2. Germ cell manipulation to generate genetically engineered mice.

Laboratory of Animal Experiment

Research Project:

Generation of Animal Models for Cancer, Immune, and Infectious Diseases.

Director (Professor) **Hisatoshi SHIDA, Ph.D.**

Associate Professor **Masami MORIMATSU, D.V.M., Ph.D.**

Assistant Professor **Yukiko TOMIOKA, D.V.M., Ph.D.**

This laboratory was established for the husbandry of laboratory animals and for protection from biohazard due to the handling of infected animals. The laboratory consists of 14 SPF animal rooms, one infected animal room, and 19 attached rooms including a room for generation of transgenic mice. The SPF animal rooms have a capacity for keeping 6,000 healthy animals. Preventive management of general husbandry, circumstances predisposing to disease, and methods of facility sanitation, is provided continuously. The infected animal room has equipments to handle hazardous microorganisms of less than three on the risk classification grade after CDC in the USA.

感染癌研究センター

研究課題

感染に起因する癌の研究



センター長(併)教授・医学博士
畠山 昌則



准教授・医学博士
吉山 裕規

癌は、遺伝子に変異が集積することによって、細胞増殖の調節が不可能になって起こる病気である。しかし、その発生メカニズムについては、解明すべき問題点が多く存在する。慢性感染症が癌を引き起こすことは良く知られており、38%の癌が何らかの感染症に起因すると考えられている(表1)。本センターは、細菌やウイルス感染により発生する癌の発生メカニズムを解明し、癌の予防や治療法を確立することを使命として平成20年7月1日に設立された。

1. ウイルスによる発癌機構の研究

ワクチンや薬剤による特異的な予防治療法の開発されていないEBウイルスについて研究を行う。EBウイルスは成人に達するまでに90%以上の人々が感染する普遍的なウイルスである。初感染後、ウイルスは免疫細胞の監視を逃れてメモリーB細胞に潜伏持続感染している。EBウイルスは潜伏感染と増殖性の溶解感染の二つの感染様式を取る。

潜伏感染したEBウイルスはバーキットリンパ腫、ホジキン病、胃癌、上咽頭癌、鼻性Tリンパ腫、免疫不全者における日和見リンパ腫などの癌を惹き起こす(図1)。

1) EBウイルス陽性上皮性腫瘍の研究

EBウイルス陽性胃癌、上咽頭癌の発がんに関わるウイルス遺伝子を同定するとともに、その標的となる細胞側の癌関連遺伝子を決定し、EBウイルスによる発癌の分子メカニズムを解明する。ウイルスによる発癌は、感染から浸潤性の癌に至るまで、いくつものステップを経て進行すると考えられる(図2)。現在、がん化の初期メカニズムに関する新しい発見を行い、*vivo*で実際に起こっていることの確認中である。

2) 細胞性免疫を抑制するEBウイルス遺伝子の研究

EBウイルスゲノムのNhet領域にHLA class Iの発現低下を引き起こす遺伝子を見出している。この遺伝子

はEBウイルス感染細胞の免疫監視機構からの回避に働いていると考えられ、*in vitro*における不死化リンパ球形成におけるこの遺伝子の働きを研究する。

2. ウイルスと細菌の協働による発癌機構の研究

EBウイルス陽性胃癌の大部分は、中等度に萎縮性胃炎が進展した胃において、炎症が高度な萎縮境界近傍に好発する。慢性胃炎の原因の殆どはピロリ菌によるものであり、慢性萎縮性胃炎の進行に伴う炎症機転がEBウイルス陽性胃癌の発生に関わると考えられる(図3)。特に、EBウイルス陽性胃癌細胞がクローナルであることの原因を、ピロリ菌が賦与していると考え、実験を進行させている。

Epstein-Barr Virus	>100 million
Type B Hepatitis Virus	1.2-1.4 million
Type C Hepatitis Virus	1.0-2.0 million
Human T-Lymphotropic Virus I	1.2 million
Human Papilloma Virus	Unknown
<i>Helicobacter pylori</i>	50 million

表1. わが国における、癌との関連が明らかになっているウイルスまたは細菌に感染している者の概数(2006年度)。

Table 1. Estimated number of patients infected with virus or bacterium related to malignant tumors in Japan (2006).

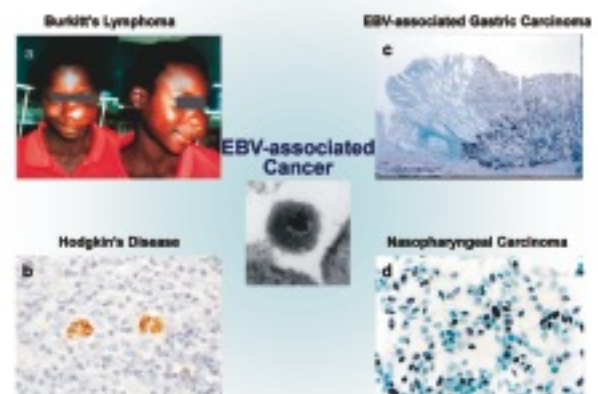


図1. EBウイルス感染と関連の深い癌のうち代表的なものを4つ示した。上顎部に大きな腫瘍(Burkitt's lymphoma)を持つ12歳のケニア人少年(a)。EBV-encoded RNAs (EBERs)がReed-Sternberg cells (b)や腫瘍細胞(c, d)の核に大量に検出される。Figure 1. Representative EBV-associated cancers. A 12 years old boy having a maxillary tumor (Burkitt's lymphoma) in Kenya (a). Detection of the highly abundant EBV-encoded RNAs (EBERs) in the nuclei of Reed-Sternberg cells (b) and tumor cells (c, d).

