

北海道大学
遺伝子病制御研究所概要

INSTITUTE FOR GENETIC MEDICINE

2012-2013



● 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
幹細胞生物学分野 Division of Stem Cell Biology	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	20
感染病態分野 Division of Molecular Virology	22
分子腫瘍分野 Division of Molecular Oncology	26
免疫生物分野 Division of Immunobiology	30
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	32
免疫制御分野 Division of Immunoregulation	34
分子間情報分野 Division of Molecular Interaction	36
附属施設	
Attached Facility	
附属動物実験施設 Laboratory of Animal Experiments	38
附属感染癌研究センター Research Center for Infection-associated Cancer	40
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	44
ROYCE' 健康バイオ研究部門 Department of ROYCE' Health Bioscience	48
プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門 Department of Probiotics Immunology	50
共同利用・共同研究推進室	
Joint Usage / Research Center Promotion Office	54
● 教育活動	
Education Activities	56
● 代表論文	
Selected Paper	57
● 北海道大学配置図	
Campus Map of Hokkaido University	

目次

Contents

目的と使命



所長
高岡 晃教



副所長
清野研一郎

北大のフロンティア精神をもって生命科学に新しい世界を切り拓く

北海道大学遺伝子病制御研究所 (Institute of Genetic Medicine; IGM) のDNAには、歴史的に2つの特徴的なオリジンを見ることが出来ます。今から遡ること60年を超える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、ヒト疾患の病因、病態解明とその予防、治療法への応用を目的として2000年4月に発足しました。ヒト疾患の多くは、先天的あるいは後天的な遺伝子レベルの異常を伴い、また、ウイルス感染症やその関連疾患も、ウイルス遺伝子によって引き起こされます。生命現象の生理的な役割についての仕組みを分子レベルから個体レベルで解析し、一方で、研究所の歴史的なバックグラウンドをさらに発展させた形で、主に感染症、免疫疾患やがんなどの疾患に着目し、その病気のメカニズムについて解明し、疾患予防や治療の新しいストラテジーを見出すことに貢献できるような基礎医学の先端的研究を推進しています。

現在のIGMの研究体制としましては、病因研究部門、病態研究部門、疾患制御研究部門の3部門に渡る11の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、さらに3つの寄附研究部門を加えた形で構成されています。また、IGMは、医学部・医学研究科、理学部・理学院、総合化学院、生命科学院の協力講座として、常時50名を超える修士および博士課程の大学院生や留学生の受入を行っている他、歯学部や農学部、理学部などの学部学生や大学院生の受入研究も積極的に行い、極めて多種多様なバックグラウンドを有する大学院生が、学際的、国際的な環境で40名近くの教員の指導の下、研究に切磋琢磨しています。総勢150名近くの構成メンバーから成るIGMは、東日本最大の生命医科学研究拠点の1つであります。また、2010年より「細菌やウイルスの持続性感染により発生する感染癌の先端的研究拠点」として文部科学省の全国共同利用・共同研究拠点の1つに認定され、特に共同研究を通じて関連研究者コミュニティの研究基盤を提供し、相互に新たな学術研究の展開をもたらすことを目指しています。

大学や研究を取り巻く環境は近年大きく変化しつつありますが、IGMが基本的に目指している方向性は、前述した歴史的な2つの主要なオリジンに基づいていることはいまでもありません。歴史有る北海道大学の附置研究所としてIGMが果たす役割は、先人の北海道開拓に対する強い願いに学び、このような開拓者精神をもって決して立ち止まることなく、独創的な切り口で長期的な視野に立って粘り強く研究を推進させ、生命医科学に新しい世界を切り拓くことであると考えています。研究所全体が一元となり、人々が幸せになる健康社会が維持できるよう、全力で基礎研究に取り組み、そして世界へ発信する活動を展開して参りたいと思います。さらにリーダーシップを備えた国際的に活躍できる若手研究者の育成にも積極的に取り組んで行きたいと考えております。

平成24年 8月

北海道大学遺伝子病制御研究所長 高岡 晃教

Aim and Mission

Opening a new window on the life science with the frontier spirit of Hokkaido University

The “DNA” of IGM (Institute for Genetic Medicine) is derived from two historical origins: “Institute of Immunological Science” with the sixty-year history and “Cancer Institute affiliated with the School of Medicine” with the forty-year history. It was established by unifying these two mother facilities into a middle-sized research organization for human life science. Since its founding in 2000, IGM has been committed to basic research for medicine by determining molecular mechanisms of biological processes in health and disease. In particular, our main focus is on better understanding about molecular pathogenesis of infectious diseases, immune disorders and cancers to provide a novel strategy for disease prevention and therapy.

The institute consists of eleven key laboratories, a research section for infection-associated cancer, and an affiliated animal facility. Nearly forty faculty members are working with more than 50 domestic and foreign post-docs/graduate students from Graduate Schools of Medicine, Chemical Sciences and Engineering, Science, and Life Science. IGM is also open to undergraduates and PhD students from other Schools/Graduate Schools of Dental Medicine, Agriculture, Science etc. The institute, which is one of the largest research organizations in the Northeastern part of Japan, has a total of nearly 150 members with such different backgrounds and adheres to the highest scientific standards and emphasis on a multidisciplinary, interdisciplinary approach. In 2010 IGM got certified by Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology as a research center for infection-associated cancers, which are caused by persistent infection with bacteria or viruses. This program aims to facilitate collaboration and communication among the related scientists, and to develop relationships with external scientists and community in pursuit of new collaborations and initiatives.

Our direction of the road ahead is fundamentally based on the two above-mentioned origins of its DNA. The mission of our IGM teaching staffs is to play a key leadership role in continual pursuit of research excellence from a unique and long-term view. Hopefully, we will open a new window on the life science with our frontier spirit of Hokkaido University. In addition, we believe that education, which is inseparable from research, is also an essentially important commitment of us. Our IGM staffs should go on a mission to offer an excellent research environment for undergraduates, PhD students and post docs to train themselves and become independent scientists not only with a worldwide leaderships in basic research for medicine, but also with high morals in contributing to the health of our communities.

2012.8

Director, Institute for Genetic Medicine,
Hokkaido University
Akinori TAKAOKA, 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。
- 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。

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
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
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 Experiments Discontinued, Center for Virus Vector Development Established, Center for Infection-associated Cancer
平成22. 4. 1	共同利用・共同研究拠点「細菌やウイルスの持続性感染により発生する感染癌の先端的研究拠点」として認定された。	2010. 4	Authorized as a joint usage/research center for infection-associated cancers caused by sustained infection with bacteria and viruses.
平成22. 4. 1	共同利用・共同研究推進室が設置された。	2010. 4	Established, Joint Usage/Research Center Promotion Office in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University
平成22. 4. 1	融合プログラム連携室が設置された。	2010. 4	Established, Joint Office for Promoting Interdisciplinary Research in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University
平成23. 9. 1	寄附研究部門「プロバイオティクス・イムノロジー研究部門」が設置された。	2011. 9	Established, Department of Probiotics Immunology as Endowed Department in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University

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	大里外譽郎	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	大里外譽郎	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	大里外譽郎	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～平成22. 3.31
4代	田中 一馬	平成22. 4. 1～平成24. 3.31
5代	高岡 晃教	平成24. 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. 4-2010. 3
Kazuma TANAKA, Ph.D.	2010. 4-2012. 3
Akinori TAKAOKA, M.D.,Ph.D.	2012. 4-

免疫科学研究所附属免疫動物実験施設歴代施設長

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

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

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

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～平成24. 3.31
 5代 森松 正美 平成24. 4. 1～

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

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. 7-2012. 3
 Masami MORIMATSU, D.V.M.,Ph.D. 2012. 4-

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

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

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

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癌研究センター歴代センター長

初代 畠山 昌則 平成20. 7. 1～平成21. 6.30
 2代 高岡 晃教 平成21. 7. 1～平成24. 3.31
 3代 田中 一馬 平成24. 4. 1～

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

Masanori HATAKEYAMA, M.D., Ph.D. 2008. 7-2009. 6
 Akinori TAKAOKA, M.D.,Ph.D. 2009. 7-2012. 3
 Kazuma TANAKA, Ph.D. 2012. 4-

名 誉 教 授

Professor Emeritus

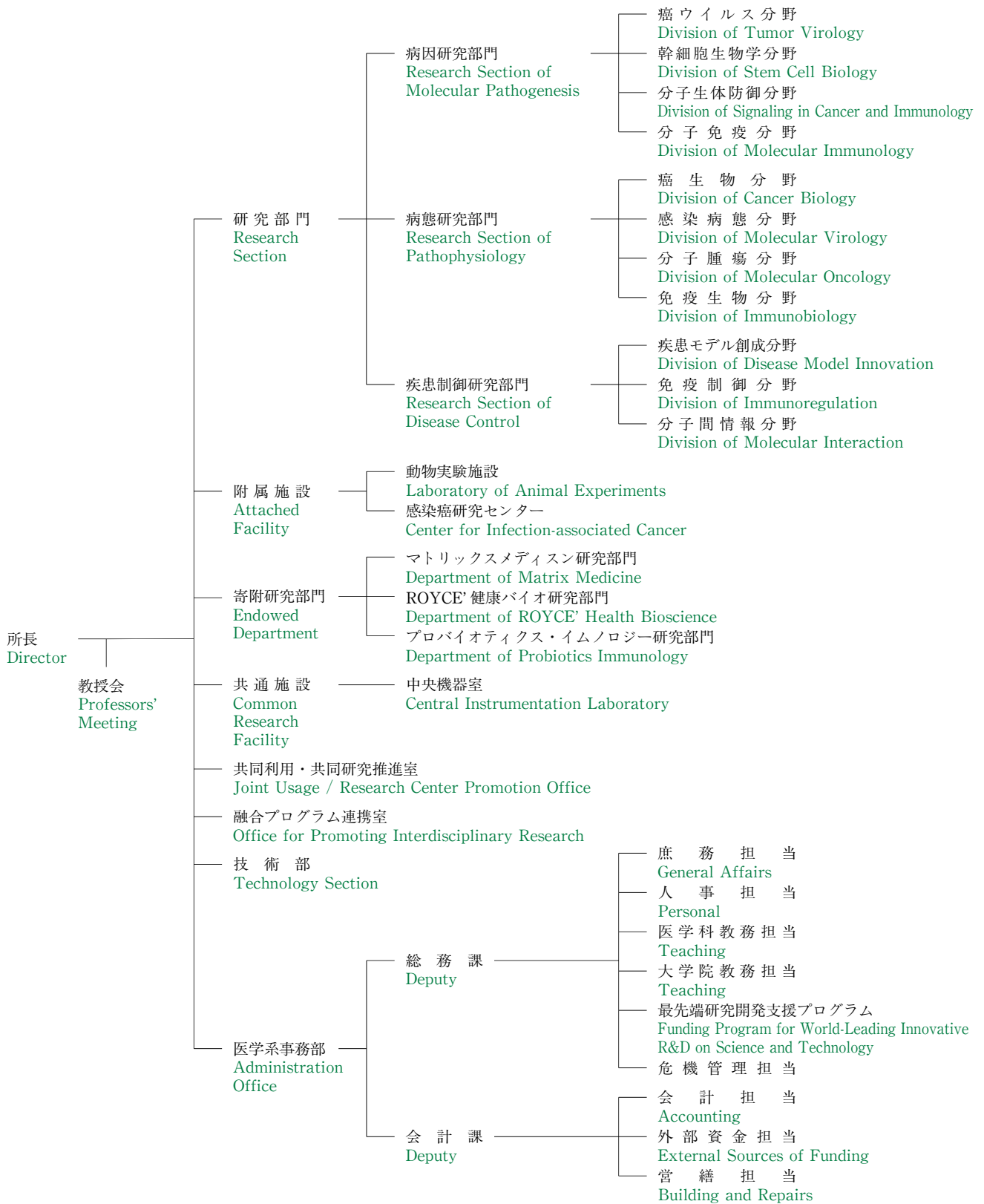
(称号授与年月日)

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
 医学博士 小野江和則 平成21. 4. 1
 医学博士 高田 賢藏 平成23. 4. 1
 医学博士 守内 哲也 平成23. 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
 Kazunori ONOÉ, M.D.,Ph.D. 2009. 4
 Kenzo TAKADA, M.D.,Ph.D. 2011. 4
 Tetsuya MORIUCHI, M.D.,Ph.D. 2011. 4

機構

Organization



職員数	平成24年 7 月 1 日現在	Number of Staff	2012.7.1
教授	9	Professor	9
寄付研究部門教授	1	Professor (Endowed Department)	1
准教授	8	Associate Professor	8
講師	2	Lecturer	2
助教	18	Assistant Professor	18
寄付研究部門助教	3	Assistant Professor (Endowed Department)	3
事務職員 (医学系事務部)	49	Administrative Officer	49
技術専門職員	6	Technical Specialist	6
博士研究員	10	Postdoctoral fellow	10
非常勤研究員	3	Part-time Fellow	3
研究支援推進員	6	Research Support Assistant	6
非常勤職員	20	Part-timer	20
計	135	Total	135

学生数	平成24年 7 月 1 日現在	Number of Student	2010.7.1
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	8	Graduate School of Medicine, Master Course	8
理学院博士課程	1	Graduate School of Science, Doctor Course	1
総合化学院博士課程	1	Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Doctor Course	1
総合化学院修士課程	5	Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Master Course	5
生命科学院博士課程	7	Graduate School of Life Science, Doctor Course	7
生命科学院修士課程	2	Graduate School of Life Science, Master Course	2
理学部学生	3	School of Science, Undergraduate student	3
ビジティンクスチューデント	23	Visiting Student	23
計	63	Total	63

職員・学生

Staff and Student

病因研究部門

●癌ウイルス分野

准教授 丸尾 聖爾
助教 岩切 大

●幹細胞生物学分野

教授 近藤 亨
准教授 濱田 淳一
助教 飯笹 久
助教 森口 徹生
博士研究員 秦 敏宏
博士研究員 大津 直樹
研究支援推進員 高野 奈々
非常勤職員 山木 瑤子
大学院生 ゴウダルジ・ホウマヌ (博士4年)
大学院生 梁 珊珊 (博士3年)
大学院生 古橋 昌子 (修士2年)
大学院生 前田浩次郎 (修士1年)

●分子生体防御分野

教授 高岡 晃教
助教 早川 清雄
助教 佐藤 精一
博士研究員 亀山 武志
非常勤研究員 足立 義博 クリストファー
非常勤職員 吉田 栄子
非常勤職員 名越友里恵
大学院生 亀岡章一郎 (博士3年)
大学院生 黄 巍 (博士2年)
大学院生 山田 大翔 (博士1年)
大学院生 中村 亨 (修士2年)
大学院生 林 真寛 (修士2年)
大学院生 畑中加奈枝 (修士2年)

●分子免疫分野

教授 上出 利光
助教 森本 純子
助教 前田 直良
技術専門職員 木村千恵美
非常勤職員 佐々木千絵子
大学院生 檀崎 敬子 (博士4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 永峰 賢
技術専門職員 平田 徳幸
非常勤職員 菅野 佳

大学院生 松田 真実 (博士4年)
大学院生 橋本 学 (博士2年)

●感染病態分野

教授 志田 壽利
准教授 大橋 貴
助教 張 陰峰
非常勤研究員 佐藤 洋隆
研究支援推進員 石田優理子
非常勤職員 奥田 靖子
大学院生 一色 真央 (修士2年)

●分子腫瘍分野

教授 藤田 恭之
助教 梶田美穂子
助教 加藤 洋人
博士研究員 山内 肇
技術専門職員 石川 晋
非常勤職員 菅沼 瞳
非常勤職員 西川 敦子
大学院生 大岡 敦子 (博士1年)
大学院生 真野 弘毅 (修士2年)
大学院生 齋藤沙弥佳 (修士1年)
大学院生 八子 優太 (修士1年)

●免疫生物分野

教授 清野研一郎
講師 香城 諭
講師 和田はるか
研究支援推進員 岡部 レイ
非常勤職員 草間 千枝
大学院生 林 えりか (博士1年)
大学院生 蜂屋 佳織 (修士2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
助教 森岡 裕香

●免疫制御分野

教授 西村 孝司
准教授 北村 秀光
助教 脇田 大功
博士研究員 中野基一郎
研究支援推進員 坂口 遥
大学院生 塩浜 康雄 (博士4年)
大学院生 岩澤久美子 (博士4年)
大学院生 増子 和尚 (博士3年)
大学院生 大竹 淳矢 (博士2年)
大学院生 角田健太郎 (博士2年)

大学院生 合田 彩佳 (修士2年)
 大学院生 末竹 幸広 (修士2年)
 大学院生 寺田 聖 (修士2年)

●分子間情報分野

教授 田中 一馬
 助 教 山本 隆晴
 助 教 佐野 孝光
 研究支援推進員 伊藤 絵里子
 非常勤職員 栗林 朋子
 大学院生 鉢呂 健 (博士3年)
 大学院生 ゼンデブディ ザフラ (博士3年)
 大学院生 武田美代子 (博士3年)
 大学院生 花松 久寿 (博士3年)
 大学院生 三岡 哲生 (博士3年)
 大学院生 岩村 崇史 (博士3年)
 大学院生 山神香菜子 (博士2年)
 大学院生 伊藤 謙 (修士1年)
 大学院生 又吉 晶 (修士1年)

附属施設

●動物実験施設

施設 長 森松 正美 (兼務)
 助 教 富岡 幸子 (兼務)
 助 教 森岡 裕香 (兼務)
 技術専門職員 室田 宏之
 技術専門職員 尾関 祐一
 非常勤職員 一木多恵子
 非常勤職員 美馬 紀子

●感染癌研究センター

センター長 田中 一馬 (兼務)
 准 教 授 吉山 裕規
 准 教 授 地主 将久
 特 任 助 教 林 隆也
 博 士 研 究 員 千葉 殖幹
 非 常 勤 職 員 山階 騎維
 非 常 勤 職 員 伊藤 鮎子

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 助 教 伊藤 甲雄
 博 士 研 究 員 池末 昌弘
 博 士 研 究 員 太田 大地
 非 常 勤 職 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 佐藤 崇之

非常勤職員 吉田 陽香

●プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門

特 任 教 授 宮崎 忠昭
 特 任 助 教 中山 洋佑
 博 士 研 究 員 塩崎 拓也
 博 士 研 究 員 中川 久子
 非 常 勤 職 員 石神かおり
 非 常 勤 職 員 小野 由夏
 非 常 勤 職 員 河邊 麻美
 非 常 勤 職 員 池田 則子

技術部

技術専門職員 山口 桂

共同利用・共同研究推進室

室 長 濱田 淳一 (兼務)
 研究支援推進員 櫻井 希
 非常勤職員 伊藤 鮎子 (兼務)

融合プログラム連携室

准 教 授 瀧本 将人

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



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メカニズムの研究に極めて適したモデルであり、実際に、がん遺伝子と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。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推定されている。

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)。

EBウイルスはヒトのBリンパ球を不死化して無制限に増殖させる活性をもっている。我々は、EBウイルスが二大がん抑制経路として知られているpRb経路とp53経路を抑制することを明らかにしてきた。このように、EBウイルスは他の癌ウイルスと同様に、がん抑制経路を制御することにより細胞の異常増殖を引き起こす。

EBウイルス関連がん細胞では、ウイルス遺伝子EBERが重要な役割をはたす。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($\sim 10^7$ 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。

我々は、EBVが自然免疫系のシグナル活性化を利用して発がんに寄与することを明らかにしてきた。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。

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)。

さらに、EBERはループス抗原Laとの複合体として細胞外へ放出され、細胞表面での二本鎖RNA検知システムであるTLR3 (toll-like receptor 3) に検知され、その結果、I型インターフェロン、炎症性サイトカインの誘導を起こすことを明らかにした(図3)。伝染性単核症、慢性活動性EBV感染症、EBV関連血球貪食症候群などの活動性EBV感染症で特徴的な高サイトカイン血症、Tリンパ球増多などの過剰免疫反応は、EBERによるTLR3活性化で起こっている可能性がある。

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がんに貢献していることを示している。

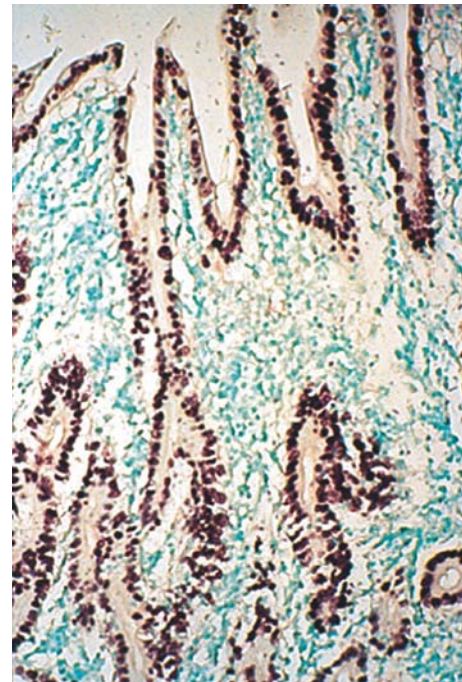


図1. 胃がんにおけるEBウイルス遺伝子の発現。EBV-RNA (EBER) の発現を検出するin situ hybridizationをおこなうと、組織標本上の全てのがん細胞で陽性所見がみられる。

Fig. 1. EBV-associated gastric cancer. EBV-RNA (EBER) is detected in all cancer cells of tissue specimens by in situ hybridization.

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.

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 oncogenesis is, therefore, the most suitable model for studying the mechanism of cancer development 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 oncogenesis by EBV. EBV is associated with various malignancies including Burkitt lymphoma, T/NK cell lymphoma, Hodgkin lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, gastric carcinoma, and lymphomas in immunocompromised individuals (Table 1, Fig. 1).

EBV immortalizes normal human B lymphocytes and converts them into indefinitely proliferating lymphoblasts. We have demonstrated that this “immortalization” is accomplished by the EBV’s control of cellular tumor-suppressor pathways. EBV represses two major tumor suppressor pathways, the pRb pathway and the p53 pathway. Thus, EBV, as well as other tumor viruses, regulates tumor suppressor pathways to cause the unlimited growth of infected cells, which may lead to the lymphomagenesis by EBV.

Our series of studies have demonstrated that the EBV-encoded small RNA (EBER) plays key roles in oncogenesis. EBER, consisting of EBER1 and EBER2, is non-polyadenylated, untranslated RNA with approximately 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. EBER 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 acts as an autocrine growth factor.

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 EBER is recognized by RIG-I, which initiates signaling leading to induction of type-I IFN and inflammatory cytokines (Fig. 3). EBER induces the growth-promoting cytokine IL-10 through RIG-I-mediated IRF3 but not NF- κ B signaling, and support the growth of Burkitt Lymphoma cells.

Furthermore, we have demonstrated that during active EBV infection, EBER1 is released from EBV-infected cells mostly in complex with lupus-associated antigen (La) (Fig. 3). The released EBER would induce maturation of dendritic cells (DCs) via toll-like receptor 3 (TLR3). DC activation leads to T cell activation and systemic release of cytokines. TLR3-expressing T and NK cells including EBV-infected T or NK cells also could be activated by EBER1 through TLR3 and produce inflammatory cytokines. Therefore, immunopathologic disorders that are observed in active EBV infections including activation of T or NK cells and hypercytokinemia could be attributed to TLR3-mediated T cell activation and cytokinemia by EBER1.

These findings demonstrate that EBER contributes to oncogenesis by a novel mechanism utilizing the innate immunity system.

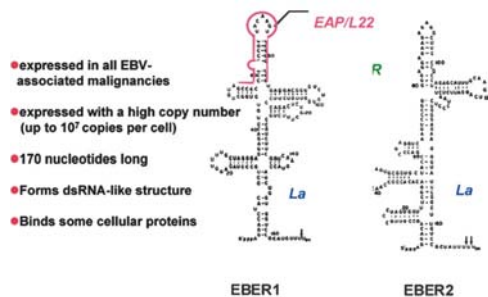


図2. EBERの二次構造。EBER1およびEBER2は、複数のステムループを含む二次構造を形成し、細胞内において、La抗原およびL22、PKRと相互作用する。

Fig. 2. The secondary structure of EBER. Both EBER1 and EBER2 form the secondary structure containing the several stemloops, and interact with La antigen, L22, or PKR in EBV-infected cells.

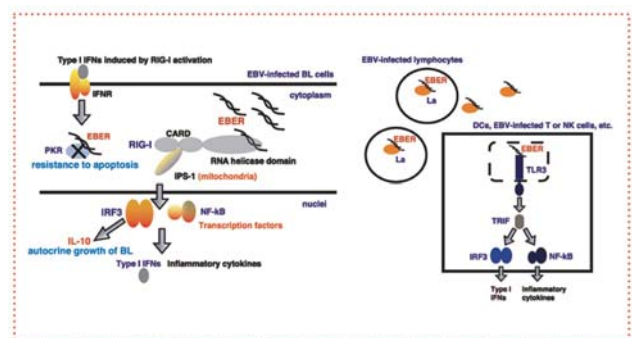


図3. EBERによる自然免疫系の修飾、発がん、過剰免疫反応
Fig. 3. Modulation of the innate immunity system by EBERs, oncogenesis and excessive immune response

幹細胞生物学分野

研究課題

神経幹細胞・前駆細胞の異常に起因する疾患発症の分子機構の解析と治療標的の検索



教授・医学博士
近藤 亨



准教授・医学博士
濱田 淳一



助教・博士(薬学)
飯笹 久



助教・理学博士
森口 徹生

1. 癌幹細胞特異的因子群の機能解析と新規癌治療法の開発

悪性腫瘍に存在する癌幹細胞は、自己複製能、腫瘍形成能および抗癌剤・放射線療法に耐性を有し、その性状解析と特異的因子の同定による新規治療方法の創出が待ち望まれている。私達は、神経幹細胞(NSC)とオリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)から人工グリオーマ幹細胞(GIC)を樹立し、その性状解析から複数のGIC特異的因子群を同定、それらの機能解析を進めてきた(Fig. 1)。現在、GICに発現されている膜タンパク質 Glim の機能解析、それを標的とした抗体医薬・低分子薬剤のスクリーニング、癌幹細胞イメージング法の確立を進めている。

2. 新規細胞老化因子群の機能解析と疾患発症との関わり

細胞老化は、ダメージを受けた細胞が生体に悪影響を及ぼさない防御機構の1つであり、加齢に伴い生体内で増加する。加齢性疾患の発症と進行に細胞老化が関与していることは以前から示唆されていたが、その詳細な分子メカニズムは不明である。私達は OPC を利用した新

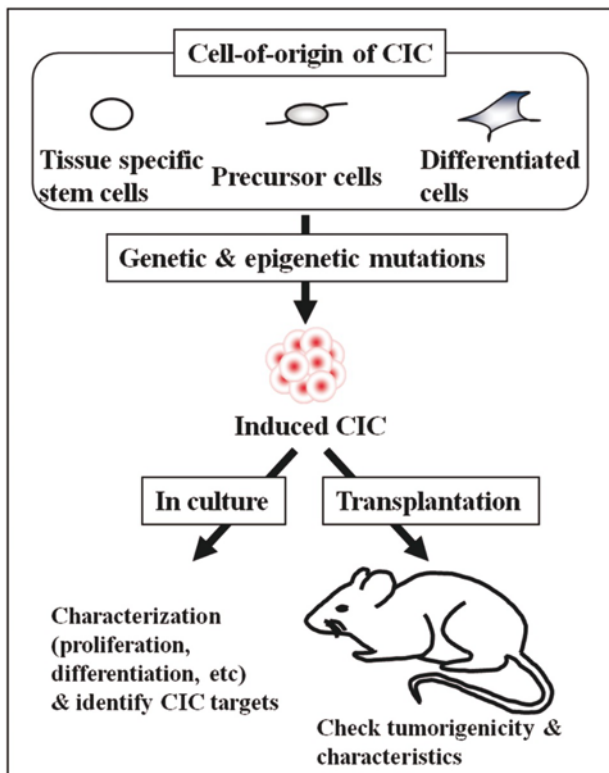


Fig. 1. p53, Rb, 受容体型チロシンキナーゼシグナルを活性化した組織幹細胞、前駆細胞、分化細胞は、人工癌幹細胞に形質転換する。これら人工癌幹細胞を用いた試験管内実験と移植実験により癌幹細胞特異的因子の同定と解析が可能である。

Fig. 1. Tissue specific stem cells, precursor cells and differentiated cells transform into CICs by undergoing genetic and epigenetic mutations for key factors including the p53, Rb, and/or receptor tyrosine kinase (RTK) pathways. Induced CICs can be characterized in culture and in vivo.

たな細胞老化実験系を確立し、新規細胞老化関連因子群を同定した。その中の1つ分泌因子 Ecrq4 (Esophageal cancer related gene 4) は、NSC/OPC 老化機能因子であると共に、悪性腫瘍周辺部で発現が亢進している遺伝子である。現在、その受容体の同定、シグナル伝達系の解析、難治性神経系疾患との関わりを解析している (Fig. 2)。

3. 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を明らかにしている (Fig. 3A)。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転移関連遺伝子の同定、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。また、癌細胞の転移・浸潤能を含めた多様性を生み出す機構のひとつとして、癌細胞における RNA 編集の異常を考え、がんにおける RNA 編集酵素 ADAR の機能解析を行っている (Fig. 3B)。

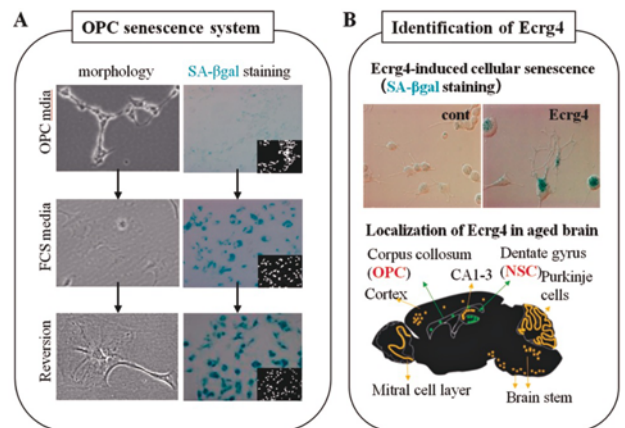


Fig. 2.

- A. OPCは高濃度FCS存在下で細胞老化する。SA-βgal (senescence-associated beta galactosidase) 活性の亢進、細胞増殖抑制。
- B. Ecrq4の強制発現は細胞老化を誘導する。加齢脳NSC、OPC等に発現が観られる。

Fig. 2.

- A. OPCs become senescent in the presence of high concentration of FCS with the increased level of SA-beta gal activity and cell-cycle arrest.
- B. Overexpression of Ecrq4 induces cell senescence in OPCs. It is detected in OPCs and NSCs in the aged brain.

Division of Stem Cell Biology

Research Project:

Investigation of molecular mechanism involved in the CNS disorders caused by damaged neural stem/precursor cells and identification of their therapeutic targets.

Professor **Toru KONDO, Ph.D.**

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

Assistant Professor **Hisashi IIZASA, Ph.D.**

Assistant Professor **Tetsuo MORIGUCHI, Ph.D.**

1. Characterization of glioma-initiating cells (GICs) and identification of therapeutic targets.

It has been revealed that malignant tumors contain cancer initiating cells (CICs), which self-renew indefinitely, are tumorigenic, and are resistant to irradiation and chemotherapy, suggesting that CIC is the essential therapeutic target. To characterize CIC, we established induced mouse CIC lines from NSCs and OPCs by overexpressing an oncogene and repressing a tumor suppressor gene. They form malignant glioma even when ten cells are injected into brain of immunodeficient mice, indicating that they are enriched for bona fide CICs. Using DNA microarray analysis, RT-PCR, and/or immunohistochemistry, we have found potential candidate genes, which are predominantly expressed in either GICs or non-GICs, and are characterizing them. Among them, we are now focusing on a novel GIC membrane protein Glim, as a potential therapeutic target for destroying GICs and imaging them in vivo, by collaborating with RIKEN (Fig. 1).

2. Analysis of novel cellular senescence factors.

Cell senescence is described as an irreversible growth arrest provoked by a variety of stimuli such as DNA damage and acts as a potent barrier to tumorigenesis. It remains controversial to what extent cell senescence contributes to decline of self-renewal activity in aged stem/precursor cells and the aging process in general. To answer these questions, we have established a cell senescence model using OPCs, looked for new factors involved in the senescence, and found uncharacterized factors that are predominantly expressed in senescent OPCs. One of the factors is the esophageal cancer related gene 4 (Ecr4), whose function has not been reported although it was speculated to be a tumor suppressor. We have shown that Ecr4 is a novel senescence-messaging secretome factor (Fig. 2). We are now looking for its receptor, and examining its regulatory mechanism in vitro and in vivo. We are also studying about the relationship between cell senescence factors and age-related CNS diseases.

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

Tumor metastasis can be considered as a phenomenon resulting from dysregulation of positional information of tumor cells. During embryonic morphogenesis, HOX genes are well known to give the positional information to cells. 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 (Fig. 3A). 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. Our analysis also focuses on possible roles of ADAR in tumor cell heterogeneity since ADAR is an enzyme for A-to-I RNA editing which may induce mutations at RNA levels (Fig. 3B).

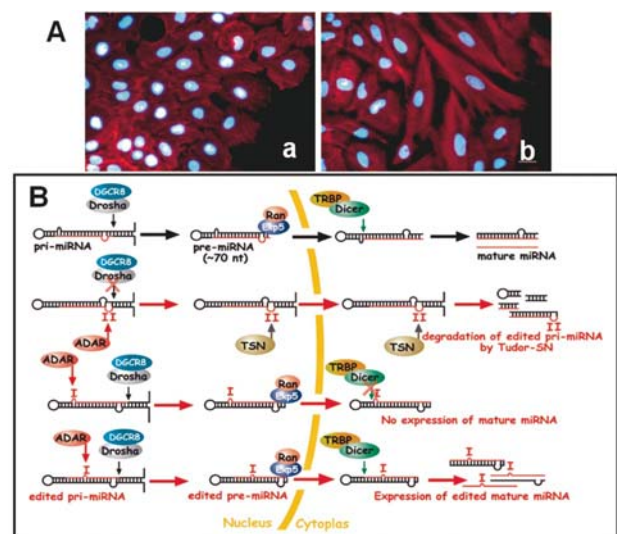


Fig. 3.

- A. HOXD3 を発現していない肺癌細胞 (a) は上皮細胞様の形態を呈するが、HOXD3 を過剰発現させると線維芽細胞様の形態に変化する (b)。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。
- B. Pri-miRNA における A-to-I RNA 編集。miRNA の前駆体である pri-miRNA に A-to-I RNA 編集が生じると、成熟型 miRNA へのプロセッシングが阻害されたり、標的遺伝子が変わる。

Fig. 3.

- A. Overexpression of HOXD3 converts epithelial cell-like morphology of human lung cancer cells to fibroblastic morphology (b). This phenomenon resembles the epithelial-mesenchymal transition, an important step in an early stage of metastasis.
- B. A-to-I RNA editing in pri-miRNA. Certain pri-miRNAs undergo RNA editing that converts adenosine to inosine; then the processing of pri-miRNA to miRNA is inhibited and gene targeting of miRNA is altered.

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



助教・博士(食品栄養科学)
早川 清雄



助教・博士(生命科学)
佐藤 精一

＝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日にスタートした研究室であります。現在スタッフは教授、助教2名に、博士研究員2名、技術職員および事務補助員の2名の他、客員研究員2名、学部学生3名、大学院修士課程の学生3名、博士課程の学生6名、計21名の構成員からなっています。

＝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ました。顕微鏡の発見とともに、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のも、つい100年ほど前のことであります。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ておりません。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至っていません。そのため感染症制御の問題は、社会的に必要性の高い重要な研究課題であると認識しております。当研究室では、このような問題に対して分子レベルでアプローチすることを進めております。

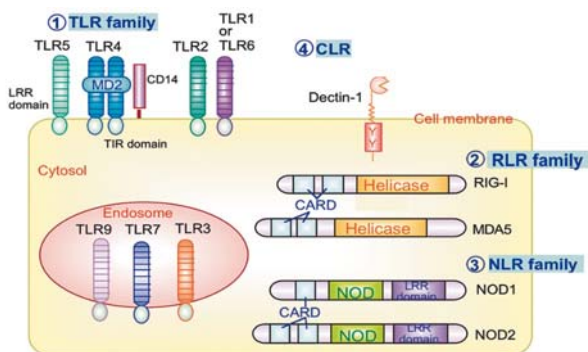


図1. 自然免疫系におけるパターン認識受容体 (the pattern recognition receptors in the innate immune system) 自然免疫系においても特異性は高くはないが、適応免疫系の抗原受容体に相当するような生体内に侵入した微生物を認知する受容体(パターン認識受容体; pattern recognition receptors; PRRs)が存在することがわかってきた。そのような受容体は、核酸をはじめ、細胞壁や鞭毛などの構成分子について、微生物由来の特有の分子パターンを認識することからパターン認識受容体と呼ばれる。元々は、ショウジョウバエの体軸形成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。

最近の研究から我々生体は、病原微生物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となってきました。病原体の感染が様々な疾患の病態増悪因子であることはいうまでもありません。また、もう一つの大きな問題としてがんの克服があります。がん細胞の出現に対しても類似の生体防御システムが関与していることが示されております。

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の細胞応答について分子レベルでの解析を行っています。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ております(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という観点からも重要な役割を担っています。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おります。

これまで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) という分子を同定 (図2)、さらに、細胞質内に存在する RNA を認識するセンサー分子である RIG-I の調節因子として ZAPS (Zinc finger antiviral protein 1, shorter isoform) を見いだしました (図3)。我々は、自然免疫シグナル調節機構の解明に焦点を当て、具体的には次の3つの局面から研究を推進しております。

- (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

当研究室では、自然免疫応答における『核酸認識機構』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、あるいは核酸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、さらには、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4) と考えております。

＝当研究室での教育＝

学部を問わず、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2010年度から新しくスタートした理学部と工学部が連携・融合した大学院総合化学院の協力講座となって大学院生の研究指導の機会をいただいております。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相乗的に得られる独創的な研究を目指し、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ます。

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.**

Assistant professor **Sumio HAYAKAWA, Ph.D.** Assistant professor **Seiichi SATO, Ph.D.**

How does the host cell recognize the invasion of pathogenic microbes? Part of the answer lies in the pattern recognition receptors in the innate immune system. These receptors, such as Toll-like receptors (TLRs) and retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I), are innate sensors that mediate signal transductions 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. Recently, our laboratory identified ZAPS (Zinc finger antiviral protein 1, shorter isoform) as a stimulator of RIG-I-mediated signaling during antiviral response.

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 diseases.