Center for Infection-associated Cancer

Research Project:

Research of cancer caused by infection.

Director **Masanori Hatakeyama, D. Med. Sci.**

Associate Professor **Hironori Yoshiyama, D. Med. Sci.**

Cancer is a disease showing disregulated cell-proliferation caused by the accumulation of genetic alterations. However, there are many unknowns about the mechanism of carcinogenesis. It is known that the chronic infection of some viruses and bacteria cause cancer (Table 1). Thirty-eight % of the cancer is thought to originate from infectious diseases. Our research center is founded on July 1, 2008 to establish the method for prevention and treatment of cancer that occurred by the viral and bacterial infection.

1. Research in the mechanism of viral carcinogenesis

We are focusing on Epstein-Barr virus (EBV), since there is no specific method for prevention and treatment of EBV-associated diseases. EBV is a ubiquitous virus, which infects more than 90% of the person by attaining adulthood. After the primary infection, EBV persistently infects to memory B cells and survives by evading from the immunological attacks. EBV is known to take two forms of infection, latent and lytic infection.

The persistently EBV-infected cells sometimes develop cancer, such as Burkitt's lymphoma, Hodgkin's disease, EBV-associated gastric carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, nasal T-lymphoma, and opportunistic lymphoma in the immunocompromised host (Fig. 1).

1) Research in EBV-associated epithelial tumors

The viral gene responsible for the genesis of EBV-associated gastric carcinoma and nasopharyngeal carcinoma will be identified. Moreover, the cellular genes related to the development of these tumors is going to be identified. And the molecular

mechanism of carcinogenesis by EBV will be clarified. Cancer associated with viral infection progresses from infection to the cell to the formation of invasive cancer through many steps (Fig. 2). We have recently discovered an initial event for EBV-related carcinogenesis, and our observation is now being confirmed in samples obtained from patients.

2) Research of an EBV gene controlling cell immunity

An EBV gene locating BamNhet region of EBV genome has been identified to reduce the expression of HLA class I molecules on the infected cells. This novel EBV gene is thought to help survive infected cell by evading from host immunosurveillance. We will clarify the mechanism of the viral gene using a system of in vitro infection and transformation of B lymphocytes by EBV.

2. Research in cooperation with virus and bacterium for carcinogenesis

Most (90%) of EBV-associated gastric carcinoma is surrounded by noncancerous gastric mucosa having intestinal metaplasia, which has been caused by *Helicobacter pylori*-infection. Thus, inflammation of gastric epithelia by *H. pylori*-infection should play a critical role in the genesis of EBV-associated gastric carcinoma (Fig. 3). Clonal expansion of a single EBV-infected progenitor cell, which was verified by the number of direct tandem repeats in the EBV genome, is well-known in EBV-associated epithelial tumors. However, the mechanism and agent that promote the monoclonal proliferation of the epithelium is unknown. *H. pylori* may be a possible agent.

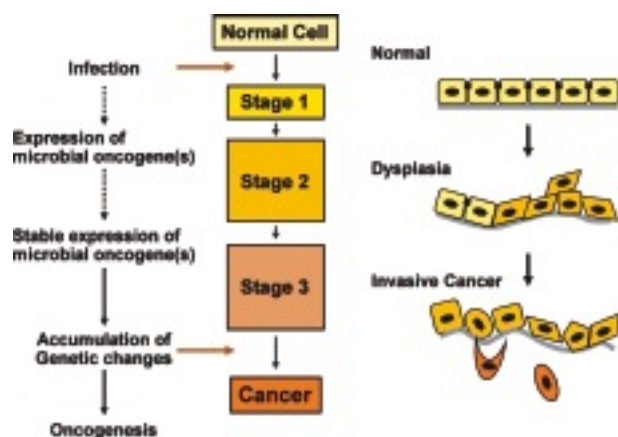


図2. 感染により正常細胞が変化し、腫瘍化するまでの発癌の多段階モデル。正常上皮細胞が浸潤性の癌に変化する様子。

Figure 2. A multi-step model of oncogenesis for infection-associated cancer. Progression to invasive cancer from normal epithelia.

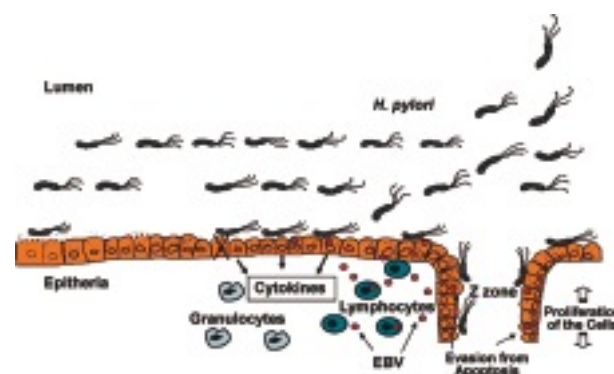


図3. *H. pylori* と接触した胃上皮細胞の放出する炎症性サイトカインが、EBV 感染Bリンパ球を含む免疫細胞浸潤を起こす。

Figure 3. Inflammation of gastric epithelia by *H. pylori*-infection induces cytokine release from epithelia, which may attract inflammatory blood cells including EBV-infected B lymphocytes.

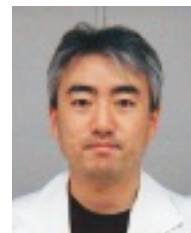
マトリックスメディスン研究部門

研究課題

細胞外マトリクス-インテグリン相互作用制御による疾患治療とそのメカニズムの解析



教授(兼務)
上出 利光



特任准教授・博士(医学)
松井 裕

マトリックスメディスン研究部門は民間企業3社の寄附により開設された寄附研究部門である。当部門は分子免疫分野の研究成果である「抗体医薬によるリウマチ等難病の新規治療法に関わる研究成果」をさらに発展すべく、2004年4月から5年間の予定で開設された。

近年、細胞外マトリクスは、細胞の接着を担うだけでなく、接着を通じて細胞運動、分化、増殖、生存等多くの細胞機能調節を積極的に司ることが分かってきた。また種々の病態で、細胞外マトリクスの発現亢進が観察され、細胞外マトリクスの機能を制御することにより疾患治療へと結びつくことも期待されている。当研究部門では分子免疫分野の研究の流れを受け継ぎ、細胞外マトリクスの中でも特にオステオポンチン(OPN)をはじめとする細胞接着性タンパク質に注目している。また、細胞接着性タンパク質の多くは、その受容体としてインテグリンと結合することが分かっている。当研究部門では、多くの疾患発症、増悪化に、細胞外マトリクス-インテグリン相互作用が関わっていると考え、これら相互作用を人為的に遮断させ、病態変化を観察することにより、炎症性及び難治性疾患発症メカニズムの解明、さらには新規治療法の開発を目指している(図1)。

研究プロジェクトは、大きく以下の3つである(図2)。

1. OPNに対する中和抗体を用いた疾患治療とその機序の解明

従来より分子免疫分野及び当部門では細胞外マトリクスの一つであるOPNに着目し、その様々な病態(リウマチ性関節炎、肝炎、動脈硬化、心臓線維化など)における役割の検討を行ってきた。その結果、OPN欠損マウスでは、肝炎、動脈硬化、心臓線維化の進展が抑制され

(図3)、またOPNの中和抗体により、リウマチ性関節炎、肝炎の発症が抑制されることを報告した。特に肝炎においてはNKT細胞が分泌するOPNがNKT細胞を更に活性化し、好中球の浸潤や活性化に重要な役割を果たしていることを報告した(図4)。今後、様々なエピトープに対するOPNの中和抗体を用いることにより、細胞外マトリクスとインテグリン相互作用の意義を詳細に解析し、疾患発症の機序を解明し、ヒトへの治療に応用したいと考えている。

2. $\alpha 9$ インテグリンの機能解析

トロンビンによりプロセッシングを受けたOPNは新たな受容体である $\alpha 9$ インテグリンと結合する。 $\alpha 9$ インテグリンは欠損マウスが生後数日で致死になり、また動物モデルで使用可能な中和抗体がなかったことから、その病態における機能は現在まで殆ど分かっていない。最近分子免疫分野では $\alpha 9$ インテグリンに対する中和抗体を樹立した。この抗体を用いて、様々な疾患における $\alpha 9$ インテグリンの機能解析を行い、疾患発症のメカニズムを解明し、新たな治療法を確立することを目指している。

3. 様々な細胞外マトリクスタンパクの機能解析

当部門では、OPN以外にもテネイシン-Cやシンデカン-4等の細胞外マトリクスタンパクが、OPN同様、インテグリンとの相互作用を介し、多くの疾患発症に関与していることを示唆する結果が得られている。これら細胞外マトリクスの病態における個々の役割の相違や、インテグリンとの相互作用の意義についても検討し、疾患発症の詳細なメカニズムを明らかにしたいと考えている。

これらの研究成果を元に、最終的にはヒト難治性疾患への新たな治療法開発へつなげたいと考えている。



図1. オステオポンチン-インテグリン相互作用とその制御による新規治療法の確立

Figure 1. Regulation of interaction between OPN and integrins for the therapy of the inflammatory and intractable diseases.

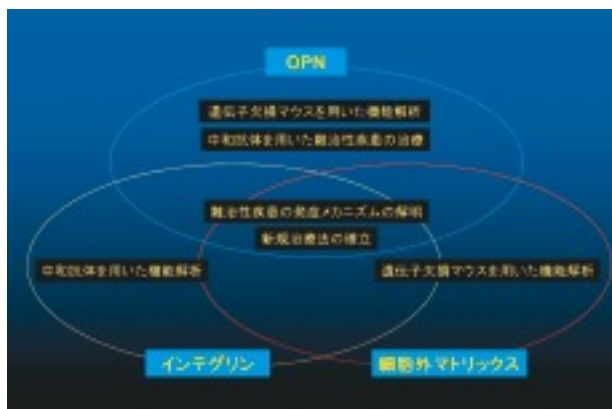


図2. マトリックスメディスン研究部門の研究プロジェクト
Figure 2. Our three major research projects.

Department of Matrix Medicine

Research Project:

Regulation of the Interaction between Extracellular Matrix proteins and Integrins for the Therapy of the Inflammatory and Intractable Diseases

Professor **Toshimitsu Uede, M.D., Ph.D.**

Associate Professor **Yutaka Matsui, M.D., Ph.D.**

This division is endowed by the three pharmaceutical companies to expand the researches regarding the therapy using antibody drug for rheumatoid arthritis in the division of molecular immunology. Extracellular matrix proteins have important roles in not only the adhesion, but also the motility, differentiation, proliferation, and survival of the cells, and recognized as an organizer of many cell functions. The expression of extracellular matrix proteins is upregulated in many diseases, and it is expected that the regulation of the upregulated extracellular matrix proteins leads to the control and healing of the pathogenesis of many diseases. We focused on the extracellular matrix proteins including osteopontin (OPN) and those receptors, integrins. The aim of this division is to develop a novel therapy against inflammatory and intractable diseases by regulation of the interactions between extracellular matrix proteins and integrins. We have three major research projects.

1. To develop the novel therapies and clarify the mechanisms of the inflammatory and intractable diseases using the neutralizing antibody against OPN.