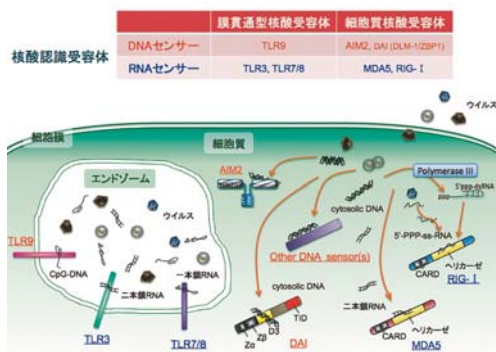


図2. 自然免疫系核酸受容体 (Nucleotide receptors in the innate immune system) 自然免疫系における核酸受容体は DNA および RNA に対する認識受容体 (センサー) が存在し、さらにそれぞれを局在から膜貫通型と細胞質型の2つに分類できる。細胞質 DNA センサーについては、DAI (DLM-1/ZBP1) の他に、未知なる受容体 (X) の存在が考えられる。TLR, Toll-like receptor; DAI, DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors; MDA5, melanoma differentiation-associated gene 5; RIG-I, retinoic acid-inducible gene I; AIM2, absent in melanoma; 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。

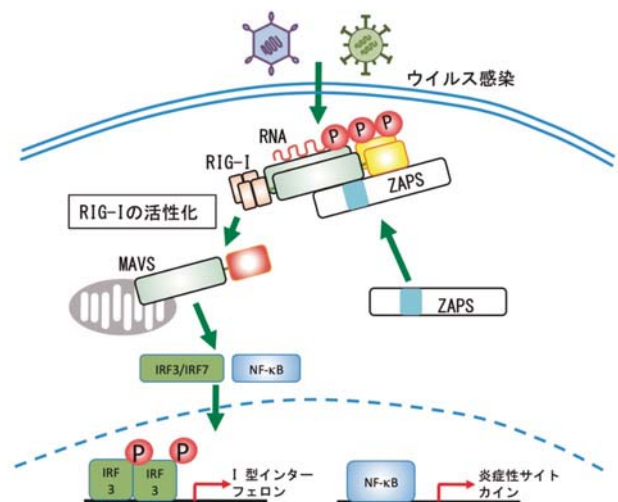


図3. ZAPSが関与するRIG-I活性化の分子機構 (Scheme of RIG-I-mediated signal transduction induced by ZAPS)

感染とがん ⇄ 生体防御系

がんや感染症に対する生体防御システムにおいてとくに「自然免疫系シグナルネットワーク」の解析

がんや感染症、炎症性疾患、自己免疫疾患といった難治性疾患の分子病態の解明を目指す

治療の新たなターゲット分子の同定及び新たなコンセプトによる治療法の開発

図4. 当研究室における研究概要

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



助教・博士(医学)
前田 直良

分子免疫分野では、細胞外基質、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、癌転移等の病態解析、治療法の検討を行っている。

(1) 自己免疫疾患病態形成におけるインテグリン分子およびマトリックス蛋白の機能解析

インテグリンはオステオポンチン (Opn) やテネイシン (TN-C) といった細胞外マトリックス蛋白 (ECM) などと接着することにより、発生や分化、免疫応答などの重要な機能を調節している。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* で直接的に解析することは困難であることが知られている。我々はこれまでに、関節リウマチや自己免疫性肝炎の病態局所において $\alpha 9$ インテグリンやそのリガンドである Opn および TN-C の発現が上昇することを見いだした。さらに当研究室ではマウス $\alpha 9$ インテグリンに対する抗体を作製することに成功し、自己免疫疾患におけるこの抗体の治療効果とそのメカニズムを解析している。

(2) 新規脾臓内抗原提示細胞の同定とその機能解析

ウイルスや細菌といった外来性抗原に対する免疫応答の活性化は、生体にとって必須の防御反応である。その一方で自己抗原に対する免疫応答や過剰な炎症反応の持続は生体にダメージを与えてしまう為に抑制されることが不可欠である。このように我々の免疫系は活性と抑制がバランスをとることで成立しており、このバランスの破綻は生体にとっては致命的であると言える。免疫応答、特に T 細胞応答のバランスは抗原提示細胞 (APC) の性質に依存していることが知られている。脾臓は血管系の中で最も大きな末梢リンパ組織であり、マクロファージ

や樹状細胞 (DC) など様々な APC が存在しているが、現在のところどのサブセットがどのような機能を有しているのかについては一部しか明らかにはなっておらず、この解明は生体のホメオスタシスがどのように制御されているのかを理解する上で非常に重要であると考えられる。これまでに当研究室では脾臓の赤脾髄に存在するマクロファージが抑制性サイトカインを産生し、さらには制御性 T 細胞の形成を誘導することで、末梢における免疫寛容に関与していることを報告してきた。現在はウイルス感染時に出現する新規の抗原提示細胞に着目し解析を行っているところである。

(3) マトリセルラー分子を標的としたウイルス感染癌制御法の開発

がん細胞浸潤・転移やがん微小環境の構築において Opn や TN-C が関与していることが報告されている。我々は、レトロウイルス感染により発症する成人 T 細胞

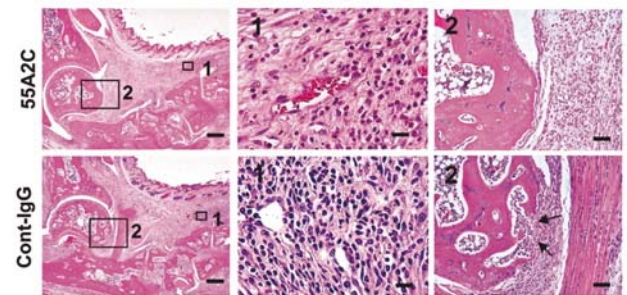
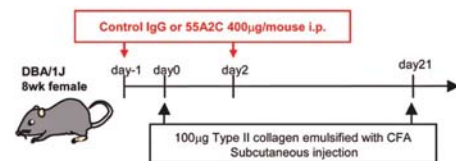


図2. 自己免疫性関節炎モデルを用いた抗 $\alpha 9$ インテグリン抗体の治療効果の検討

DBA/1J マウスに CIA (collagen-induced arthritis) を誘導し、抗 $\alpha 9$ インテグリン抗体 (55A2C) を投与することでその治療効果を検討した。図は関節局所の H.E. 染色像を示す。55A2C 投与群ではコントロール抗体投与群と比較し、炎症性細胞の浸潤およびパニヌス形成が著しく抑制されていることが明らかとなった。

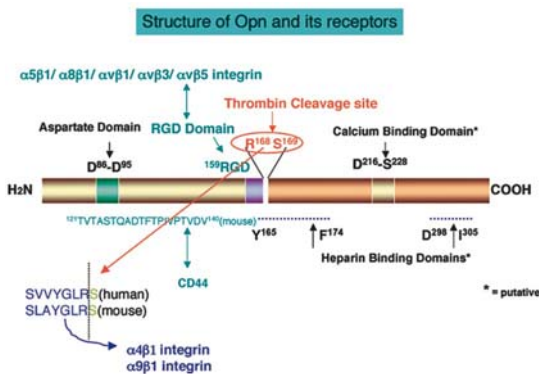


図1. Opn の構造およびその受容体

Opn は分子のほぼ中央に存在する RGD 配列を介して様々なインテグリンと結合することにより、細胞の接着や遊走に関与する。またトロンピンによる開裂を受けることで、新たに $\alpha 9\beta 1$ インテグリンと結合するドメインが露出する。

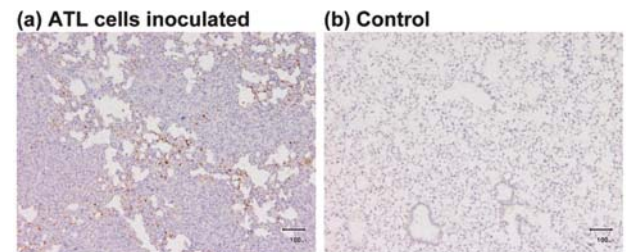


図3. ATL 細胞接種 NOG マウスの肺における Opn 発現

(a) NOG マウスに ATL 細胞を接種することにより、血漿中の Opn 産生量が亢進し、さらに転移肺においても Opn 発現が認められる。(b) は ATL 細胞非接種 NOG マウスの肺 (コントロール)。

白血病（ATL）を題材として、ATL病態形成における Opn/TN-C とインテグリン相互作用の生理学的意義について検討を行っている。他の固形癌と同様に、ATL 患者血漿中でも OPN 産生量が増加しており、病態や予後との相関性が指摘されているが、ATL 発症における関連性とその分子機序については不明な点が多い。我々は、NOD/Shi-*scid*、*IL-2Rg^{nu/n}* (NOG) マウスに ATL 細胞株を皮下移植する実験系で、血漿中の Opn 産生量が亢進することを見出した。現在、さらに腫瘍形成、および浸潤・転移における Opn/TN-C-インテグリン相互作用の関与について解析を行っており、本研究成果を新規 ATL 抗体治療法の基盤確立と、創薬発展に結び付ける。また IGM の推進するウイルス感染癌研究の一環として、重要な知見を提供する。

A model of T cell response regulated by distinct splenic Mφ subsets

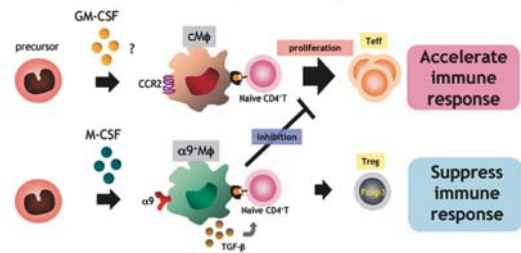


図4. 脾臓マクロファージ亜群による T 細胞反応抑制機構
CCR2 を高発現するマクロファージ (cMΦ) はナイーブ CD4⁺ T 細胞の増殖およびエフェクター T 細胞への分化を誘導する。その一方で α9 インテグリンを発現するマクロファージ (α9⁺ MΦ) は TGF-β を恒常的に発現し、ナイーブ CD4⁺ T 細胞の増殖を抑制する。さらにはナイーブ CD4⁺ T 細胞から Treg への分化を誘導することで、T 細胞反応を制御している。

Division of Molecular Immunology

Research project:

Analysis of the roles of extracellular matrix proteins (ECM) and integrins in the development of inflammatory disorders

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

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

Assistant Professor **Naoyoshi MAEDA, Ph.D.**

Our laboratory is involved in studies elucidating the roles of ECM and integrins in the development of inflammatory diseases and autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis and multiple sclerosis. Our long-term goal is to understand how ECM and integrins regulate host immune responses and define the potential targets for the treatment for inflammatory disorders.

(1) Analysis of the role of integrins and ECM in the development of autoimmune disorders

Many types of cells including tumors and immune cells express integrins. The interaction between integrins and ECM is involved in various processes such as cell migration and cell attachment. Although, it has been demonstrated that dysfunctions of integrins result in autoimmunity, precise mechanisms are still unknown. Recently, we succeeded to develop the monoclonal antibody that is capable of reacting mouse $\alpha 9$ integrin, and we found that synovial fibroblasts and macrophages in arthritic joints expressed $\alpha 9$ integrin. Using collagen antibody induced arthritis model (CAIA) and collagen induced arthritis model (CIA), we found that severity of arthritis was significantly reduced following treatment with anti- $\alpha 9$ integrin antibody. Our current interest is to understand how interactions between $\alpha 9$ integrin and its ligands modulate arthritic T cell response.

(2) Identification and analysis of novel splenic antigen-presenting cells

1) Immune homeostasis must be regulated to avoid harmful immune responses including autoim-

une responses. Dendritic cells (DCs) and macrophages are typical antigen-presenting cells (APCs) that induce adaptive immune responses. However, some APCs are involved in immune suppression through producing inhibitory cytokines. Recently, we have identified novel splenic red pulp macrophages that express $\alpha 9$ integrin. We found that this macrophage subset inhibits T cell responses by producing large amounts of inhibitory cytokines such as IL-10 and TGF- β and inducing the development of Tregs from naïve CD4⁺ T cells, which suggests that this macrophage subset plays a critical role in the maintenance of peripheral immune tolerance. We are currently trying to understand the relevance between $\alpha 9$ integrin expression by macrophages and their inhibitory functions. 2) DCs represent a rather heterogeneous cell population with regard to morphology, phenotype and function. Previously, we have reported that following intranasal influenza virus infection, virus Ag-specific T cells were detectable not only in the draining mediastinal LN, but also in the spleen. The number of virus Ag-specific T cells in the spleen was much higher than those in the mediastinal LN, suggesting that the spleen can be the site of activation for naïve T cells during respiratory virus infection. However, what kind of DC subset is responsible for the induction of T cell responses in the spleen remains unclear. Recently, we found that a unique DC subset appeared in the spleen following intranasal influenza virus infection, and this DC subset showed activated phenotype and produced IL-12. We are currently

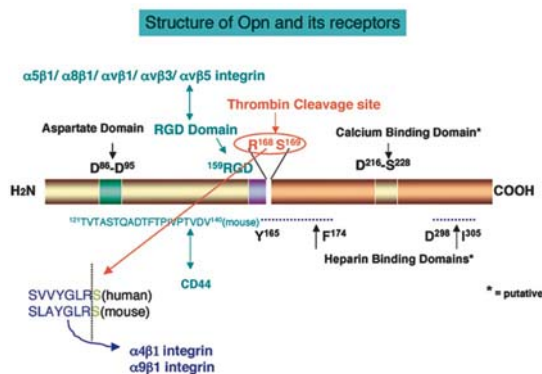


Fig. 1. Structure of Opn and its receptors
Opn contains several binding domains interacting with αv and $\alpha 5$ integrins. Opn cleaved by thrombin at inflammatory sites exposes new binding domain that is recognized by $\alpha 9\beta 1$ integrin. The interaction between Opn and integrins is involved in cell migration and cell attachment including fibroblasts, lymphocytes, macrophages and neutrophils.

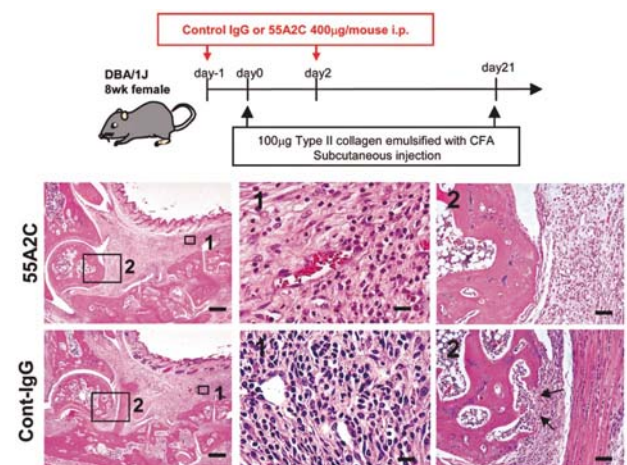


Fig. 2. The administration of anti- $\alpha 9$ integrin antibody inhibits CIA progression. CIA-induced DBA/1J mice, which were treated with anti- $\alpha 9$ integrin antibody, revealed less inflammatory cell infiltration and pannus formation in the joint compared with mice treated with control antibody.

trying to understand how this DC subset is involved in T cell responses against influenza virus infection. We believe that better understanding of the role of this DC subset facilitates induction of strong T cell responses and the development of more effective vaccines against not only influenza virus, but also various pathogens.

(3) A matricellular protein as a molecular target for antibody-mediated immunotherapy in a virus-related cancer

A secreted matricellular glycoprotein Opn plays a critical role in tumorigenesis and tumor metastasis via interaction with integrins. Adult T-cell leukemia (ATL) is a CD4⁺ T-cell neoplasm associated with a retrovirus human T-cell leukemia virus infection; it has a very poor prognosis, thus development of effective therapeutic strategy is urgently required. There is a strong correlation between the Opn level and disease severity in patients with ATL, suggesting that Opn would be involved in ATL development. We recently demonstrated that subcutaneous inoculation of the ATL cells into NOD/Shi-*scid*,*IL-2Rg*^{nu/nu} (NOG) mice increased the plasma level of Opn that significantly correlated with a poor survival time. Our study focuses on specifically on Opn-integrin interaction and its role in ATL tumorigenesis. Further, this study could lead to a novel immunotherapeutic strategy targeting on the interaction in ATL.

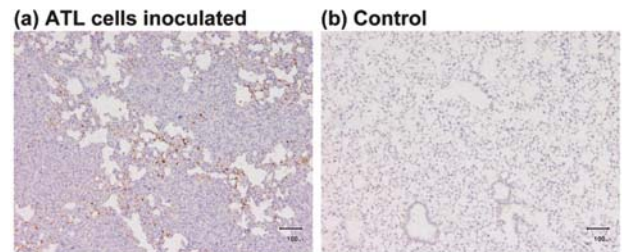


Fig. 3. Mouse Opn expression in lungs of NOG mice inoculated with ATL cells

(a) Subcutaneous inoculation of the ATL cells into NOG mice increases the plasma level of Opn; immunohistochemical staining also shows the Opn expression in lungs of NOG mice inoculated with ATL cells. (b); NOG mice without inoculation (control).

A model of T cell response regulated by distinct splenic M ϕ subsets

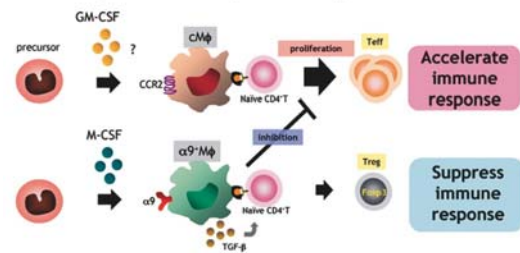


Fig. 4. Inhibitory mechanisms of T cell response by $\alpha 9^{+}$ macrophage

Splenic conventional macrophages (cM Φ), expressing CCR2, induce proliferation of CD4⁺T cells and promote the differentiation of naïve CD4⁺T cells into effector T cells. In contrast, $\alpha 9^{+}$ macrophage($\alpha 9^{+}$ M Φ) produce TGF- β and inhibit CD4⁺T cell proliferation. Alpha9⁺M Φ induce the differentiation of naïve CD4⁺T cells into Tregs. Furthermore, $\alpha 9^{+}$ M Φ also suppress T cell proliferation which is induced by other APCs. These data suggest that distinct splenic macrophage subsets reciprocally control T cell immune response.

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、癌生物分野を主宰しています。

私は米国 NIH (国立衛生研究所) における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発見しました (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分子学的な原因と治療に方向性を与え、世界で初めての遺伝子治療の成功を可能にしました。

1998-2002年のハーバード大学助教授として独立した研究室を持ち、2002からは北海道大学、遺伝子病制御研究所、癌生物分野において研究を進め、この一連の研究の中で私はこれまでその機能の知られていなかったプロ

トオンコジン TCL1 が細胞内の細胞死制御の要であるセリンスレオニンキナーゼ AKT の活性化補助因子であり、その結果 T 細胞の異常な増殖を起し 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; 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)。

その後、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ー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。

これまで細胞死制御の要の分子である AKT の活性化の制御機構は幾多の蛋白翻訳後修飾機構の中でリン酸化と脱リン酸化による制御が中心として研究がなされてきており、ユビキチン化をはじめとする翻訳後修飾の分子機構は知られていませんでした。最近、私たちは、TTC3 (Tetratricopeptide repeat domain 3) という分子が AKT のリン酸化特異的なユビキチン化を促進する新規ユビキチンリガーゼであることを始めて明らかにした。この TTC3 は人類最多の遺伝子異常であるダウン症の原因遺伝子領域に存在し、ダウン症においてその活性が上昇していることから、ダウン症に見られる多彩な合併症の病態を説明できる可能性も示しました (Figure 2) (Suizu et al., *Dev. Cell* 2009)。さらに、パンデミックな脅威として恐れられたインフルエンザウイルスのコードする蛋白のひとつである NS1 (Non-Structural Protein 1) 蛋白が AKT の新規の基質であり、AKT の活性を介して感染宿主細胞の庇護に役立っていることを示しました (Matsuda et al., *BBRC* 2010)。

このように、私は、細胞死と増殖のバランスの制御機構の解明を通して、これまで原因のわからなかった少なくとも3つのヒトの疾病の分子学的な原因を明らかにし、その治療指針を明らかにしてきました。今後も、新しい仲間とともに新たなチャレンジに向けて日々研究を進めていくつもりです。

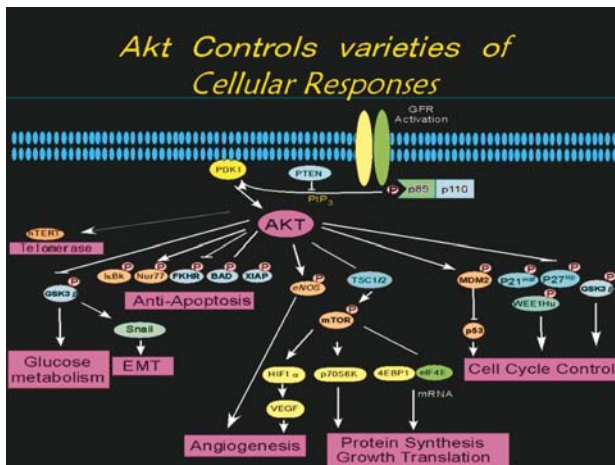


Figure 1. AKT シグナル伝達系による多彩な細胞反応の制御機構

PI3K-AKT シグナル伝達系は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様々な標的分子に作用し、細胞死、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。その制御機構の破綻は様々なヒトの疾病の原因として知られている。

Figure 1. 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 FKHRL1, 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, M.D., Ph.D.**

Assistant Professor **Futoshi SUIZU, Ph.D.**

Assistant Professor **Takahiro FUKUMOTO, Ph.D.**

Our research interest is to clarify how the balance between cell death and survival regulates in vivo homeostasis (Noguchi et al., *Cell* 1993; Noguchi et al., *Science* 1993; Noguchi et al., *PNAS* 1997). In past 10 years we have been concentrating our research on characterizing the binding molecules of serine threonine kinase Akt (also known as protein kinase B, PKB) that functionally modulate its kinase activity. Akt, a central component of the PI3K signaling pathways, which plays critical roles in the regulation of cell survival and proliferation (Figure 1).