The division of molecular immunology and our division have been focusing on the OPN, one of the extracellular matrix proteins, and examined the role of OPN in various diseases, such as rheumatoid arthritis, autoimmune hepatitis, atherosclerosis, and hypertrophic heart disease. We reported that the disease development of hepatitis induced by concanavalin-A

(Con-A), hyperlipidemic atherosclerosis, and cardiac fibrosis induced by angiotensin II were all inhibited in OPN null mice and that neutralizing antibody against OPN had therapeutic effects on the progression of rheumatoid arthritis and Con-A-induced hepatitis. Moreover, in Con-A-induced hepatitis, we showed that natural killer T (NKT) cells secreted OPN, which activated NKT cells, thereby triggered neutrophil infiltration and activation. We advance these findings, and try to both develop the novel therapies and explore the mechanisms of many inflammatory and intractable diseases by clarifying the importance of the interactions between OPN and integrins using different OPN neutralizing antibodies against various epitopes.

2. The functional analysis of $\alpha 9$ integrin

$\alpha 9$ integrin is the receptor for OPN cleaved by thrombin and may play a pivotal role in development of inflammatory disease. However, the function of $\alpha 9$ integrin is obscure, since $\alpha 9$ integrin deficient mice die shortly after birth due to the respiratory failure. Recently, the neutralizing antibody against $\alpha 9$ integrin has been established in the division of molecular immunology. We are trying to reveal the function of the $\alpha 9$ integrin in many inflammatory and intractable diseases using this antibody.

3. The roles of various extracellular matrix proteins

In addition to OPN, we are also interested in the roles of various extracellular matrix proteins, such as tenascin-C and syndecan-4, in many diseases. We want to examine not only the role of individual extracellular matrix protein under the pathological conditions but also the function of the interactions between various extracellular matrix proteins and integrins and clarify the whole picture of pathological mechanism.

We finally wish to apply these findings and results to develop the novel therapeutic strategy to treat the human inflammatory and intractable diseases.

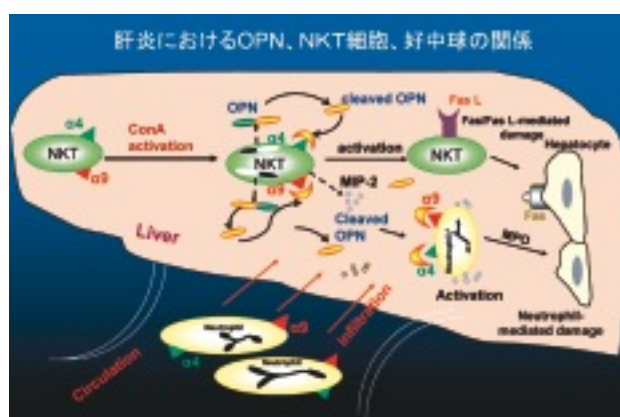


図3. 肝炎におけるオステオポンチン、NKT細胞、好中球の関係
NKT細胞が分泌するオステオポンチンがNKT細胞を更に活性化し、好中球の浸潤や活性化に重要な役割を果たしている。

Figure 3. Schematic Representation of the Link between OPN, NKT Cells, and Neutrophils in Con A-Induced Hepatic Injury.

After Con A-induced activation, NKT cells secrete OPN, which is presumably cleaved by thrombin in the liver. The interaction of NKT cells and the thrombin-cleaved form of OPN through its receptors further activates NKT cells. The thrombin-cleaved form of OPN, together with MIP-2, recruits neutrophils into the liver. Upon interaction of the thrombin-cleaved form of OPN with its receptors on neutrophils, the latter cells become activated and contribute to additional liver cell damage.

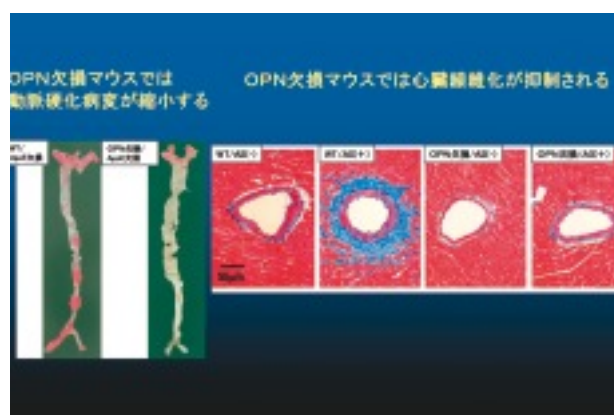


図4. オステオポンチンと心血管疾患

オステオポンチン欠損マウスでは、ApoE欠損による動脈硬化病変が縮小し、アンジオテンシンIIによる心臓線維化が抑制される。

Figure 4. OPN and cardiovascular disease.

OPN deficiency attenuated atherosclerosis in apolipoprotein E (ApoE) deficient mice and ameliorated the development of cardiac fibrosis induced by Angiotensin II (AII).

ROYCE' 健康バイオ研究部門

研究課題

新規生理活性物質による免疫バランスの制御と免疫疾患の克服



教授(兼任)・薬学博士
西村 孝司



特任助教・博士(医学)
富樫 裕二

先進国においては、科学技術のめざましい発展の代償として環境破壊が深刻な問題となっているが、それと同時にヒト体内環境、特に免疫バランス (type 1/type 2) も破綻し始め、アレルギー体質で、感染抵抗力の弱い子供たちが年々増加してきている。

ROYCE' 健康バイオ研究部門は、特に食の安心・安全と人々の健康に貢献すべく、免疫バランスの制御を軸とした研究開発を推進する寄付研究部門として2006年4月に㈱ロイズコンフェクトの寄付のもと開設された。そこで本研究部門では、人々が快適に暮らせる生活の創造に向けて、健康にとって重要な免疫バランスの制御による、がん、アレルギー、感染症、自己免疫病などの免疫疾患の克服を目指す研究を行う。また、地域連携型産学官共同プロジェクトを通じて、研究成果の社会貢献にも寄与する。研究は免疫制御分野との連携体制で推進する。

Regulation of 'Immune balance' is critical for our health

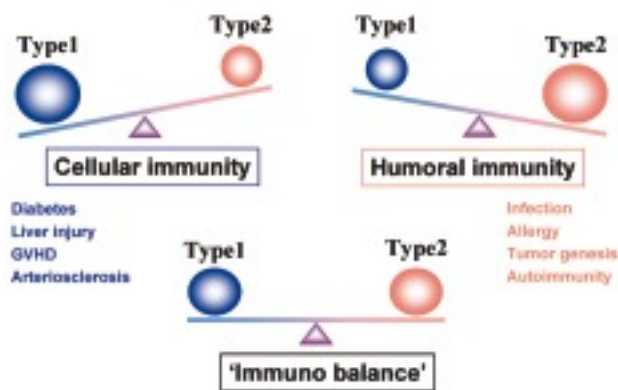


図1. 免疫バランスと免疫疾患

我々の健康維持にとって重要な働きをもつ免疫系は、抗原提示細胞とヘルパーT細胞間の相互作用を介して賦活化される細胞性免疫と体液性免疫の二つに分けられる。Th1細胞の活性化に伴うType1免疫応答は細胞性免疫を司るが、過度の活性化は糖尿病や肝障害等を引き起こす原因となる。一方、Th2細胞を介したType2免疫応答による体細胞性免疫の過度の活性化は、アレルギーやがんの発生を惹起する可能性がある。従って、様々な免疫病の予防、治療、克服には、Type1/Type2免疫バランスの制御が重要である。

Fig. 1. Immune balance and diseases.

Immune system, composed of Th1-mediated cellular (type 1) immunity and Th2-mediated humoral (type 2) immunity, is essential to maintain our health. Both type 1 and type 2 immunity is tightly controlled because excessive activation may cause various immune diseases such as diabetes and liver injury by type 1, and allergy and tumor genesis by type 2. Therefore, the regulation of the 'immune balance' between type 1 and type 2 immunity is critical for prevention and therapy of the immune diseases.

1. チョコレート等の食品に含まれる新規生理活性成分の探索研究

はじめに、チョコレート等などの食品の中に含まれ、免疫担当細胞に対して生理活性を有する物質をin vitro培養系にて探索する。さらにその生理活性物質を単離し、分子の同定を行う。またその免疫担当細胞に及ぼす効果を詳細に検討し、活性の作用機序を分子レベルで解明する。探索して得た生理活性物質の有用性を、マウスを用いた疾患モデルをもちいて検討しつつ、免疫バランス制御作用の生体内における機構解明を行うとともに、免疫疾患の克服に対して有用かどうかを判断する。

2. 農畜産物や海洋資源からの機能性物質の探索

前述の免疫バランスを制御する生理活性物質の探索を、農畜産物・海洋資源に広げて、それらの中から機能性物質の探索を行う。同様にそれらを用いた治療モデルの作出を行う。

3. ヒト免疫バランスの検索法確立とその制御による免疫疾患克服

ヒト免疫担当細胞の性状と免疫応答性を簡単に解析できる方法を確立する。得られる情報から個人の免疫バランスを健常人と比較できるシステムを整備し、アレルギーやがん、感染症などの免疫疾患の要因追求や予防法開発の研究を行う。最終的に、前述より得られた免疫バランスを制御する新規生理活性物質を用いて、免疫疾患の克服を目指したいと考えている。

4. 花粉症対策を通じた地域社会貢献

免疫バランスの破綻により、現在日本国民の約40%は何らかのアレルギー症状を有しており、約20%はスギ花粉症で悩まされている。幸い北海道、特に十勝にはスギが息せせず、十勝の上士幌町ではスギ花粉トリート(疎開)ツアーが始まっている。そこでスギ花粉症の人々の免疫バランスを健常人と比較検討しうるシステムを構築するとともに、花粉症発症の機序解明や予防法開発に関する研究を行う。このスギ花粉対策事業は地域住民の健康に寄与する活動のみならず、北海道の健康バイオ産業の活性化に貢献できるものと期待される。

以上の研究活動、社会貢献を通して、人が生きるために必要な「食」・「健康」・「環境」・「医療」を有機的に連携させた絶対基盤の構築を目指したいと考えている。

Department of ROYCE' Health Bioscience

Research Project:

Development of Novel Immunomodulators Useful for the Control of Immune Balance and Its Application to the Therapy of Immune Diseases

Professor **Takashi NISHIMURA, Ph.D.**

Assistant Professor **Yuji TOGASHI, Ph.D.**

Nowadays, our foods, environments, and life-style have been dramatically changing. The changes cause disruption of our body system in addition to environmental disruption. Especially, the disruption of immune balance, which is mainly controlled by two helper T cell subsets, results in the increase of new immunological disorders such as allergy, tumor genesis, infection, and autoimmunity. In order to resolve this serious social problem, it is necessary to develop some strategies to improve our immune balance in daily life. For this purpose, we are planning to search novel immunomodulators from food, marine or agricultural products, which are useful for maintaining the people's health by regulation of the 'immune balance' between type 1 and type 2 immunities.

1: Screening and identification of novel immune regulating materials from foods.