We clarified that the protooncogene TCL1 is an Akt kinase co-activator. TCL1 contains two distinct functional motifs responsible for Akt association and homodimerization. Further, based on the structural functional analysis of Akt-TCL1 protein complexes, we identified a novel Akt inhibitor which specifically bind and inhibits its kinase activity for therapeutic

implication for human cancer through suppressing the Akt kinase activity (Laine et al. *Mol. Cell* 2000; Kunstle et al., *Mol Cell Biol.* 2002; Laine et al., *J Biol Chem.* 2002; Auguin et al., *J. Biomol. NMR* 2003; Auguin et al., *J. Biol. Chem.* 2004; Auguin et al., *J. Biomol. NMR* 2004; 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 2004-134583).

More recently, we discovered that TTC3 (Tetratricopeptide repeat domain 3) is an Akt-specific E3 ubiquitin ligase. TTC3 harbors a RING-finger motif for ubiquitin-protein ligase and a pair of TPR (tetratricopeptide) motifs and nuclear localizing signals, and a putative Akt phosphorylation motif. We showed that TTC3 preferentially binds to phosphorylated Akt and facilitates its ubiquitination and proteasomal degradation within the nucleus, which could underlie the clinical manifestations of Down syndrome, the most common genetic disorder in humans (Suizu et al., *Dev. Cell* 2009) (Figure 2).

In recent years, pandemic influenza of H1N1 avian influenza viruses have emerged and now appear to spread in many regions throughout the world. In this regard, we demonstrated direct interaction of Akt with NS1 protein (Non structural protein, encoded by segment 8 of the Avian influenza viruses). We showed that NS1 protein preferentially interacted with wild Akt, and consequently enhances Akt kinase activity. The results provided a clue for the therapeutic implications for evasion of the pandemic influenza infection (Matsuda et al., *BBRC* 2010).

Since the regulation of cell death and survival through Akt activation underlies multiple human diseases including cancer, immunological disorder, or infectious diseases, our research together will certainly provide a clue for understanding the molecular basis of various human diseases, but also provide a therapeutic insight to cure the life threatening human diseases.

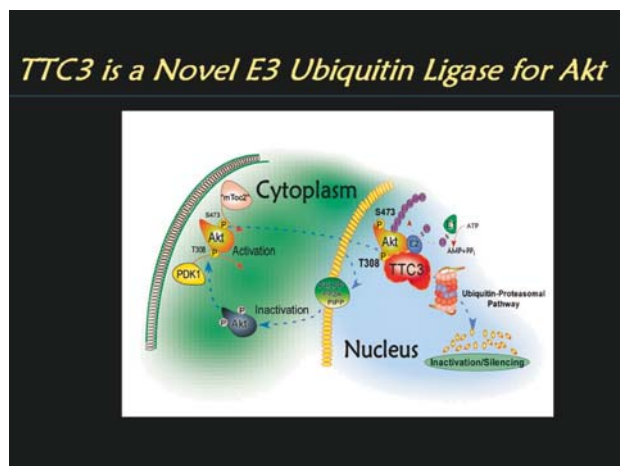


Figure 2. PI3K-AKT シグナル伝達系のユビキチン-プロテアゾーム系による制御機構

これまで、PI3K-AKT シグナル伝達系はリン酸化、脱リン酸化経路のみが主体として研究が進んできた経緯があり、それ以外の蛋白翻訳後修飾機構による PI3K-AKT シグナル伝達系の制御の仕組みは十分に解明されてこなかった。我々は PI3K-AKT シグナル伝達系による細胞内の主要な蛋白分解系であるユビキチン-プロテアゾームの制御の仕組みを解明した。

Figure 2. TTC3 is a novel E3 ubiquitin ligase for Akt. Akt, a core intracellular survival regulator, is known to be activated at the plasma membrane and subsequently translocated to the nucleus. However, little is known about the silencing mechanisms of activated Akt after nuclear translocation. Based on the current study, TTC3 is a novel E3 ubiquitin ligase for Akt that preferentially binds to phosphorylated Akt, hence facilitating ubiquitination and proteasomal degradation within the nucleus. Since TTC3 is located within the DSCR of human Chromosome 21, the current study will provide not only the biological significances of the TTC3-Akt functional interaction, but also a new insight for the molecular mechanisms of DS, the most common genetic disorder in humans.

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 壽利



准教授・博士(獣医学)
大橋 貴



助教・博士(医学)
張 隄峰

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ない。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る。他方、感染を防御するためのワクチン開発は遅々としており、エイズ治療薬は延命効果を示したが、種々の問題を持っている。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ある。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る。

1. HIV ワクチン開発

HIV に対する免疫誘起方法として、我々は独自に開発したワクシニアウイルス LC16m8Δ 株をワクチン用のベクターとして用いることを提案している。ワクシニアウイルスは種痘として天然痘撲滅に寄与した大型 DNA ウイルスである。そのゲノム内には増殖に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換えワクシニアを作成すれば対 HIV ワクチンとなりえる。m8Δ 株は一定増殖して、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2005年に開発した。世界に類を見ない優れたワクシニア株である。また、外来遺伝子を効率よく発現できるプロモーターと、組換えワクシニアを簡便に作成する方法も開発した。そこで、日本 BCG 研究所と京都大学ウイルス研究所と協力して、猿エイズウイルス (SIV) への感染防御効果を調べた。そして、感染防御に成功するという画期的な成果を得た。すなわち、ヒトでの安全性が保証されている BCG 東京172型と m8Δ 株を SIV の遺伝子を発現できるように改変し、組み合わせると、インド産赤毛猿を免疫し

た。BCG は体内に長期間潜伏して免疫を刺激し続けるためにエフェクターメモリーT細胞 (Tem) の恒常的な生産と維持が期待できる。他方、m8Δ は抗体と T細胞受容体の affinity maturation を引き起こして、高親和性の抗体や細胞障害性T細胞 (CTL) を誘導し、Tem の元となるセントラルメモリーT細胞 (Tcm) を効率よく生産できる。インド産赤毛猿2頭に組換え BCG と m8Δ を prime/boost 法で免疫後、CD8+ T細胞による SIV 抑制活性と多機能性T細胞が誘導されていることを確認し、高病原性 SIVmac251 を直腸感染させて、感染防御能を調べた。SIVmac251 は抗体高度耐性で抗原多様性を持つウイルス群のために最も感染防御が難しいとされている。その結果、対照の猿2頭は容易に感染し、高い体内ウイルス量を示した。一方、より強い抗 SIV 免疫を誘導した猿は完全に防御され、免疫の弱かった猿でさえウイルス量を低く抑え、発症の遅延が期待された。この結果はヒトへの応用が可能な HIV-1 ワクチンとして世界初の快挙であり、現在実用化に向けて努力している。

また、従来方法では CTL か抗体のどちらかしか効率よく誘導できなかった。そのことが有効な抗 HIV-1 ワクチンのできなかった一因とも考えられる。そこで、我々は中和抗体と CTL の両方を効率よく誘導することを目的に、種々の免疫法を検討し、その結果、HIV-1 env を発現する m8Δ prime/センダイウイルスベクター (SeV) boost の免疫法を開発した。この方法は抗 HIV-1 CTL 誘導法として確立されている DNA prime/ウイルスベクター boost 法よりも効率よく CTL を誘導でき、かつ、高力価の抗 Env 抗体をも誘導した。さらに、免疫活性化因子 CD40Lm を共発現する m8Δ で免疫することによって、中和抗体を増強できることを見いだした。

2. 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、簡便な感染動物モデルがないことである。しかし、ラットはヒトの CD4 とケモカイン受容体を発現させて

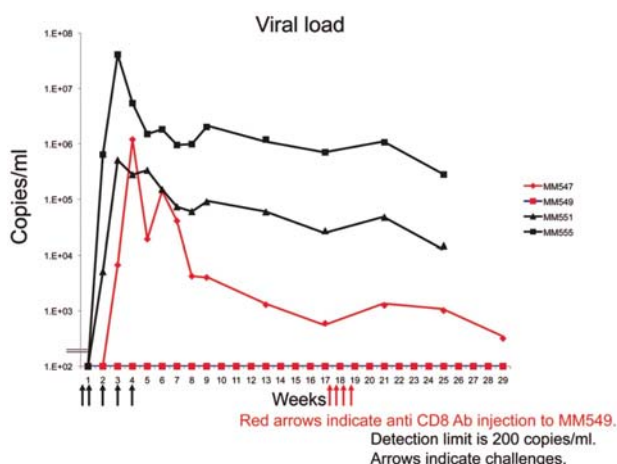


図1. 組換え BCG とワクシニア m8Δ 免疫による SIV の感染防御
SIV の遺伝子を発現する BCG でインド産赤毛猿を免疫し、続いて SIV の遺伝子を発現するワクシニア m8Δ でブーストした。最終免疫 8 週後に SIVmac251 を攻撃接種し、体内ウイルス量を定量 PCR で測定した。赤印が免疫猿で黒印が非免疫猿。

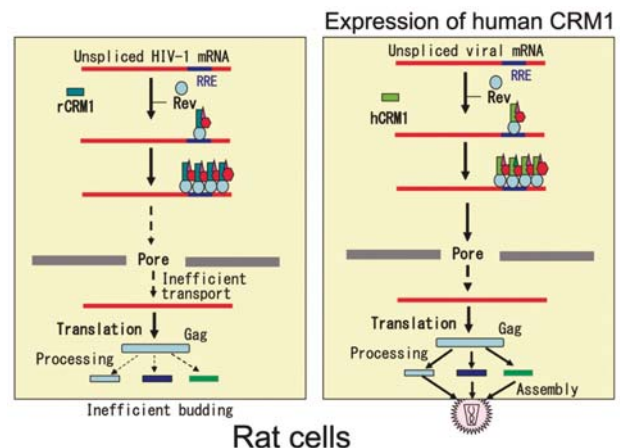


図2. ラット細胞内での HIV-1 の増殖における CRM1 の役割

やれば、HIV がわずかに増殖できる。そこで、ラットは HIV の良い感染動物モデルに改良できる可能性を秘めている。また、増殖は不十分なものの HTLV-1 感染モデルとして既に使用されている事からも有望である。

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、さらに他の研究グループが発見した受容体ヒト CD4、CCR5、CXCR4 と、Tat のコファクター CyclinT1 を発現する Tg ラットと掛け合わせる事によって 5 重のヒト CD4、CCR5、CXCR4、CyclinT1、CRM1 Tg ラットを作製した。この Tg ラットから調製したマクロファージに HIV-1 は効率よく感染し、ヒトマクロファージに準ずる量の感染性 HIV-1 が生産された。また、Tg ラットの T 細胞に効率よく感染できる条件を見いだした。現在当研究室では、さらにウイルスの放出過程と自然免疫からの回避過程を研究することによって、HIV-1 の効率の良い感染と増殖を許すラットを作製する事に努力している。

HTLV-1 感染ラットモデルとしてヒト CRM1 Tg ラットと免疫不全ヌードラットを用いて研究している。特に、ラット ATL 細胞をヌードラットに移植した ATL モデルにおいて、腫瘍溶解性ウイルスとしての m8Δ の有用性を検証し、副作用無しに腫瘍の増殖を抑制することを示した。また、HTLV-I Tax のエピトープを提示する MHC-I 単鎖三量体発現ワクシニアウイルスを作製し、本ウイルスが HTLV-I 特異的 CTL 細胞を活性化できるが無害であることを確認した。このワクシニアウイルスは、腫瘍溶解活性と HTLV-I 特異的免疫誘導活性の両方を有していることから、HTLV-I 感染モデルラットにおいてこれまでより強い抗 HTLV-I 効果が期待される。

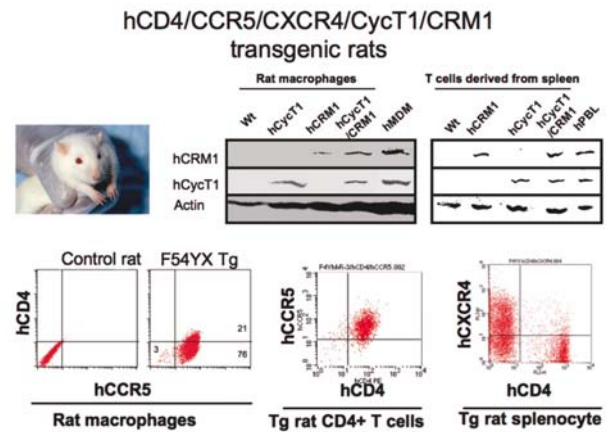


図 3 . ヒト CD4/CCR5/CXCR4/CyclinT1/CRM1 発現トランスジェニックラット

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. Development of anti HIV-1 vaccine

Replication-competent vaccinia virus that has been proven to be safe in human vaccination against small pox could be a good candidate for a vehicle for HIV-1 vaccine. Vaccinia LC16m8 strain has been shot to 100,000 people without any serious adverse effects. The LC16m8, however, has been found to be genetically unstable to generate spontaneously more virulent revertants from stock of LC16m8 viruses. To improve LC16m8, we constructed genetically stable LC16m8 Δ , 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 LC16m8 Δ could be a better vehicle for vaccines against HIV and other human diseases. We also developed a rapid method to construct LC16m8 Δ that express foreign genes. Therefore we constructed m8 Δ recombinants harboring the genes of simian immunodeficiency virus (SIV), and tested its ability to protect Indian rhesus macaques from SIV infection. Firstly we primed with the m8 Δ recombinants followed by boosting with BCG expressing the SIV genes in cooperation with Japan BCG institute and virus research institute, Kyoto University. After we confirmed that the vaccination

elicited anti SIV multifunctional CD8+ T cells that have capacity to suppress SIV propagation in vitro, we repeatedly challenged SIVmc251 through rectal route. Since SIVmac251 is a swarm of viruses that are highly resistant to anti SIV antibodies, it mimics HIV-1 infection in humans. Our vaccination completely protected one macaque and significantly reduced viral load in another monkey, which may delay onset of AIDS, while two unvaccinated macaques showed high viral load throughout the experimental period. These results encourage us to promote these vaccines for human trials.

2. New rat models 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 HIV-1/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. And then, we mated it with rats expressing human receptors, CD4, CCR5, and CXCR4, and human cyclinT1, a cofactor for Tat to finally construct Tg rats expressing human CD4/CCR5/CXCR4/CyclinT1/CRM1. HIV-1 efficiently infected macrophages prepared from the Tg rat and produced infectious progeny viruses at 1/3-1/6 levels of human macrophages. Moreover we found the condition that supports efficient infection to rat CD4+ T cells. Currently we are examining the efficiency of budding process and the effect of rat innate immunity in order to construct better rat infection models.

We have been using human CRM1 Tg rats and immunodeficiency nude rats as model animals for

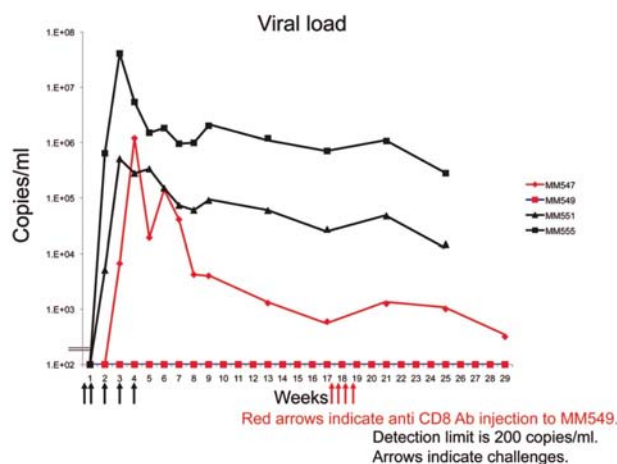


Fig. 1. Protection of macaques from SIV infection by vaccination with BCG and vaccinia m8 Δ that express the SIV genes. Indian rhesus macaques have been immunized with BCGs expressing the SIV genes followed by boosting with vaccinia m8 Δ s expressing the SIV genes. Eight weeks after the final immunization, SIVmac251 was challenged and viral loads were quantified by quantitative PCR.

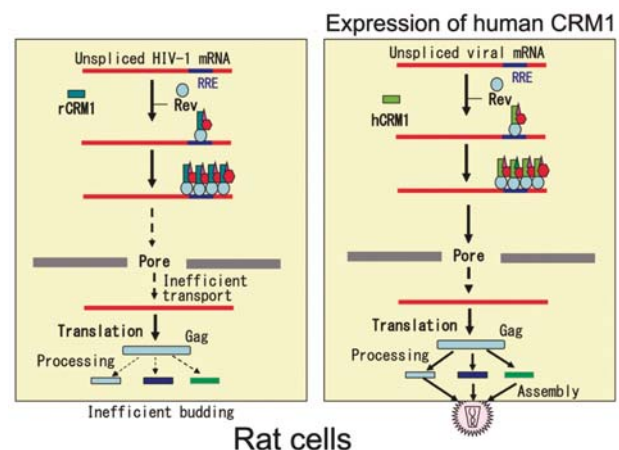


Fig. 2. Roles of CRM1 in propagation of HIV-1 in rat cells.

HTLV-1 infection. Particularly, we demonstrated tumor-killing activity of vaccinia m8Δ without adverse effect in the nude rats in which rat ATL cells were transplanted. We also constructed m8Δ that harbors HTLV-I Tax-specific epitope expressing Single-Chain Trimers (SCTs) of MHC Class I, and showed this virus to be able to activate HTLV-1 specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) but not to lyse the CTL. It can be expected that this recombinant m8Δ has more potent anti tumor activity because it possesses both tumor-killing and CTL activating activities.