At first, we perform to screen novel materials to regulate immunological cells from various foods such as chocolate by using in vitro assay system. Next, the candidates are tried to identify as peptides, nucleotides, lipids, and so on. Then, the molecular mechanisms to regulate the function of immunological cells are investigated, in detail. According to the results, the immunomodulators are tested in the suitable animal models to evaluate the usefulness as a tool in therapy for various immune diseases.

2: Screening novel compounds from marine and agricultural products.

In addition to foods, we are also trying to search novel materials to regulate immunological cells from various marine and agricultural products

such as some mushrooms and sea sponges by the same assay system as mentioned above.

3: Diagnosis for immune-balance and application of the novel immunomodulators for the therapy in immune diseases.

We will set up simple methods to judge the 'immune balance' state based on the characterization of immunological cells from patients, and then, develop the system of diagnosis to check people's health. According to the results of the diagnosis, we will finally try to investigate whether the novel immune balance regulating materials are able to use for therapy in various immune diseases.

4: Contribution to local society by control of allergy to Japanese cedar pollen

Because of the disruption of immune balance, approximately forty percent of Japanese people have some allergy, whose half is suffering from the allergy to Japanese cedar pollen. Fortunately, Hokkaido, especially Tokachi area does not have any Japanese cedar trees, therefore immuno-healing tour to Kamishihoro-town in Tokachi has just begun to escape the allergy. In addition to construction of the system of diagnosis as described above, we will work on the elucidation of the molecular mechanism as well as prevention of the allergy. This project would not only contribute to health of the people but also promote the industries for bioscience.

Finally, we are aiming to construct the novel combination of food, health, and environment with medical treatment, which is essential to people's lives, through our research works and the contribution to society

Screening of novel immunomodulators based on chemical biology

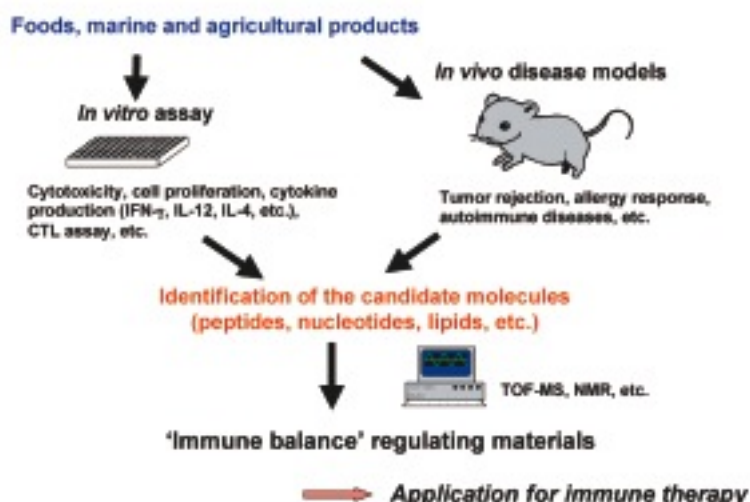


図2. ケミカルバイオロジーによる免疫バランス制御因子の探索

北海道の農水畜産物より得られる食品素材より、免疫バランスを制御できる機能性成分を簡便な試験管内評価法により検索する。さらに、生体レベルでの免疫疾患の改善効果を検証するとともに、TOF-MS解析などにより、生理活性物質の同定を行なう。

Fig. 2. Outline of the screening of novel 'immune balance' regulating materials based on chemical biology.

Various farm, agricultural, and fish products from industries at Hokkaido will be screened by in vitro or in vivo assay for immune regulation. The novel immune regulating materials will be further identified by TOF-MS or other analysis.

教育活動

本研究所教員は、大学院医学研究科、大学院理学院、大学院獣医学研究科及び大学院生命科学院を担当し、履修し得る大学院コースは、医学研究科修士課程及び博士課程、理学院修士課程及び博士後期課程、獣医学研究科博士課程並びに生命科学院修士課程及び博士後期課程のコースがある。それぞれの教員は次の科目を担当している。

Education Activities

Academic staffs of Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University are in charge of education for Graduate School of Medicine, Graduate School of Science, Graduate School of Veterinary Medicine or Graduate School of Life Science. Students can take Master Course and Doctor Course of Graduate School of Medicine, Master Course and Doctor Course of Graduate School of Science, Doctor Course of Graduate School of Veterinary Medicine, and Master Course and Doctor Course of Graduate School of Life Science.

大学院医学研究科 病態制御学専攻

専攻科目	共通科目	担当教員
感染病態学研究	感染学技法：「ウイルス解析法」、「病原宿主解析法」	教授 志田 壽利 准教授 大橋 貴
免疫生物学研究	免疫科学技法：「免疫応答解析法」、「免疫細胞解析法」	教授 小野江和則 准教授 岩瀬 和也
免疫制御学研究	免疫科学技法：「免疫活性物質解析法」	教授 西村 孝司 准教授 北村 秀光
分子免疫学研究	免疫科学技法：「免疫細胞解析法」	教授 上出 利光

大学院医学研究科 癌医学専攻

専攻科目	共通科目	担当教員
癌生物学研究	細胞機能解析法：「細胞機能解析法」	教授 野口 昌幸
癌ウイルス学研究	感染学技法：「ウイルス解析法」	教授 高田 賢藏 准教授 吉山 裕規 准教授 丸尾 聖爾
癌関連遺伝子学研究	腫瘍細胞解析学：「癌遺伝子解析法」	教授 守内 哲也 准教授 浜田 淳一 准教授 多田 光宏

大学院理学院 化学専攻

専攻科目	担当教員
生物化学特論、論文購読Ⅰ～Ⅴ、特別研究Ⅰ～Ⅴ	教授 畠山 昌則
論文購読Ⅰ～Ⅴ、特別研究Ⅰ～Ⅴ	准教授 東 秀明
生命化学特論	教授 高岡 晃教

大学院獣医学研究科 獣医学専攻

専攻科目	担当教員
人獣共通感染症制御学演習、実験動物学	准教授 森松 正美

大学院生命科学院 生命科学専攻

専攻科目	担当教員
細胞機能科学概論、細胞動態バイオイメーjing特論	教授 田中 一馬
生命システム科学基礎論、細胞動態バイオイメーjing特論	准教授 鎌田このみ

代表論文 ; Selected Paper

○癌ウイルス分野

1. Reconstitution of nasopharyngeal carcinoma-type Epstein-Barr virus infection induces tumorigenicity. Seto E, Ooka T, Middeldorp J, Takada K. *Cancer Res.* 2008 68(4): 1030-1036.