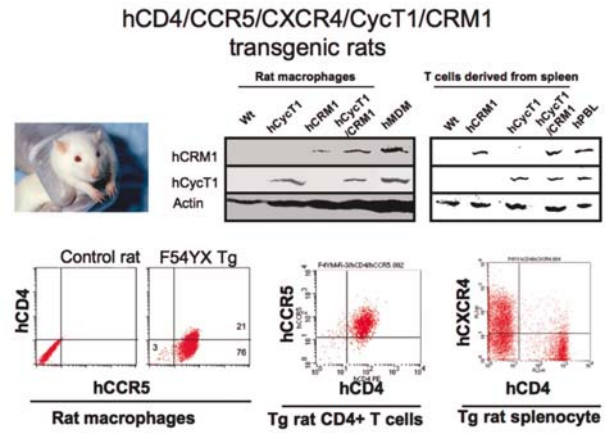


Fig. 3. Human CD4/CCR5/CXCR4/CRM1/CyclinT1 expressing transgenic rats

分子腫瘍分野

研究課題

癌細胞と正常上皮細胞との相互作用



教授・博士(医学)
藤田 恭之



助教・博士(医学)
梶田美穂子



助教・博士(医学)
加藤 洋人

1980年頃に最初の癌遺伝子 *Src* が発見されて以来、数多くの癌遺伝子あるいは癌抑制遺伝子が同定されてきました。そして、それらの変異がどのように細胞のシグナル伝達や性状に影響を与えるのかについて明らかにされてきました。現在の癌治療の潮流は、それらの知識をもとに癌細胞と正常細胞の差異をターゲットにして癌細胞を特異的にたたくというものです。しかし、それらの研究において、癌は正常な細胞から起こり、正常な細胞に囲まれながら増えていくという事実はあまり顧みられることはありませんでした。癌細胞と周りの正常細胞はお互いの存在を認識できるのでしょうか？ また、両者は何か作用を及ぼし合うのでしょうか？

私たちの研究室では、新たに確立した培養細胞系を用いて、正常上皮細胞と様々なタイプの変異細胞との境界で起こる現象を解析しています。非常に面白いことに、癌遺伝子 *Src* や *Ras* 変異細胞が正常細胞に囲まれると、変異細胞内の様々なシグナル伝達が活性化され、その結果、変異細胞が正常上皮細胞層からはじき出されるように管腔側（体の外側）へと排出されることが観察されました (Hogan et al., 2009, *Nature Cell Biology*; Kajita et al., 2010, *Journal of Cell Science*)。またある種の癌抑制遺伝子変異細胞は正常細胞に囲まれるとアポトーシスを起こし正常上皮細胞層から失われていくことも明らかとなりました(未発表データ)。これらの現象は変異細胞のみを培養した時には見られないことから、周囲の正常細胞の存在が、変異細胞のシグナル伝達や性状に大きな影響を与えることを示しています。これらの研究は非常に新奇なものであり、現在多くの研究者たちの注目を集めつつあります (*Nature*, Research Highlight, 2010,

vol 463 など)。

次の大きなクエスチョンは、どのような分子メカニズムで正常細胞と癌細胞がお互いを認識しそれぞれのシグナル伝達を制御するのかです。今後はそれらに関わる重要な分子の特定に全力で立ち向かっていきたいと考えています。正常細胞と癌細胞の境界で特異的に機能している分子が特定できれば、それらはドラッグターゲットあるいは診断のマーカーとなります。正常細胞が癌細胞を排除するメカニズムを活性化する、あるいは癌細胞が正常細胞からの排除を免れるメカニズムを不活性化する、すなわち、『周辺の正常細胞に癌細胞を攻撃させる』という、従来の癌治療の観点とは全く異なった新奇の癌治療へとつなげていきたいと考えています。また、正常細胞と癌細胞間の境界分子の同定は、これまで技術的に検出の難しかった形態変化を伴わない初期癌 (field cancerization) の新たな検出方法の開発につながっていくものと期待されます。

以下に、我々の研究成果の一つを紹介させていただきます。

Characterization of the interface between normal and Ras-transformed epithelial cells

(Hogan et al., 2009, *Nature Cell Biology*)

Ras は最も研究の進んでいる癌遺伝子の一つであり、ヒトの癌の30%でその変異が認められている。正常上皮細胞と *Ras* 変異上皮細胞の境界で起こる現象を解析するため、最初に私たちは GFP タグをつけた活性化型(発癌性) *Ras* (*RasV12*) をテトラサイクリン依存性に発現する MDCK 上皮細胞株 (MDCK-pTR GFP-*RasV12*) を確立した。まず、MDCK-pTR GFP-*RasV12* 細胞を蛍光性色素 (CMTPX) でマークした後、非変異性の MDCK 細胞と1:100の割合で混ぜ、コラーゲン上で共培養した。細胞が一層の上皮細胞層を形成した後、テトラサイクリンを添加し、正常細胞に囲まれた *Ras* 変異細胞がどのような挙動を示すのか観察した。すると、テトラサイクリン添加13-25時間後に *Ras* 変異細胞が上皮細胞層の apical 側(管腔側)に弾き出されるように逸脱するのが観察された。*Ras* 変異細胞は逸脱した後も増殖を続け大きな細胞塊を形成した (Fig. 1a)。重要なことに、蛍光色素で染めた *Ras* 変異細胞を染めていない *Ras* 変異細胞と共培養しても細胞層からの逸脱は観察されなかった

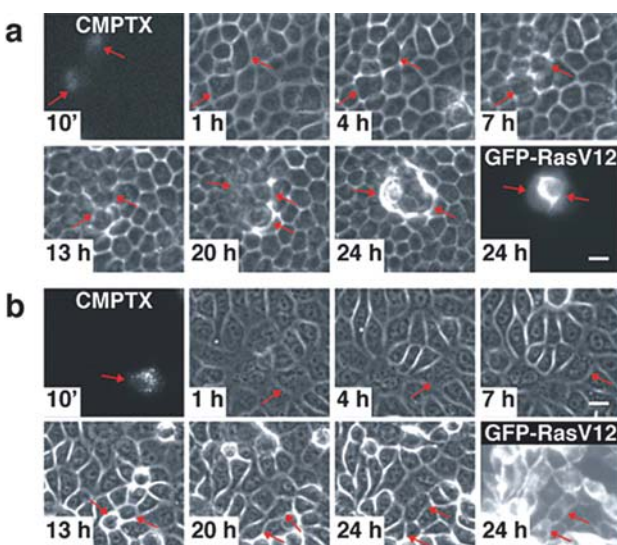


Fig. 1. *Ras V12* を発現する上皮細胞は、周囲の正常上皮細胞から非細胞自律的に apical 側に排除される。MDCK-pTR GFP-*RasV12* 細胞と a 正常 MDCK 細胞、あるいは b MDCK-pTR GFP-*RasV12* 細胞を1:100の比率で混合してコラーゲン上で培養し、テトラサイクリン処理により GFP-*RasV12* を誘導した。赤矢印は *Ras V12* 発現細胞を染色したものである。

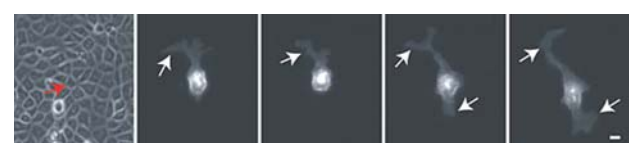


Fig. 2. 排除されなかった GFP-*RasV12* 発現細胞は、周囲の MDCK 細胞の直下にダイナミックな突起を形成する。写真は正常細胞に囲まれた GFP-*RasV12* 発現細胞(赤矢印)をタイムラプス画像解析したものである。白矢印は突起を示す。

(Fig. 1b)。このことは、*Ras* 変異細胞の上皮細胞層からの逸脱には、周りの正常細胞の存在が必要であることを示唆している。正常細胞に囲まれた80%以上の *Ras* 変異細胞は上皮細胞層の apical 側に逸脱したが、その他の *Ras* 変異細胞は逸脱しなかった。私たちは apical 側に逸脱しなかった *Ras* 変異細胞が周囲の正常細胞の basal 側（基底側）に大きな突起（時に 4-5 細胞長に及ぶ）を伸展・退縮させていることを見いだした (Fig. 2)。 *Ras* 変異細胞のみを培養したときにはそのような大きな突起の形成は見られなかった。このことは、 basal 側の突起の形成には *Ras* 変異のみでなく周囲の正常細胞の存在が必要であることを示している。このように、正常上皮細胞層で1つの細胞に *Ras* 変異が起ると2つの異なる現象が非細胞自律性 (non-cell-autonomous) に生じる (Fig. 3) : *Ras* 変異細胞は apical 側に逸脱するか、 basal 側に突起をのぼして基底側マトリックスに浸潤していく。私たちはさらに、正常細胞に囲まれた *Ras* 変異細胞内で *Cdc42* やミオシン-II など様々なシグナル伝達経路が活性化することも見いだした。 *Ras* 変異細胞内の *Cdc42* あるいは *ROCK* 活性、および周囲の正常細胞の E-カドヘリンを介する細胞間接着の状態が、 *Ras* 変異細胞が apical 側に逸脱するかあるいは basal 側に突起をのぼすかの選択に大きな影響を与える。このように、 *Ras* 変異細胞とそれを取り巻く正常細胞内のシグナルのトータルのバランスが正常上皮細胞層内での *Ras* 変異細胞の挙動を決定することが明らかになった。

この研究で最も大切な点は、周囲の正常細胞の存在が、 *Ras* 変異細胞の細胞内シグナル伝達とその挙動に大きな影響を与えることである。

今後の研究課題

1) 正常上皮細胞と様々なタイプの変異細胞との境界でおこる多様な現象の詳細な解析

これまでの私たちの研究で、正常上皮細胞に囲まれた変異細胞が、 apical 側に逸脱する、あるいはアポトーシスによって上皮細胞層から除去されることが明らかとなった。今後、これらの過程でどのようなシグナル伝達系が関与しているかその詳細を明らかにしていきたい。

2) 正常上皮細胞と変異細胞の細胞間認識メカニズムの解明

最も魅力的かつ難しいクエスチョンは、『どのようにして正常細胞と変異細胞がお互いの違いを認識しているのか』である。現在私たちは、生化学的な手法を主に用いて、細胞間認識メカニズムに関与している分子のスクリーニングを精力的に行っている。

3) In vivo システムの確立

もう一つの大切なクエスチョンは、私たちが培養細胞で見いだした現象が実際に生体内でも起こっているのか、である。私たちは現在、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、マウスを用いて正常上皮細胞と変異細胞間でどのような現象が生じるのか解析を始めている。

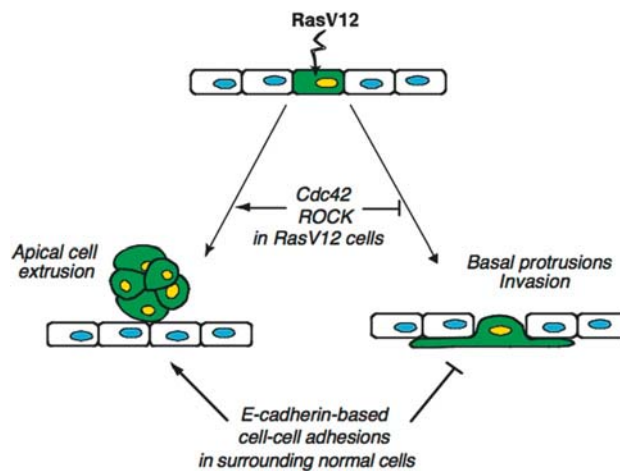


Fig. 3. 正常上皮細胞層中に混入した *RasV12* 変異細胞の運命モデル。

Division of Molecular Oncology

Research Project:

Interface between normal and transformed epithelial cells

Professor **Yasuyuki FUJITA, M.D., Ph.D.**

Assistant Professor **Mihoko KAJITA, Ph.D.**

Assistant Professor **Hiroto KATO, M.D., Ph.D.**

Cell transformation arises from the activation of oncoproteins and/or inactivation of tumour suppressor proteins. The molecular mechanisms whereby these mutations cause cell transformation have been intensively studied by many researchers, and a variety of cell-autonomous signalling pathways have been revealed. On the other hand, the fact that cancer cells live in “a society of normal cells” has been overlooked or neglected in most studies. During the initial stage of carcinogenesis, transformation occurs in a single cell within an epithelial monolayer, however it remains unclear what happens at the interface between normal and transformed cells during this process. Do surrounding normal cells, for example, recognise the transformation that has occurred in their neighbour? What is the fate of the transformed cell when surrounded by normal cells? Using newly established cell culture systems, we have found that the interaction with surrounding normal epithelial cells affect signalling pathways and behaviour of transformed cells. One of our recent studies is introduced below.

Characterization of the interface between normal and Ras-transformed epithelial cells

(Hogan et al., 2009, *Nature Cell Biology*)

Ras is one of the best-characterized oncogenes,

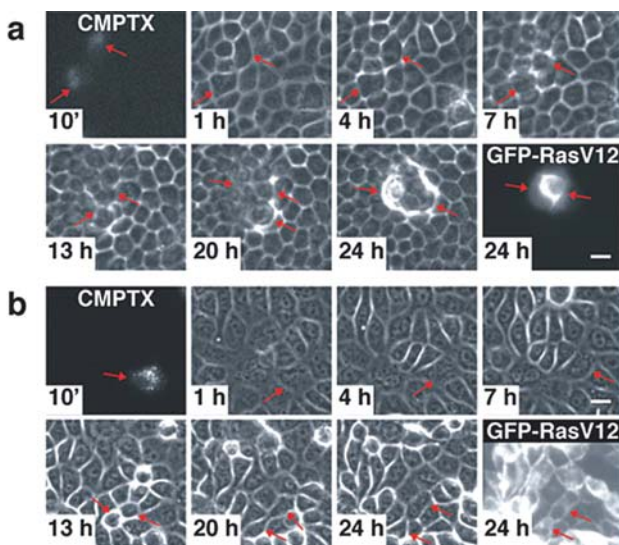


Fig. 1. Epithelial cells expressing RasV12 are apically extruded from surrounding normal epithelium in a non-cell-autonomous manner. MDCK-pTR GFP-RasV12 cells are mixed with a normal MDCK cells or b MDCK-pTR GFP-RasV12 cells at a ratio of 1:100 and cultured on collagen, followed by tetracycline treatment. Red arrows: fluorescently labeled Ras V12 cells.

and the mutations in the Ras gene are found in more than 30% of malignant human tumours. To characterize the interface between normal and Ras-transformed epithelial cells, we established MDCK epithelial cells expressing GFP-tagged constitutively active oncogenic Ras (RasV12) in a tetracycline-inducible manner (MDCK-pTR GFP-RasV12). To examine the fate of a single RasV12 cell in a monolayer of non-transformed MDCK cells, MDCK-pTR GFP-RasV12 cells were labelled with fluorescent dye (CMPTX) and mixed with normal MDCK cells at a ratio of 1:100. The mixture of cells was then cultured on collagen matrix in the absence of tetracycline until a monolayer was formed. Subsequently, GFP-RasV12 expression was induced with tetracycline and the fate of RasV12 cells surrounded by normal cells was observed. Within 13-25 h after tetracycline addition, the RasV12 cells were often extruded from the apical surface of the monolayer (Fig. 1a). After extrusion, RasV12 cells continued to proliferate and formed multi-cellular aggregates (Fig. 1a). Importantly, fluorescently labelled RasV12 cells were not extruded when mixed with non-stained RasV12 cells (Fig. 1b), suggesting that the extrusion of RasV12 cells depends on the interaction with non-transformed cells. These data indicate that the extrusion of RasV12 cells occurs in a non-cell-autonomous manner, only when they are surrounded by normal cells.

Although the majority of RasV12 cells were apically extruded when surrounded by normal cells, some of RasV12 cells were not extruded. We observed that non-extruded RasV12 cells produced large protrusions that dynamically extended and retracted, often over distances of several cell diameters (Fig. 2). Confocal microscopy analyses revealed that these protrusions extended beneath the neighbouring non-transformed cells. When expression of RasV12 was induced in a group of cells within a monolayer of normal cells, major protrusions were frequently formed at the interface between RasV12 and non-transformed cells, but were rarely observed between RasV12 cells. This indicates that protrusion formation also depends on the interaction between normal and RasV12 cells.

In summary, when RasV12 is expressed in single cells within an epithelial monolayer, two independent phenomena can occur in a non-cell-autonomous manner (Fig. 3). RasV12-expressing cells are either apically extruded from the monolayer or form basal protrusions leading to basal invasion into a matrix. We also showed that various signalling molecules

including Cdc42 and Myosin-II were activated in RasV12 cells when they were surrounded by normal cells and that the fate of RasV12 cells is influenced by activity of Cdc42 and ROCK in RasV12 cells and by E-cadherin-based cell-cell adhesions in the surrounding normal cells. Thus, the total balance of multiple signalling pathways in normal and RasV12 cells affects the fate of RasV12 cells in the epithelial monolayer, and RasV12 cells leave epithelial sheets either apically or basally in a cell-context-dependent manner.

The most crucial findings in this study are that RasV12-transformed cells are able to recognize a difference(s) in the surrounding normal cells and that the presence of surrounding normal cells influences various signalling pathways and behaviours of RasV12 cells.

Future plan

1) Characterization of the interface between normal and other types of transformed cells.

Our preliminary results suggest that the presence of surrounding normal cells influences signalling pathways and fate of other types of transformed cells, leading to apical extrusion or apoptosis of transformed cells. To understand molecular mechanisms, detailed characterization and analysis of these phenomena will be required.

2) Identification and characterization of molecules that are involved in cell recognition between normal and transformed cells and in various phenomena occurring at the interface.

The most fascinating question is how cells “sense” the differences with their neighbours and how various signalling pathways are regulated accordingly. To investigate these molecular mechanisms, we are currently using two screening methods: proteomic approach and cDNA microarray.

3) Establishment of *in vivo* systems: *Drosophila* and Zebrafish.

Another vital question is whether the phenomena that we have observed in cell culture systems also occur *in vivo*. We are going to utilize *Drosophila melanogaster* and zebrafish systems to this end.



Fig. 2. Non-extruded GFP-RasV12 cells produce dynamic basal protrusions beneath the neighbouring MDCK cells. Images are extracted from a time-lapse analysis of a GFP-RasV12 cell (red arrow) surrounded by normal cells. White arrows: protrusions.

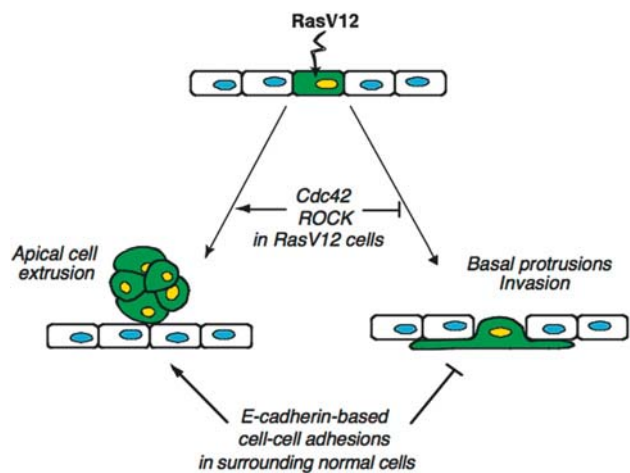


Fig. 3. A model showing the fate of RasV12-transformed cells within a monolayer of normal epithelial cells.

免疫生物分野

研究課題

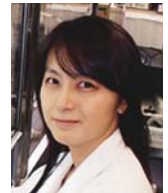
NKT 細胞に関する研究及び多能性幹細胞を用いた新しい免疫学研究



教授・医学博士
清野 研一郎



講師・医学博士
香城 諭

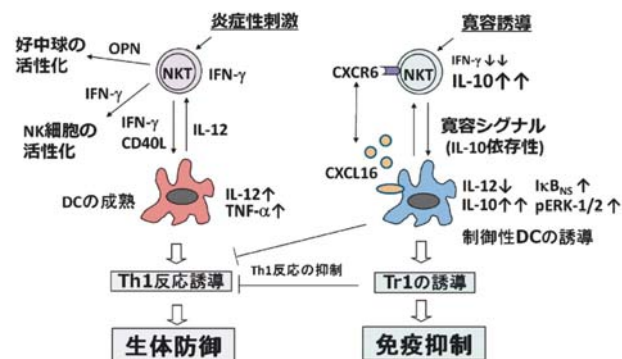


講師・生命科学博士
和田 はるか

当分野では、清野が消化器外科出身ということもあり、まず病態としては癌及び臓器移植に関連する免疫反応に関心を寄せている。中でも自然免疫と獲得免疫をつなぐ重要な細胞である NKT 細胞の機能に着目し、その分子機構の解析を行っている。また、新しい免疫学研究の方向性を見出すべく、ES 細胞や iPS 細胞といった多能性幹細胞意を用いた新しい免疫制御法に関する研究を行っている。さらに、NKT 細胞だけでなく、 $\gamma\delta$ T 細胞など、自然免疫リンパ球といわれる一群の免疫細胞についても解析を行っている。それらの知見をもとに生体にとって有利な免疫応答を誘導する方法、すなわち新しい治療法の開発を目指して研究を進めている。

1. NKT 細胞のサイトカイン産生メカニズムに関する研究

Natural Killer T (NKT) 細胞は自然免疫と獲得免疫の橋渡しを担う免疫系の制御に重要な免疫細胞のひとつである。我々は以前、NKT 細胞は刺激を受ける状況(慢性刺激であるかそうでないかなど)によってサイトカインの産生パターンを大きく変化させ、樹状細胞の機能変化をもたらし、Th1/Th2 を含む獲得免疫の方向性を制御していることを明らかにした(図1)。その分子メカニズムとして、NKT 細胞は慢性的な刺激を受けると IFN- γ の産生をほとんどなくなるが、同時に E3 ユビキチンリガーゼ Cbl-b の発現が高まる。活性化 NKT 細胞内ではこの Cbl-b が NF κ B 経路の CARMA1 に結合し、モノユビキチン化を誘導する。この結果、NF κ B 経路が強く抑制され、最終的に IFN- γ の産生抑制が誘導される(図2)。また、NKT 細胞が活性化された個体から得られた樹状細胞では ERK-1/2 のリン酸化及び I κ BNS の働きを通じ IL-10 の産生亢進ならびに IL-12 の低下が起きていること、さらに NKT 細胞の働きを制御するケモカインとして CXCL16 の役割が大きいことなどについても明らかにした(図1)。引き続き、NKT 細胞のサイトカイン産生メカニズムについて解析を進めている。



Reviewed in *Nat Immunol* 4 (2003), *Front Bioscience* 9 (2004), *J Exp Med* 202 (2005)

図1. NKT 細胞による2つの作用—免疫活性化と抑制

Fig. 1. Mechanisms of diverse two effects of NKT cells; immune-activation and suppression

2. 多能性幹細胞を用いた新しい免疫学研究の開拓

近年、ES 細胞や iPS 細胞といった多能性幹細胞を用いた再生医療の開発が期待されている。一方、その際に起こる免疫反応についてはあまり大きな関心は払われていない。我々はこの多能性幹細胞の多分化能、あるいは iPS 細胞の作製技術を生かした新しい免疫学研究の展開を模索している。これまでに、採血のみによって入手可能な末梢 B 細胞から山名 4 因子のみで iPS 細胞の樹立に成功(図3)、また試験管内の免疫細胞分化の特徴について明らかにしてきた。今後、マウスモデルで治療応用を試みるとともに、免疫制御法開発などの応用を進めて行く。

3. 免疫細胞分化の可塑性に関する研究

ガンマデルタ T ($\gamma\delta$ T) 細胞は NKT 細胞と同じく自然免疫リンパ球に分類される T 細胞の一種であり、生体防御の一翼を担っていると考えられてきた。最近我々は、ヒト $\gamma\delta$ T 細胞は bisphosphonate のひとつ zoledronate によって刺激を受けると、MHC class II のみならず CD80/86 などの副刺激分子の発現を高め、抗原提示細胞にその形質も機能も変化させようを見出した。これは、T 細胞の大多数を占める $\alpha\beta$ T 細胞には見られない特徴であり、 $\gamma\delta$ T 細胞のみでこのような可塑性がみられる分子メカニズムについて解析中である。また、この $\gamma\delta$ T 細胞を用いた新しいがんや感染症に対する細胞療法の可能性が考えられ(図4)、そのような応用も図っている。

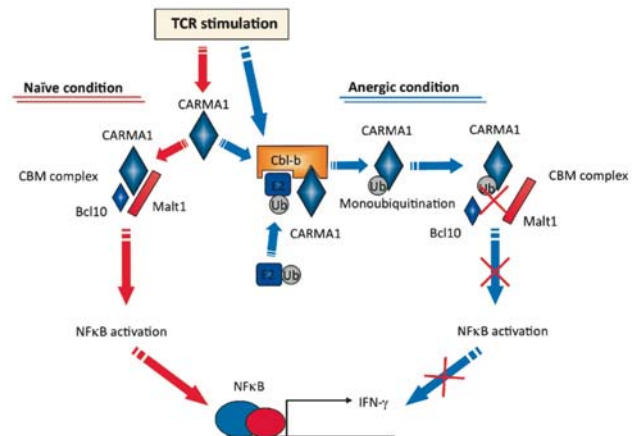


図2. E3 ユビキチンリガーゼ Cbl-b による NKT 細胞 IFN- γ の産生制御機構

Fig. 2. Mechanisms of NKT cell IFN-gamma downregulation mediated by E3 ubiquitin ligase Cbl-b.

Division of Immunobiology

Research Project:

Research on NKT cell function and development of a novel immunological study using pluripotent stem cells

Professor **Ken-ichiro SEINO, M.D., Ph.D.**

Lecturer **Satoshi KOJO, Ph.D.**

Lecturer **Haruka WADA, Ph.D.**

In our division, we are focusing the cellular and molecular mechanisms of differentiation of immune cells, which are involved in both innate and acquired immunity. The final goal of our Division is to develop techniques that can be applicable for therapy of immune-related diseases including cancer and transplant tolerance.

1. Analysis of molecular mechanisms of NKT cell cytokine production

Natural Killer T (NKT) cells are one of immune-regulatory T cells. NKT cells involve in both innate and acquired immunity and bridge them. We have found that NKT cells change their cytokine production pattern according to the kind or mode of stimulation. When NKT cells receive chronic stimulation, they stopped IFN-g production and upregulate IL-10, which contribute to the induction of IL-10-producing regulatory dendritic cells. We also found that the IFN-g downregulation is mediated by E3 ubiquitin ligase Cbl-b. We also detected an importance of phosphorylation of ERK-1/2 and I κ BNS in the dendritic cells for the regulatory change. We are still investigating the molecular mechanisms of NKT cell cytokine production and immune regulation.

2. Establishment of new immunological study using iPS cell technology

Recently, ES or iPS cells, which are very powerful tools for regenerative medicine, have been established. The emergence of these cells prompted us to grope around for establishing new immunological study which is based on the iPS cell technology and cell reprogramming. To date, we have generated iPS cells from peripheral B cells. Furthermore, we also found some characteristics of immune cell differentiation from iPS cells in vitro. We will examine the therapeutic potential of the differentiated cells from iPS cells and also explore the possibility of new immunological study using iPS cells and related technol-

ogy.

3. Plasticity of differentiated immune cells

$\gamma\delta$ T cells are one of innate lymphocytes involving in host-defense. We have recently found that $\gamma\delta$ T cells can change both phenotype and function into those of antigen-presenting cells upon stimulation. When they are activated with one of bisphosphonates, zoledronate, they upregulate to express MHC class II as well as costimulatory molecules such as CD80/86. Such a plasticity of immune cell is not observed in the majority of T cell, $\alpha\beta$ T cell, and we are investigating the molecular mechanisms which specifically induce the APC-like change only in $\gamma\delta$ T cells. These findings may help establish a new therapeutic modality against infectious diseases and cancer.

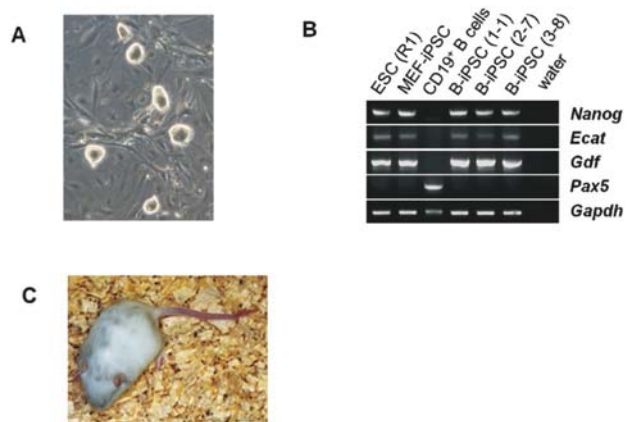


図3. 末梢B細胞からのiPS細胞の樹立

A ES細胞に類似した形態、B 誘導されたiPS細胞の遺伝子発現、C B-iPS細胞によるキメラマウス作製

Fig. 3. Generation of iPS cell from peripheral B cells

A, ES cell-like appearance B, Gene expressions by the B-iPS cells C, Chimera mice generated with B-iPS cell

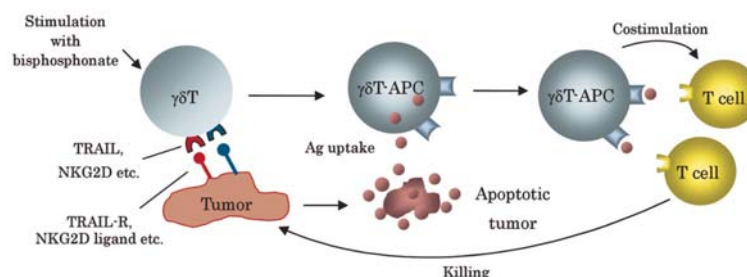


図4. $\gamma\delta$ T-APCを介した抗腫瘍効果の誘導機序(仮説)

Fig. 4. Possible induction pathway of anti-tumor response by $\gamma\delta$ T-APC

疾患モデル創成分野

研究課題

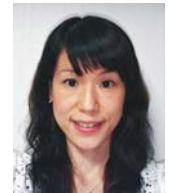
癌・免疫疾患モデル動物および 抗病性動物の開発



准教授・博士(獣医学)
森松 正美



助教・博士(獣医学)
富岡 幸子



助教・博士(薬学)
森岡 裕香

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標としている。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。また、疾患モデル動物作製の基礎となる、新しい遺伝子改変技術の開発にも取り組んでいる。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、かゆみをとも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。

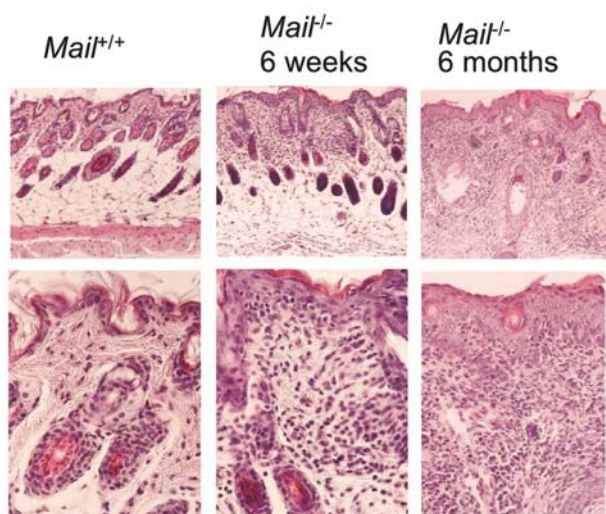


図1. 核内 I κ B タンパク質 MAIL をノックアウトしたマウスのアトピー性皮膚炎様の病態。HE 染色した皮膚組織に表皮の肥厚と炎症性の細胞浸潤が認められる。

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. 仮性狂犬病ウイルス感染抵抗性動物

ヘルペス仮性狂犬病ウイルスやインフルエンザウイルスの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。

5. レンチウイルスベクターを利用した胎盤特異的な遺伝子改変技術の開発と応用

レンチウイルスベクターは、ウイルス感染の物理的障害となる透明帯を除去したマウス初期胚に効率良く感染する。受精卵や 2 細胞期胚に感染させると、胎盤と胎児の両方に遺伝子が導入されるが、胚盤胞期胚に感染させると、外側の栄養外胚葉層のみにウイルスが感染し、結果として胎盤特異的に遺伝子が発現する。独自に開発した胎盤特異的な遺伝子改変技術を応用し、異常妊娠の病態を反映したモデルマウスの確立を試みるとともに、妊娠の成立や維持に関わる遺伝子機能の解明を目指した研究を遂行している。

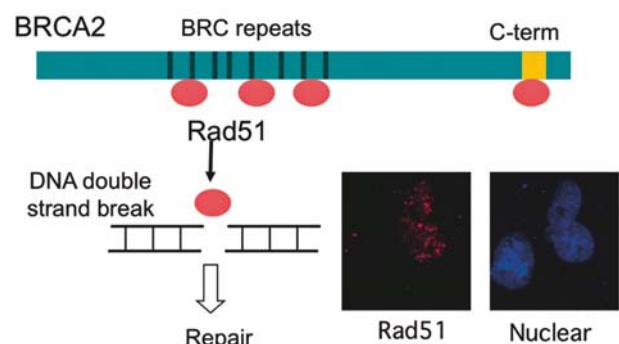


図2. BRCA2 タンパク質は組換え酵素 Rad51 を DNA 二本鎖切断部位に運んで損傷を修復させる。写真は、放射線照射した細胞の核で DNA 損傷部位に Rad51 がフォーカス形成している様子を示す。

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.**

Assistant Professor **Yuka MORIOKA, 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 I κ B 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.

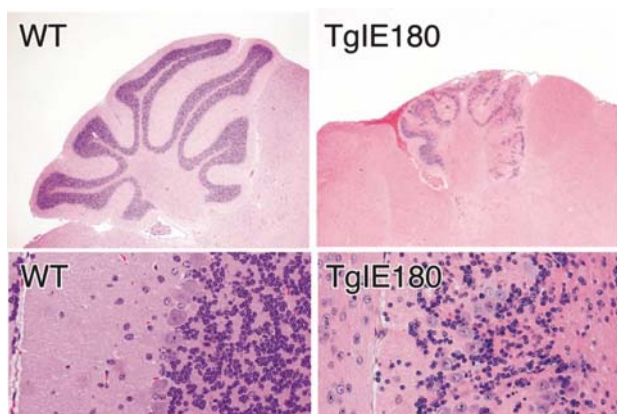


図3. 仮性狂犬病ウイルスの転写調節因子 IE180 を発現するトランスジェニックマウス (TgIE180) は小脳形成不全を呈する。
Fig. 3. The transgenic mice expressing IE180, transcription factor of pseudorabies virus, show cerebellar dysplasia.

4. Generation of pseudorabies-resistant animals with enhanced resistance to virus infection

Transgenic mice expressing resistant genes against herpesvirus or influenza virus/pseudorabies were generated for the development of livestock with enhanced resistance to virus infection/pseudorabies.

5. Development and application of novel gene manipulation method.

Lentiviral vector transduction of blastocysts after removal of the zona pellucida results in trophoblast- and placenta-specific gene incorporation.

By applying this technique, we are planning to elucidate the mechanisms of implantation and placentation that were impossible until now with the currently available methods.

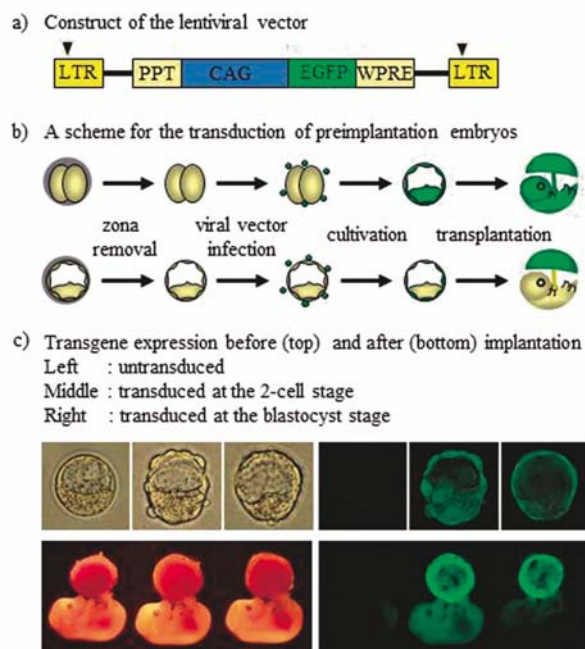


図4. レンチウイルスベクターを2細胞期胚に感染させると、胎児と胎盤の両方に遺伝子が導入されるが、胚盤胞期胚に感染させると、外側の栄養外胚葉層のみにウイルスが感染し、結果として胎盤特異的に遺伝子が発現する。

Fig. 4. Embryos transduced with lentiviral vector at the two-cell stage showed transgene incorporation in both the fetus and placenta. By contrast, lentiviral transduction of blastocysts resulted in trophoblast- and placenta-specific gene expression.

免疫制御分野

研究課題

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)
脇田 大功

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、地域社会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 細胞の活性化を基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の機能制御；(c) 癌ワクチン療法/Th1 細胞治療の実施；(d) 癌幹細胞を標的とした新規癌免疫療法の開発；(e) 炎症と発癌機構の解明；(f) 担癌生体内における免疫抑制細胞群の解析などがある。特に癌ワクチン治療については、第 II 臨床試験を開始し、癌免疫治療の有効性の検証とその機序解明に関する研究を実施している。

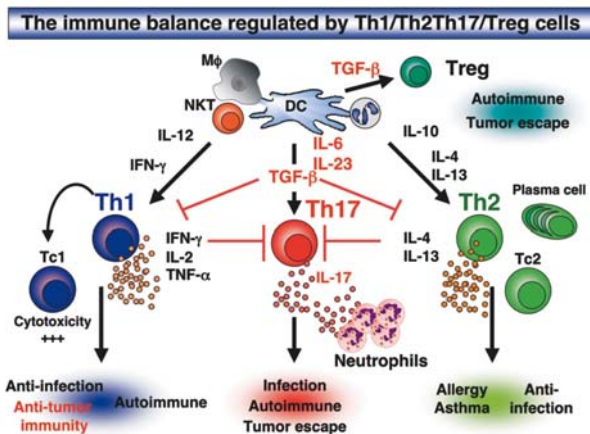


図 1. 免疫バランス制御の機序解明と疾患治療への応用

抗原提示を受けた naïve CD4⁺ T 細胞は、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、抗原を駆逐する。しかし、その機構が過剰に活性化されると、炎症性自己免疫疾患 (Th1) やアレルギー (Th2) などの原因となる。また免疫抑制性サイトカインである TGF-β やあるいは IL-6 が産生される場では Treg や Th17 が誘導され、大腸炎といった自己免疫疾患の発症に関与している。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, naïve CD4⁺ T cells (Th) can differentiate into functionally distinct two subtypes, Th1 cells and Th2 cells, which eliminate the antigen. 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 or IL-6, which are closely related with various autoimmune diseases such as colitis. The control of the immune-balance is essential for the therapy in cancer and various immune diseases.

2. 免疫病治療に関する研究

Th1/Th2/Th17/Treg といったヘルパー T 細胞サブセットによって制御されている免疫バランスの不均衡により、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、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、その発症機序を解明し、ヘルパー T 細胞を基軸とした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。これまでに、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 あるいは Th17 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 T 細胞の誘導機序、神経ペプチドによる免疫応答制御と気道過敏性への関与についても解明した。

3. 免疫バランス制御メカニズムの解明

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、Th1/Th2 免疫バランス制御因子による制御機構を明確にできれば、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、免疫バランス制御因子の解析および同定を目指した DNA アレイ評価システムを開発している。また最近、DNA メチル化等エピジェネティック解析も行ない、新規制御因子の検索および機能分子の同定を行なっている。

Division of Immunoregulation

Research Project:

The control of immune balance regulated by Th1/Th2/Th17/Treg cells and its application to immune therapy for immune diseases including cancer, allergy, and autoimmune diseases.

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

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

Assistant Professor **Daiko WAKITA, Ph.D.**

In this section, we have been investigating the pivotal role of regulation for the immune balance regulated by Th1/Th2/Th17/Treg cells and its application to development of novel immune therapy for immune diseases including cancer, allergy, and autoimmune diseases. We, therefore, have pursued the precise mechanisms in the occurrence of the diseases using our originally established animal disease models. We also aim to contribute to society through our basic and translational studies.

1. Tumor immunology

Our goal of tumor immunology is to develop a novel tumor immunotherapy using tumor-antigen specific T helper type 1 (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) Regulation of dendritic cell (DC) function useful for tumor immunotherapy; (c) Clinical trials of tumor-vaccine/Th1 cell therapy; (d) Development of novel immunotherapy targeting cancer stem cells (CSC); (e) Roles of inflammation in carcinogenesis; (f) Generation of immunosuppressive cells in tumor bearing state. Recently, we started phase II clinical trial

of tumor vaccine therapy and are investing the efficacy and immune regulatory mechanisms in cancer patients.

2. Immune diseases

It is now accepted that the imbalance of Th1/Th2 or Th17/Treg immunity becomes the cause of various immune diseases. Indeed, we first demonstrated that Th1 cells play a pivotal role in fulminant hepatitis. Moreover, airway hypersensitivity was induced by Th1 and Th17 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/Treg cells in the occurrence of immune diseases using our established original animal models of dermatitis, allergy, liver injury, colitis, and GVHD. We also pursue to develop the world's first immunotherapy through the control of the immune balance regulated by helper T subsets.

3. Identification of critical factors involved in regulation of immune balances

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 the immune balance regulated by Th1/Th2/Th17/Treg cells, 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 or Th17/Treg status using DNA array system and by epigenetic analysis.

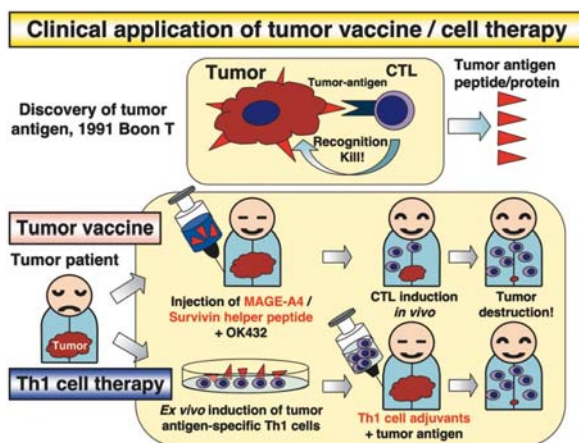


図2. 癌治療法開発に向けたトランスレーショナルリサーチ：癌ワクチン/細胞治療
北海道大学病院との共同でOK432と癌抗原 MAGE-A4 あるいは Survivin ヘルパーペプチドを用いた癌ワクチン療法を開始している。さらに *ex vivo* で誘導した癌特異的 Th1 細胞を用いた細胞治療も実施予定である。これらのヘルパーT細胞を基軸とした臨床試験は世界で初めて実施される癌治療研究である。

Fig. 2. Translational research: Tumor vaccine/cell therapy
We start clinical trials of our developed tumor immunotherapy. The tumor vaccine therapy using OK432 and tumor antigen (MAGE-A4 or Survivin) helper peptide is starting at Hokkaido University Hospital. Th1 cell therapy using tumor-specific Th1 cells generated *ex vivo* is also planning to start the world's first clinical trial.