2. Epstein-Barr virus-encoded small RNA (EBER) induces IL-10 through RIG-I-mediated IRF-3 signaling. Samanta M, Iwakiri D, Takada K. *Oncogene* 2008 27(30): 4150-4160.

3. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA 2 (EBER2) but not EBER1 plays a critical role in EBV-induced B-cell growth transformation. Wu Y, Maruo S, Yajima M, Kanda T, Takada K. *J. Virol.* 2007 81(20): 11236-11245.

○癌関連遺伝子分野

1. BlotGlycoABCTM, an integrated glycoblotting technique for rapid and large scale clinical glycomics. Miura Y, Hato M, Shinohara Y, Kuramoto H, Furukawa J, Kuroguchi M, Shimaoka H, Tada M, Nakaniishi K, Ozaki M, Todo S, Nishimura S. *Mol Cell Proteomics.* 2008 7(2): 370-377.

2. All-trans retinoic acid enhances murine dendritic cell migration to draining lymph nodes via the balance of matrix metalloproteinases and their inhibitors. Darmanin S., Chen J., Zhao S., Cui H., Shirkooh, R., Kubo N., Kuge Y., Tamaki N., Nakagawa K., Hamada J., Moriuchi T. and Kobayashi M. *J. Immunol.*, 2007 179(7): 4616-4625.

3. HOXC6 and HOXC11 increase transcription of S100beta gene in BrdU-induced in vitro differentiation of GOTO neuroblastoma cells into Schwannian cells. Zhang X, Hamada J, Nishimoto A, Takahashi Y, Murai T, Tada M, Moriuchi T, *J Cell Mol Med.* 2007 11(2): 299-306.

○分子生体防御分野

1. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. Takaoka A, Wang Z, Choi MK, Yanai H, Negishi H, Ban T, Lu Y, Miyagishi M, Kodama T, Honda K, Ohba Y, Taniguchi T. *Nature.* 2007 448: 501-505.

2. Regulation of innate immune responses by DAI (DLM-1/ZBP1) and other DNA-sensing molecules. Wang Z, Choi MK, Ban T, Yanai H, Negishi H, Lu Y, Tamura T, Takaoka A, Nishikura K, Taniguchi T. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008 105: 5477-5482.

3. Critical role for constitutive type I interferon signaling in the prevention of cellular transformation. Chen HM, Tanaka N, Mitani Y, Oda E, Nozawa H, Chen JZ, Yanai H, Negishi H, Choi MK, Iwasaki T, Yamamoto H, Taniguchi T, Takaoka A. *Cancer Sci.* 2008 Dec 14. [Epub ahead of print]

○分子免疫分野

1. Osteopontin regulates development and function of invariant natural killer T cells.

Diao H, Iwabuchi K, Li L, Onoe K, Van Kaer L, Kon S, Saito Y, Morimoto J, Denhardt DT, Rittling S, Uede T. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 105(41): 15884-15889.

2. Syndecan-4 protects against osteopontin-mediated acute hepatic injury by masking functional domains of osteopontin.

Kon S, Ikese M., Kimura C, Aoki M., Nakayama Y, Saito Y, Kurotaki D, Diao H, Matsui Y, Segawa T, Maeda M., Kojima T, Uede T. *J Exp Med.* 2008 205(1): 25-33.

3. Osteopontin small interfering RNA protects mice from fulminant hepatitis.

Saito Y, Kon S, Fujiwara Y, Nakayama Y, Kurotaki D, Fukuda N, Kimura C, Kanayama M, Ito K, Diao H, Matsui Y, Komatsu Y, Ohtsuka E, Uede T. *Hum Gene Ther.* 2007 18(12): 1205-14.

○癌生物分野

1. Proto-oncogene TCL1: more than just a coactivator for Akt.

Noguchi M, Ropars V, Roumestand C, Suizu F. *FASEB J* 2007 21(10): 2273-2284.

2. Regulation of the PI3K-Akt Network: Current Status and a Promise for the Treatment of Human Diseases.

Noguchi M, Obata T, Suizu F. *Curr Sig. Thera* 2008 3(2): 138-151.

3. The death effector domain-containing DEDD supports S6K1 activity via preventing Cdk1-dependent inhibitory phosphorylation.

Kurabe N, Arai S, Nishijima A, Kubota N, Suizu F, Mori M, Kurokawa J, Kondo M, Miyazaki, Ide T, Murakami K, Miyake K, Ueki K, Koga H, Yatomi Y, Tashiro F, Noguchi M, Kadowaki T, Miyazaki T. *J. Biol. Chem.*, Dec 2008; doi:10.1074/jbc.M808598200

○感染病態分野

1. Activation and Detection of HTLV-I Tax-specific CTLs by Epitope expressing Single-Chain Trimers of MHC Class I in a rat model.