膜リン脂質非対称性の生理的意義の解明



教授・工学博士
田中 一馬



助教・博士(バイオサイエンス)
山本 隆晴



助教・博士(薬学)
佐野 孝光

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が、個々の脂質がランダムに存在しているわけではなく、二層の間ではリン脂質の構成比、分布が異なっていることが知られている。このような偏りは、リン脂質の非対称性と呼ばれている（図1）。リン脂質の非対称性は細胞膜のみならず細胞内膜においても見出され、様々な細胞機能、例えば細胞極性、小胞輸送やオルガネラの機能を制御していると考えられる。また、脂質非対称性がこのように多くの膜構造で見られることから、その破綻は種々の病態とも関与しているものと考えられる。この脂質非対称性は、リン脂質分子が脂質二重層を横切る動き（フリップ・フロップ）により形成、制御されていると考えられているが、そこに関わる分子については今後明らかにして行く必要がある。リン脂質分子のフリップを促進する分子として Type 4 P-type ATPase（フリッパー）が見出されており、その機能解明は脂質非対称性の生理機能を知る上で重要である。

当分野では、真核単細胞生物である出芽酵母をモデル生物として用い、細胞生物学的、遺伝学的、生化学的アプローチにより、フリッパーをはじめリン脂質非対称

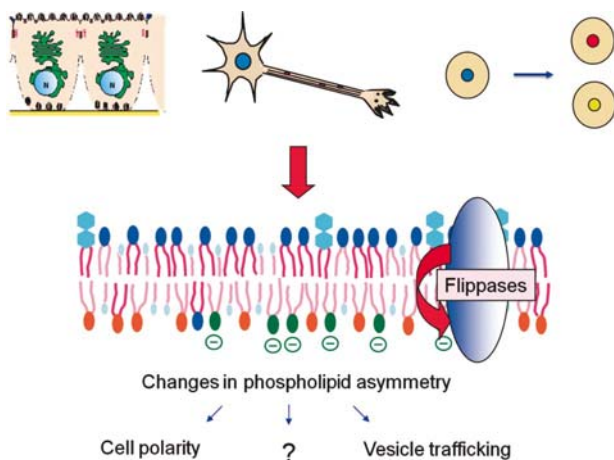


図1. 生体膜リン脂質の非対称性とその機能

脂質二重層からなる生体膜は、その内層と外層とは構成成分であるリン脂質の組成が異なる。細胞膜では、外層にホスファチジルコリン、スフィンゴミエリンが、内層にはホスファチジルセリンやホスファチジルエタノールアミンが多く存在する。この非対称性はフリッパーの働きにより形成、維持されていると考えられており、また、フリッパーの働きによるその変化は、細胞極性形成や小胞輸送に必要である。

Fig. 1. Phospholipid asymmetry and phospholipid flippases and their functions

Asymmetric distribution of phospholipids in the plasma membrane is a general feature in eukaryotic cells. Generally, phosphatidylcholine and sphingomyelin are primarily present in the exoplasmic leaflet, and phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine are in the cytosolic leaflet. Phospholipid flippases that catalyze the transport of lipid molecules from the exoplasmic to cytosolic leaflet play an important role in establishing and maintaining the phospholipid asymmetry. Changes in phospholipid asymmetry by flippases regulate cell polarity and vesicle trafficking.

性を形成する因子を見出してその機能を明らかにし、更に、リン脂質非対称性が関与する細胞機能の分子メカニズムを明らかにしたいと考えている。主として以下のプロジェクトを進めている。

1. リン脂質非対称性の細胞極性形成や小胞輸送における役割の解明

これまで、細胞極性形成や小胞輸送において、フリッパーによるリン脂質の層間輸送が重要な役割を果たしていることを見いだしている。特に、エンドサイトーシス・リサイクリング経路において、エンドソームからの小胞形成にフリッパーが必須であることを明らかにしている（図2）。このフリッパーによる小胞形成の分子機構を解明する。

2. リン脂質非対称性を制御する新たな因子の探索とその機能の解明

細胞膜の細胞質側層にはフォスファチジルセリンが多く存在する一方で、小胞体やミトコンドリア外膜の細胞質側層には存在しないことが明らかとなっている。この小胞体やミトコンドリア外膜におけるフォスファチジルセリンの非対称性は、何らかの未知のタンパク質によって形成されているものと考えられる。これら脂質非対称性を制御する新しいタンパク質を同定すると共に、オルガネラによって異なった脂質非対称性の生理的意義を解明する。

Division of Molecular Interaction

Research Project:

Physiological significance of phospholipid asymmetry in biological membranes

Professor **Kazuma TANAKA, Ph.D.**

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

Assistant Professor **Takamitsu SANO, Ph.D.**

In most cell membranes, phospholipid compositions are different between two monolayers. Changes in this “phospholipid asymmetry” is involved in various cell functions, including cell polarity, membrane trafficking and organelle functions (Fig. 1). Since phospholipid asymmetry is observed in most cell membranes, its perturbation seems to be involved in many pathological states. Phospholipid asymmetry is generated, maintained, and regulated by lipid translocation or flip-flop, but proteins involved in this flip-flop are largely unknown. Type 4 P-type ATPases or flippases are one such protein and their functions should be elucidated to know physiological significance of phospholipid asymmetry.

Our lab are interested in identification of proteins that regulate phospholipid asymmetry, focusing on elucidating the molecular basis underlying the phospholipid asymmetry. We use yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism, which is amenable to studies in molecular genetics, cell biology, and biochemistry. We are promoting following projects.

1. Role of membrane phospholipid asymmetry in the establishment of cell polarity and vesicular trafficking

We have found that phospholipid flipping by flippases plays an important role in the establishment of cell polarity and vesicular trafficking, especially in vesicle formation on the early endosome in the endocytic recycling pathway (Fig. 2). We will elucidate the molecular mechanism in this flippase-mediated vesicle formation.

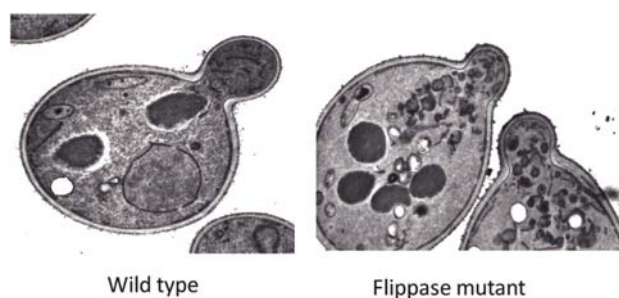


図2. フリッパー変異細胞で見られる異常な膜構造(電子顕微鏡像)

フリッパー変異株では、野生型細胞(左)では見られない異常な膜構造が多数観察される。小胞形成が正常に行われない結果、蓄積した初期エンドソームであると考えられる。

Fig. 2. Abnormal membrane structures found in flippase mutant cells

Electron microscopic observation demonstrated that abnormal membrane structures were accumulated in the flippase mutant. These structures, which are not observed in the wild type, appear to be accumulated early endosomal membranes due to defects in vesicle formation from early endosomes.

2. Identification of new regulators of phospholipid asymmetry and elucidation of their functions

We have found that internal cell membranes exhibit different phospholipid asymmetry. For example, the cytosolic leaflet of the plasma membrane is rich in phosphatidylserine, but those in endoplasmic reticulum and mitochondrion are not. It is suggested that this different phospholipid asymmetry is generated by unknown proteins. Our goal is to identify these proteins to know physiological significance of different phospholipid asymmetry in various organelles.

附属動物実験施設

研究課題

質の高い人道的な動物実験の推進



施設長(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



(併)助教・博士(薬学)
森岡 裕香

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、科学の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.

Laboratory of Animal Experiments

Research Project:

Promotion of humane care and use of experimental animals in high-quality research

Director (Associate Professor) **Masami MORIMATSU, D.V.M., Ph.D.**

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

Assistant Professor **Yuka MORIOKA, 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.

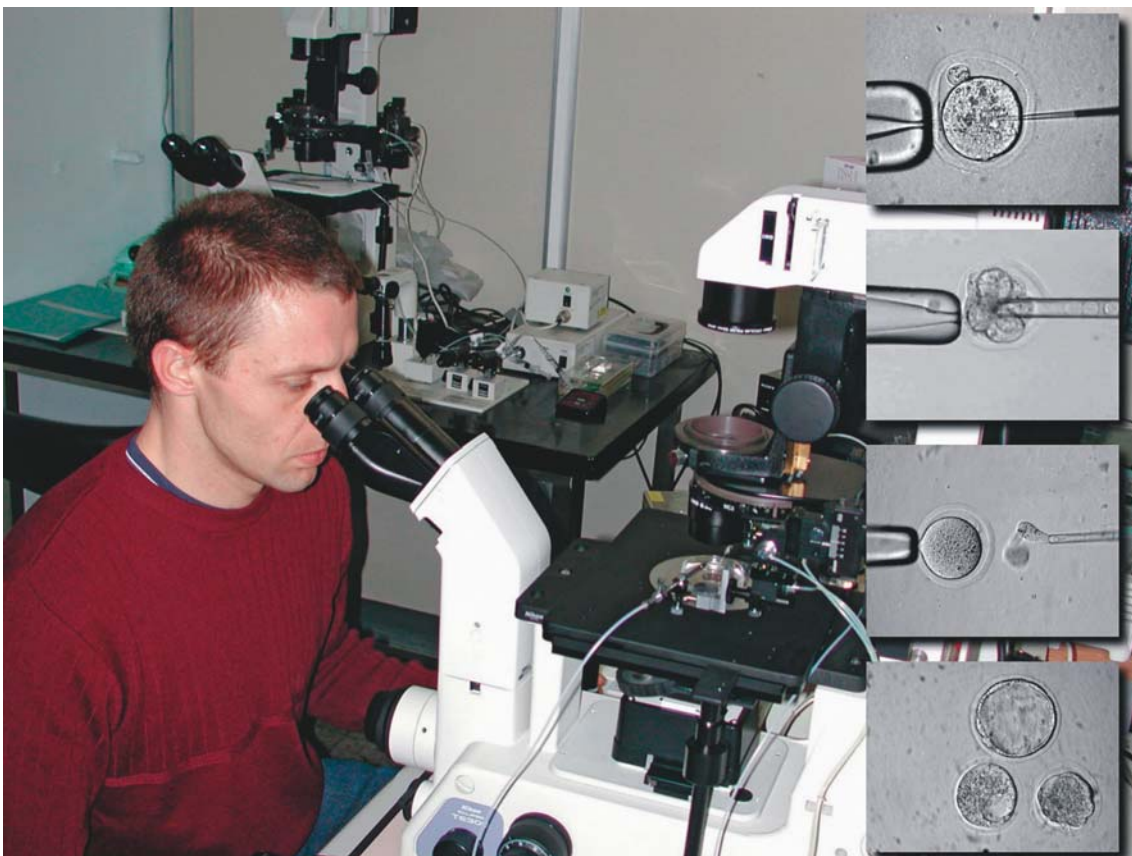


図2. 遺伝子組換えマウスを作製するための胚操作

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

附属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・工学博士
田中 一馬



准教授・医学博士
吉山 裕規



准教授・医学博士
地主 将久



(特)助教・理学博士
林 隆也

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。38%の癌が何らかの感染症に起因するとされ、多くの人が、がんの発症に関与しているウイルスや細菌に感染している(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が開発されていない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%以上の人が感染する普遍的なウイルスである。一方、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の原因である。EBウイルスによるB細胞性腫瘍の発生に *c-myc* の活性化が関与することが明らかにされているが、上皮性腫瘍の発癌メカニズムについてはよくわかっていない。

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する。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、*in vivo* で実際に起きていることを確認中である(図1)。

2. 慢性感染を契機とした発癌に寄与する新規自然免疫シグナル因子の同定と治療応用

慢性感染・炎症を契機とした発癌機構が近年明らかになりつつある(図2)。その分子メカニズムは、Stat3、NF- κ Bをはじめとする炎症性シグナルが腫瘍環境の質的变化を惹起し、癌細胞、ストローマ細胞、免疫細胞のクロストークに修飾をきたすことで、腫瘍細胞の増殖を促すと考えられている。

細菌やウイルス感染に対しては、自然免疫機構を介したIFN、IL-1 β などのサイトカインが、樹状細胞やマクロファージの抗原提示能を増強し、宿主防御応答が惹起される。ところが、腫瘍細胞に対する防御機構は複雑である。自然免疫シグナル認識機構は、NK細胞など宿主免疫応答を増強し、抗腫瘍免疫を誘導するとされる。一方、慢性炎症・感染を背景とした発癌に関しては、自然免疫シグナル認識機構は、MyD88、NF- κ Bなど炎症性サイトカイン産生に重要なシグナル経路を活性化し、逆に腫瘍促進に働く場合もある。

即ち、自然免疫シグナルは、腫瘍発生の素地となる微小環境の変化に応じ、腫瘍促進、抑制いずれにも貢献しうると考えられる。そこで、感染因子と宿主自然免疫との分子相互作用が発癌過程に与える影響についての普遍的な法則性を明らかにし、その情報に基づき、発癌抑止、治療に係わる新規標的分子を同定することを目標としている。

3. 細菌に対する自然免疫応答と発癌の研究

ヘリコバクター・ピロリ(ピロリ菌)(図3)はヒト胃粘膜に感染するグラム陰性、微好気性細菌で、世界人口の約半数に感染している。ピロリ菌の持続感染は萎縮性胃炎や胃潰瘍、胃癌などの胃粘膜病変の発症に関与している。近年、胃組織における恒常的なIL-1 β 産生を引き起こすトランスジェニックマウスにおいて、自発的な胃炎や胃粘膜の異形成に加え、胃癌を発症する事が報告されている。一方、ピロリ菌感染により血中及び胃組織におけるIL-1 β の上昇が認められ、さらにIL1B遺伝子の発現を亢進させるSNPsが胃癌発症に関与しているという研究成果も存在する。しかし、ピロリ菌感染によるIL-1 β 産生の詳細は殆ど分かっていない。そこで我々は、ピロリ菌感染による発癌に深く寄与していると考えられるIL-1 β に着目し、ピロリ菌に対する自然免疫応答の一つであるIL-1 β 産生メカニズムの解明を目指し、ピロリ菌及び宿主由来の関連分子の検索を行っている。

ピロリ菌感染に起因するIL-1 β 産生の詳細な分子機序を解明する事で、胃炎や胃癌の新たな予防法や治療法開発における分子基盤の構築を目指している。

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).

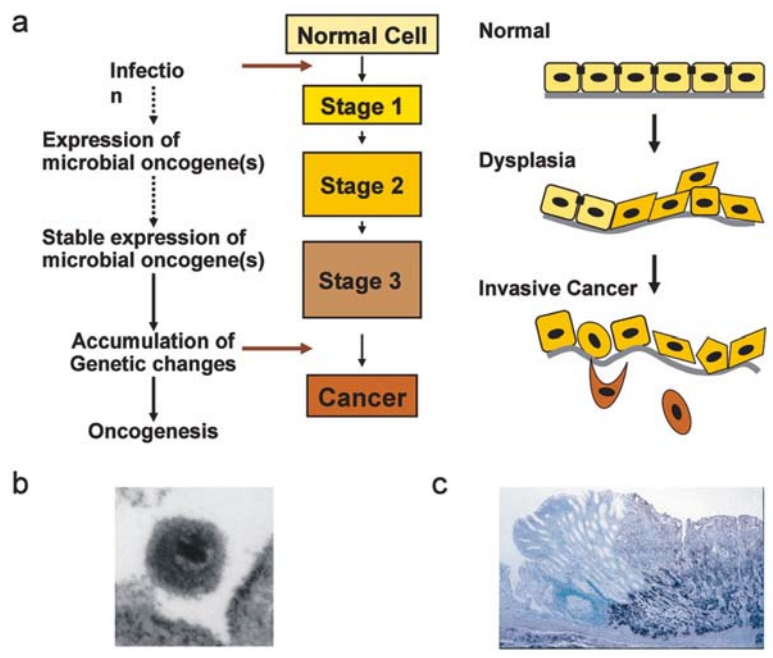


図 1. 感染による正常上皮細胞の腫瘍化。正常上皮細胞が浸潤性の癌に変化する多段階モデル (a)。EB ウイルス (b)。EB ウイルス関連胃癌 (c)。

Fig. 1. Transformation of epithelial cells through microbial infection. A multi-step model of oncogenesis for infection-associated cancer. Progression from normal epithelia to invasive cancer (a). An electron-microscopic view of EBV (b). Histological presentation of EBV-associated gastric cancer (c).

Research Center for Infection-associated Cancer

Research Project:

Research of cancer caused by infection.

Director **Kazuma TANAKA, Ph.D.** Associate Professor **Hironori YOSHIYAMA, M.D., Ph.D.**
Associate Professor **Masahisa JINUSHI, M.D., Ph.D.** Adjunct assistant Professor **Takaya HAYASHI, Ph.D.**

Cancer is a disease showing dysregulated 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 with some viruses and bacterium causes cancer (Table 1). Thirty-eight % of the cancer is thought to originate from infectious diseases. Our research center was founded on July 1, 2008 to elucidate oncogenic mechanisms, which will hopefully contribute to prevention and treatment of cancers caused by viral and bacterial infection.

1. Research on the mechanism of viral carcinogenesis

We are focusing on Epstein-Barr virus (EBV), since there is no effective approaches for prevention and treatment of EBV-associated diseases. EBV is a ubiquitous virus, with which more than 90% of human becomes infected by the adulthood. On the other hand, cells persistently infected with EBV sometimes develop cancers, such as Burkitt's lymphoma, Hodgkin's disease, EBV-associated gastric carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, nasal T-lymphoma, and opportunistic lymphoma in the immunocompromised host.

Cancer associated with viral infection is thought to have a multistep process from initial infection to the acquisition of the invasive properties (Fig. 1). Our goal is to identify not only viral gene(s) responsible for development of EBV-associated gastric carcinoma and nasopharyngeal carcinoma, but also key cellular gene(s) that regulate these oncogenic process. In addition, we also aim to elucidate molecular mechanisms for EBV-induced carcinogenesis.

2. Identification of novel innate immune regulatory pathways associated with chronic infection-associated carcinogenesis and its therapeutic implication

Many solid tumors arise in the background of chronic infection or autoimmune diseases (Fig. 2). Especially, some infectious agents (*H. pylori*, Human papilloma virus, Hepatitis C virus, *etc.*) serve as potential carcinogens by causing chronic inflammation and continuous genetic damage in the epithelial cell.

The peculiar characteristics of microenvironments from which tumors arise play a critical role for promoting tumor growth and metastasis by producing pro-carcinogenic mediators. In particular, inflammatory cells (macrophages, dendritic cells, neutrophils) in tumor microenvironments arising from chronic microbial infection, have definitive roles in angiogenesis and matrix remodeling, thus favoring to form the pro-invasive and metastatic environments. In addi-

tion, chronic infection frequently leads to the drastic modification of host immunity, especially that of innate immune signaling. For example, several novel molecular mechanisms have recently been shown that the innate signaling activated by proinflammatory mediators, such as STAT3, NF- κ B, MyD88, *etc.* facilitates the course of carcinogenesis in the background of chronic inflammation. However, it remains unknown how chronic infection and inflammation may change the molecular profiles of endogenous host responses *via* its interaction with microbial infection.

We try to identify the molecular pathways and ideal markers whereby the interplay between infectious agents and inflammatory cells renders precancerous inflammatory environments to initiate tumors, and further to explore and develop new vaccine targets against infection-associated cancers in clinically relevant settings.

3. Research on the mechanism of anti-bacterial innate immune responses and bacterial carcinogenesis

Helicobacter pylori (*H. pylori*) (Fig. 3) is a Gram-negative microaerophilic bacterium that chronically colonizes in gastric epithelium of more than half of the population in the world. Chronic infection of *H. pylori* is associated with the development of gastric mucosal lesions such as atrophic gastritis, gastric ulcer and gastric carcinoma. Recently, it has been reported that transgenic mice constitutively expressing IL-1 β in gastric epithelial cells induce spontaneous inflammation and develop gastric cancer. Additionally, the increased amount of IL-1 β in the serum and gastric tissue is observed after infection of *H. pylori*. Moreover, polymorphisms of IL-1 β representing proinflammatory genotype are associated with an increased risk of gastric cancer. However, detailed mechanism of IL-1 β induction by *H. pylori* remains unclear. Thus, we are investigating *H. pylori* derived factors which stimulate pro-IL-1 β production and its maturation, and host factors which participate in these signaling events.