Ohashi T, Nagai M, Okada H, Takayanagi R, Shida H. *Retrovirology* 2008 5: 90

2. Immunogenicity of newly constructed attenuated vaccinia strain LC16m8Δ that expresses SIV Gag protein.

Suzuki H, Kidokoro M, Fofana IS, Ohashi T, Okamura T, Matsuo K, Yamamoto N, Shida H. *Vaccine In press*

3. Enhanced Replication of Human T-cell Leukemia

Virus Type 1 in T Cells from Transgenic Rats Expressing Human CRM1 That Is Regulated in a Natural Manner.

Takayanagi R, Ohashi T, Yamashita E, Kurosaki Y, Tanaka K, Hakata Y, Komoda Y, Ikeda S, Tsunetsugu-Yokota Y, Tanaka Y, Shida H. *J. Virol.* 2007 81(11): 5908-5918.

○分子腫瘍分野

1. Helicobacter pylori CagA targets PAR1/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity.

Saadat, I., Higashi, H., Obuse, C., Umeda, M., Murata-Kamiya, N., Saito, Y., Lu, H., Ohnishi, N., Suzuki, A., Ohno, S. and Hatakeyama, M. *Nature*, 447, 330-333 (2007)

2. Transgenic expression of Helicobacter pylori CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse.

Ohnishi, N., Yuasa, H., Tanaka, S., Sawa, H., Miura, M., Matsui, A., Higashi, H., Musashi, M., Iwabuchi, K., Suzuki, M., Yamada, G., Azuma, T. and Hatakeyama, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 1003-1008 (2008)

3. Helicobacter pylori CagA interacts with E-cadherin and deregulates the β -catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells.

Murata-Kamiya, N., Kurashima, Y., Teishikata, Y., Yamahashi, Y., Saito, Y., Higashi, H., Aburatani, H., Peek, R. M., Jr., Azuma, T. and Hatakeyama, M. *Oncogene*, 26, 4617-4626 (2007)

○免疫生物分野

1. Osteopontin aggravates experimental autoimmune uveoretinitis in mice.

Kitamura M, Iwabuchi K, Kitaichi N, Kon S, Kitamei H, Namba K, Yoshida K, Denhardt DT, Rittling S, Ohno S, Uede T, Onoé K.: *J Immunol.* 2007 178: 6567-6572.

2. Enhanced IL-10 production by TLR4 and TLR2 primed dendritic cells upon TLR restimulation.

Yanagawa Y, Onoé K. *J Immunol.* 2007 178: 6173-6180.

3. Selective synergy in anti-inflammatory cytokine production upon cooperated signaling via TLR4 and TLR2 in murine conventional dendritic cells.

Hirata N, Yanagawa Y, Ebihara T, Seya T, Uematsu S, Akira S, Hayashi F, Iwabuchi K, Onoé K. *Mol Immunol.* 2008 45, 2734-2742.

○免疫制御分野

1. IL-6-dependent spontaneous proliferation is required for the induction of colitogenic IL-17-producing CD8⁺ T cells.

Tajima M, Wakita D, Noguchi D, Chamoto K, Yue Z, Fugo K, Ishigame H, Iwakura Y, Kitamura H, Nishimura T. *J Exp Med.*205(5): 1019-27.(2008)

2. CpG-ODN inhibits airway inflammation at effector phase through down-regulation of antigen-specific Th2-cell migration into lung.

Ashino S, Wakita D, Zhang Y, Chamoto K, Kitamura H, Nishimura T. *Int Immunol.*20(2): 259-66.(2008)

3. Combination immunotherapy with radiation and CpG-based tumor vaccination for the eradication of radio- and immuno-resistant lung carcinoma cells.

Chamoto K, Takeshima T, Wakita D, Ohkuri T, Ashino S, Omatsu T, Shirato, H, Kitamura H, Nishimura T. *Cancer Science.* in press

○分子間情報分野

1. Transbilayer phospholipid flipping regulates Cdc42p signaling during polarized cell growth via Rga GTPase-activating proteins.

Saito K, Fujimura-Kamada K, Hanamatsu H, Kato U, Umeda M, Kozminski KG, Tanaka K. *Dev Cell* 2007 13(5): 743-751.

2. Protein kinases Fpk1p and Fpk2p are novel regulators of phospholipid asymmetry.

Nakano K, Yamamoto T, Kishimoto T, Noji T, Tanaka K. *Mol Biol Cell*, 2008 19(4): 1783-1797.

3. Endocytic recycling in yeast is regulated by putative phospholipid translocases and the Ypt31p/32p-Rcy1p pathway.

Furuta N, Fujimura-Kamada K, Saito K, Yamamoto T, Tanaka K. *Mol Biol Cell.* 2007 18(1): 295-312.

○附属動物実験施設

1. Cerebellar pathology in transgenic mice expressing the pseudorabies virus immediate-early protein IE180. Tomioka Y, Miyazaki T, Taharaguchi S, Yoshino S, Morimatsu M, Uede T, Ono E, Watanabe M. *Eur J Neurosci.* 2008 27(8): 2115-2132.

2. Comparison of the antiviral potentials among the pseudorabies-resistant transgenes encoding different soluble forms of porcine nectin-1 in transgenic mice.

Ono E, Tomioka Y, Watanabe Y, Amagai K, Morimatsu M, Shinya K, Cherel P. *J Gen Virol.* 2007 88(10): 2636-2641.

○附属感染癌研究センター

1. Linking epithelial polarity and carcinogenesis by multitasking Helicobacter pylori virulence factor CagA.

Hatakeyama M. *Oncogene*, 2008 27(55), 7047-7054.

2. Symmetrical localization of extrachromosomally replicating viral genomes on sister chromatids.

Kanda T, Kamiya M, Maruo S, Iwakiri D, Takada K. *J Cell Sci.* 2007 120(Pt 9): 1529-1539.



Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University 2008