We hope that our study will make a contribution to development of novel therapeutic and preventative strategies against *H. pylori*.

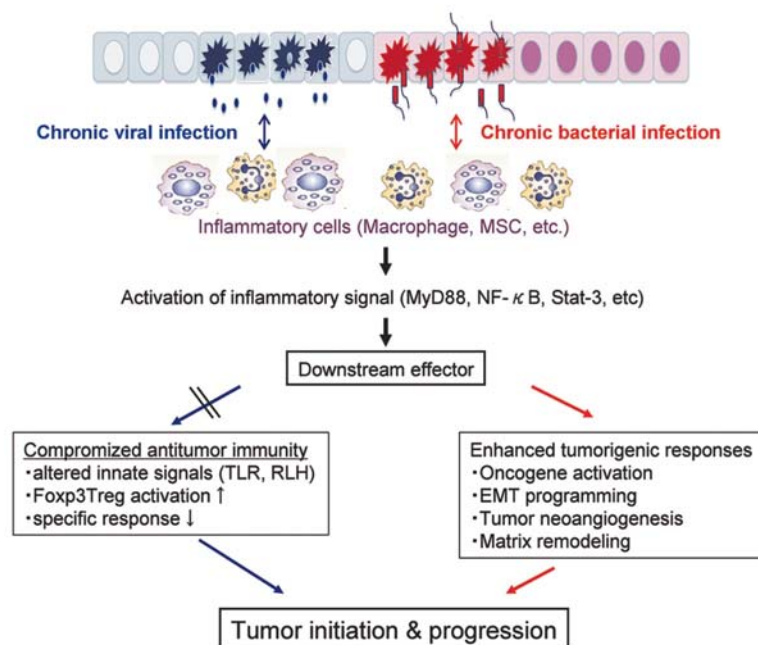


図2. 感染・宿主相互作用による自然免疫制御に係わる因子発現と慢性感染起因性発癌の促進

慢性感染に伴う感染因子と自然免疫認識機構は、NF- κ B や Stat3 など炎症シグナル活性を介して発癌シグナル活性、腫瘍細胞の浸潤・転移活性に寄与する。具体的には、これら感染因子と未知の自然免疫認識機構のクロストークが、血管新生、EMT reprogramming、癌シグナル修飾に特異な役割を果たすことが予想される。感染因子との相互作用を介し発癌シグナル活性に貢献する自然免疫分子や経路の同定を行うことで、新たな免疫制御機構の解明や、その治療応用の可能性について探っていく。

Fig. 2. Interplay between pathogens and host cells may trigger innate immune regulatory targets during carcinogenic processes of chronic infection and inflammation.

Interplay between infection and host innate immune components plays an important role in boosting oncogenic signals associated with inflammation, such as NF- κ B, STAT3, MyD88, as well as uncharacterized signaling pathways. This deregulation leads to the activation of innate immune regulatory targets with undefined functions. These molecules may trigger oncogenic activation, angiogenesis, EMT programming in infected cells with accumulating cellular stress and defined genetic/epigenetic change, and compromised host antitumor immune responses. In addition, phagocytosis-related pathways, regulated by MFG-E8, TIM1/4, Gas-6, may also be involved in the process of epithelial oncogenesis and immune suppression. The coordinated action on infected cells and host immunity results in the initiation and progression of carcinogenic process.

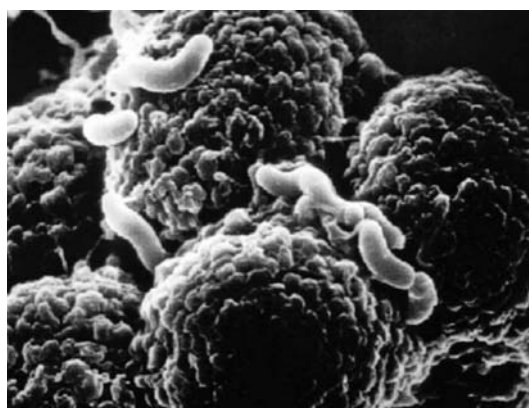


図3. ヒト胃粘膜に感染するピロリ菌の電子顕微鏡写真。

Fig. 3. Interaction between *H. pylori* and gastric epithelial cells (Electron-scanning microscopic view).

マトリックスメディスン研究部門

研究課題

細胞外マトリックス

— 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(兼任)・博士(医学)
上出 利光



特任助教・博士(医学)
伊藤 甲雄

マトリックスメディスン研究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」をさらに発展するべく、2004年4月にアステラス製薬等民間企業3社の寄附により開設されました。2009年4月からはアステラス製薬単独の寄附により更に5年間延長されました。

近年、細胞外マトリックスは、その受容体インテグリンと結合することにより細胞の“足場”として機能するだけでなく、細胞の運動、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明らかにされてきました。当研究部門では多くの疾患発症・増悪化にこの細胞外マトリックス-インテグリン相互作用が関わっていると考え、これら相互作用に密接に関与する分子の病態における機能を解析することにより、難治性疾患の発症機序の解明、さらには新規治療法の開発を目指しています。現在以下の2つの研究プロジェクトを推進しています。

1. リンパ節からの細胞移出制御における $\alpha 9$ インテグリンの機能解析

感染などにより外来から侵入した抗原は、樹状細胞によって捕捉され所属リンパ節に遊走します。一方で生体内を絶えず再循環しているT細胞はリンパ節で抗原を認識し活性化します。その後、スフィンゴシン1リン酸(S1P)依存的にリンパ節から移出し、輸出リンパ管、胸管を経て血液循環に入り、感染部位へ遊走し抗原の排除を行います。これは感染防御において非常に重要な過程ですが、多発性硬化症等の自己免疫疾患では、自己抗原を認識するT細胞の標的部位への遊走が病態形成の主要因となっています。完全フロイントアジュバントを皮下投与し、炎症を誘導したマウスに抗 $\alpha 9$ インテグリン阻害抗体を投与すると、所属リンパ節の髓洞が空洞化することが分かりました(図1-A)。これは細胞移出の阻害薬を投与したマウスに特徴的な所見であることから、リンパ節からの細胞移出におけるリンパ管内皮細胞上の $\alpha 9$ インテグリンの役割に着目しました。また、抗 $\alpha 9$ インテグリン阻害抗体は多発性硬化症の実験モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)に対して治療効果があることが分かりました(図1-B)。所属リンパ節でのT細胞の活性化から標的部位への遊走は多発性硬化症のみならず、他の自己免疫疾患においても共通の現象と考えられることから、 $\alpha 9$ インテグリンは広範の炎症疾患に対して治療効果があることが期待され、現在、その詳細なメカニズムの解析を進めています(図1-C)。

2. 血管傷害後のリモデリングにおけるSyndecan-4の機能解析

Syndecan-4はシンデカンファミリーに属する膜貫通型ヘパラン硫酸プロテオグリカンです。ヘパラン硫酸側鎖はフィブロネクチン等細胞外マトリックスの他、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)等増殖因子やケモカインなど走化性因子に結合し、これらの共受容体として働き、これら細胞外刺激を増強し、多彩な細胞機能を発現しま

す(図2-A)。

本研究では、血管傷害後の組織リモデリング過程におけるSyndecan-4の機能解析を行いました。Syndecan-4遺伝子欠損マウスから得た血管平滑筋細胞を用いた解析により、Syndecan-4は塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)の共受容体として機能する他、Syndecan-4細胞内領域へのPKC α の結合を誘導し、bFGF刺激による細胞増殖に対して相乗的に機能していることが分かりました(図2-B)。また、Syndecan-4遺伝子欠損マウスを用いた骨髄移植によって、Syndecan-4は骨髄由来血管平滑筋前駆細胞の血中への動員に機能していることが明らかになりました(図2-C)。血管傷害後のリモデリング過程における過剰な新生内膜形成は正常な血管機能を妨げるため、Syndecan-4の阻害は血管傷害後のリモデリングにおける治療標的となると考えられます。

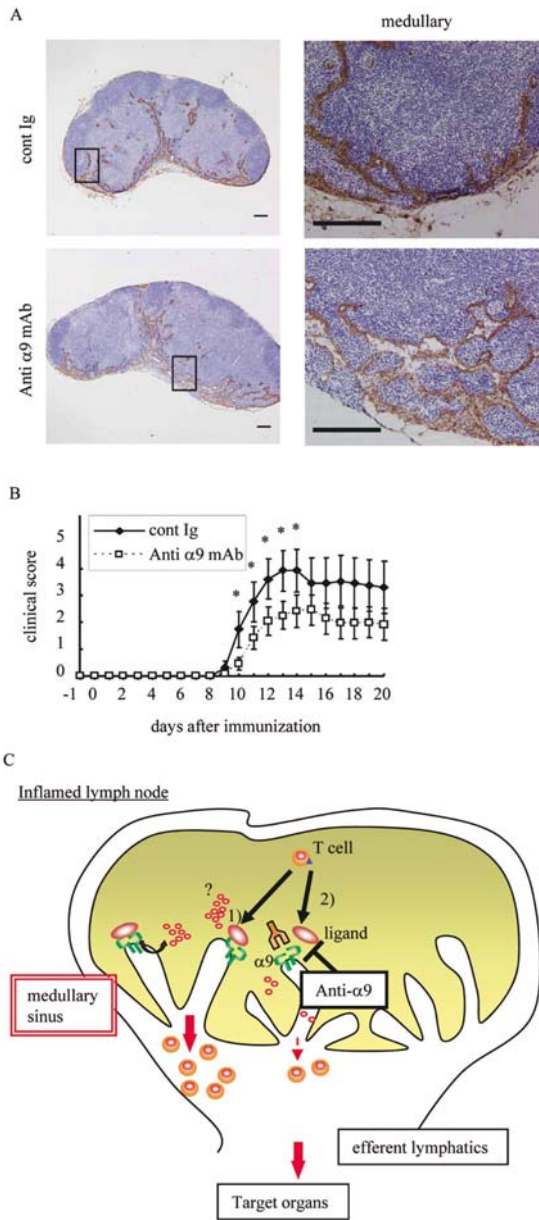


図1. リンパ節におけるリンパ管内皮細胞 $\alpha 9$ インテグリンの機能解析

(A) C57BL/6 マウス尾根部に乳化した完全フロイントアジュバント (CFA) を投与して炎症を誘導する前日に $\alpha 9$ インテグリンに対する中和抗体を投与し、CFA 投与 6 日目の鼠径リンパ節を LYVE-1 により免疫染色した。抗 $\alpha 9$ 抗体投与群の髄洞の空洞化が見られた。(B) $\alpha 9$ インテグリンに対する中和抗体による EAE 抑制試験。抗 $\alpha 9$ 抗体投与群における EAE 臨床スコアの低下が認められた。(C) 予測されるリンパ節リンパ管内皮細胞上の $\alpha 9$ インテグリンの機能。1) 炎症の所属リンパ節においてはリンパ管内皮細胞上の $\alpha 9$ インテグリンとそのリガンドの相互作用によりリンパ球の細胞移出が誘導される。一方、2) 抗 $\alpha 9$ 抗体を投与してこの相互作用を阻害すると、リンパ球移出が抑制される。

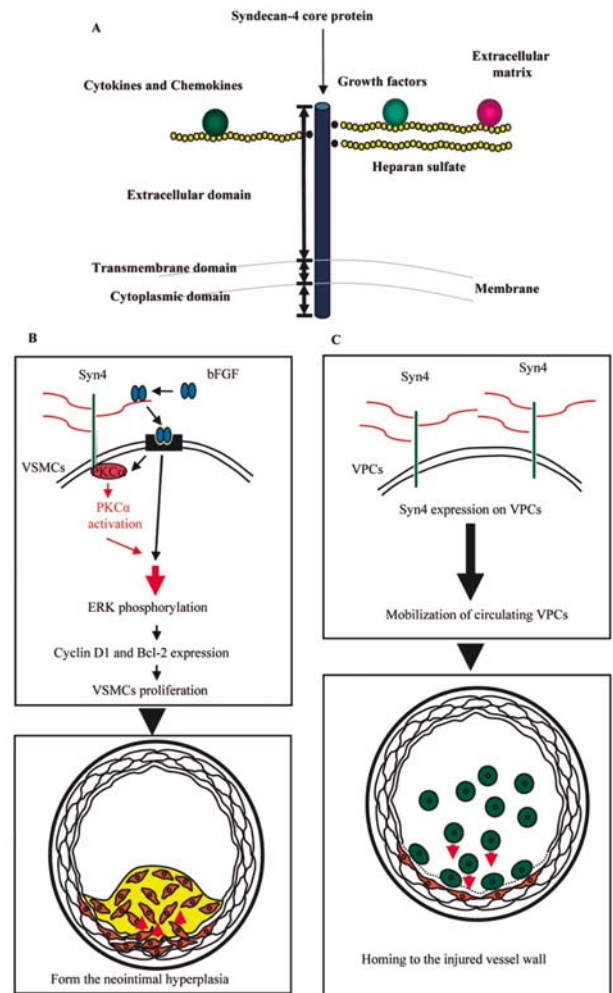


図2. Syndecan4の構造と血管傷害後のリモデリングにおける機能

(A) Syndecan-4の構造。Syndecan-4はシンデカンファミリーに属する膜貫通ヘパラン硫酸プロテオグリカンである。Syndecan-4のヘパラン硫酸鎖は細胞外マトリックスタンパク質や増殖因子、ケモカイン等と結合しそれらの共受容体、またはリザーバーとして働く。(B) 血管平滑筋細胞上のSyndecan-4は塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) の共受容体として機能することで、ERKのリン酸化を誘導し、CyclinD1やBcl-2の発現誘導を促す。これによって血管平滑筋細胞の増殖が起こり、新生内膜形成が誘導される。(C) 骨髄由来血管平滑筋細胞上のSyndecan-4は骨髄から血中、さらに傷害血管への遊走に機能する。

Department of Matrix Medicine

Research project:

Regulation of the interaction between Extracellular Matrix proteins and Integrins, a possible target for therapy of the intractable disease

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

Adjunct assistant Professor **Koyu ITO, Ph.D.**

The Department of Matrix Medicine was initially established on April of 2004 by endowment from three private companies. The main objective of this department was to facilitate the development of new therapeutic means for the treatment of intractable diseases by utilizing the novel research findings made at the division of molecular immunology. This Department was extended up to the end of March of 2014 by an endowment from Astellas Pharma Inc.

Extracellular matrix (ECM) proteins have important roles in cellular functions including not only cell adhesion, but also survival, proliferation, migration, and cytoskeletal reorganization, through interaction with their receptors, mainly integrin.

We focus on the molecular mechanisms how ECM-mediated signaling regulates persistence of inflammation and tissue injuries. We are also interested in the development of reagents that modulate the interaction between ECM and integrin, leading to the amelioration of intractable inflammatory disorders. Currently, we have two major on-going research projects as described below.

1. The role of $\alpha 9$ integrin in lymphocyte egress from lymph node

Foreign antigens that entered into the body are captured by dendritic cells (DC), and then DC migrates to draining lymph node. T cells also continuously circulate within whole body. In the draining lymph node, T cells encounter antigens presented by DC and are activated and expanded. Then, T cells enter the efferent lymphatics, migrating out from draining lymph node, thoracic duct, and blood circulation, and finally arrive at inflamed site. This egress process is sphingosine-1-phosphate (S1P) dependent. Thus, T cell re-circulation is essential for immune-surveillance. Nevertheless, migration of pathogenic T cells that recognize self-antigen to target organ is critical for the pathogenesis of autoimmune disease such as Multiple Sclerosis.

We found that draining lymph node of complete Freund Adjuvant (CFA)-injected mice that had been received anti- $\alpha 9$ integrin antibody showed vacant medullary sinus (Fig. 1A). This observation is shared by the genetically manipulated rodents, which showed inhibition of lymphocyte egress from lymph node. Therefore, we focused on the role of $\alpha 9$ integrin in lymphocyte egress from lymph node. In addition, anti- $\alpha 9$ integrin antibody has therapeutic effect in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), which is mouse model for human Multiple Sclerosis (Fig. 1B). The molecular mechanisms of $\alpha 9$ integrin-

mediated regulation of lymphocyte egress are under extensive investigation (Fig. 1C).

2. Role of Syndecan-4 in vascular remodeling after injury

Syndecan-4 is a member of four syndecan family proteins that are transmembrane proteoglycans. Syndecan-4 functions as a co-receptor for integrins and growth factor receptors, thus modulating receptor-mediated signaling. Syndecan-4 also functions as a reservoir of growth factors and chemokines through its heparan sulfate chains. Syndecan-4 influences a wide range of physiological and pathological processes including wound repair (Fig. 2A).

We examined whether Syndecan-4 on vascular smooth muscle cells (VSMC) functions in remodeling after balloon injury. By using vascular smooth muscle cells isolated from mice with deficient in Syndecan-4, we found that Syndecan-4 functions as a co-receptor for basic fibroblast growth factor (bFGF), and synergizes intracellular signaling, such as ERK phosphorylation, thereby inducing VSMC proliferation and subsequent formation of neointimal hyperplasia (Fig. 2B). In addition, we also found that Syndecan-4 plays a role in migration of VSMC precursor cell in the bone marrow to blood circulation and injured blood vessel (Fig. 2C). Excessive neointimal hyperplasia causes occlusion of arteries. Therefore, Syndecan-4 might be a novel therapeutic target for preventing arterial re-stenosis after angioplasty.

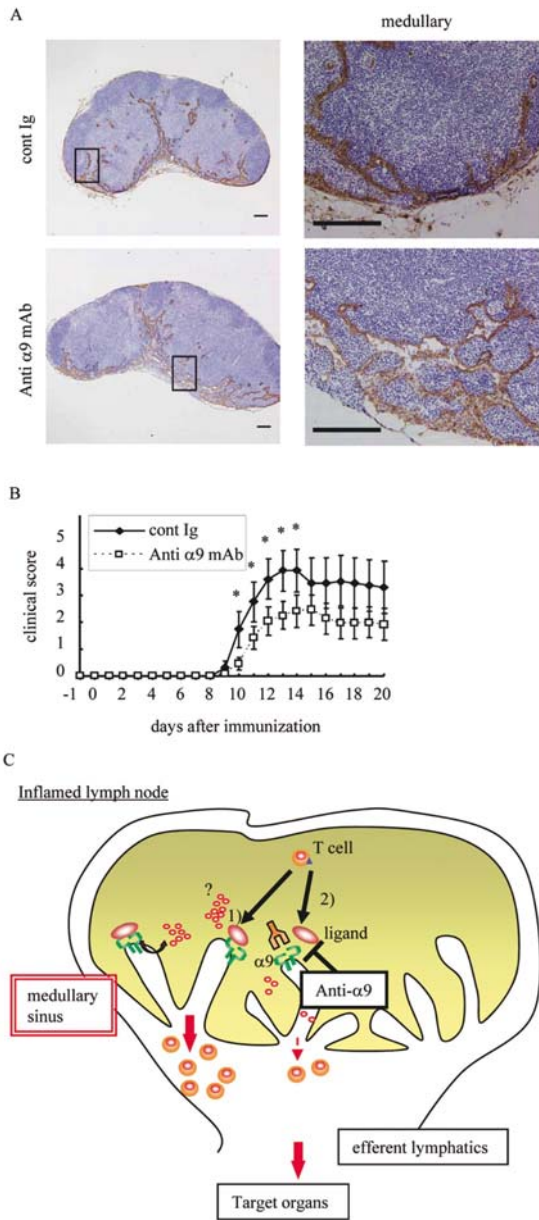


Figure 1. $\alpha 9$ integrin on lymphatic endothelial cell (LEC) within lymph node (A) C57BL/6 mice that had been treated with anti- $\alpha 9$ integrin antibody were injected subcutaneously with emulsified complete Freund adjuvant (CFA). Six days after CFA injection, inguinal lymph node, which is draining lymph node, was stained with LYVE-1, a marker of lymphatic endothelial cells. Lymph node of mice treated with anti- $\alpha 9$ integrin antibody showed vacant sinus. (B) Effect of anti- $\alpha 9$ on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a model for human Multiple Sclerosis. Anti- $\alpha 9$ integrin antibody treated mice showed amelioration of EAE symptoms. (C) Possible role of $\alpha 9$ integrin in lymphocyte egress. Interaction between $\alpha 9$ integrin on lymphatic endothelial cells with its ligand induces lymphocyte egress. In mice-treated with anti- $\alpha 9$ integrin antibody, this interaction is inhibited, resulting in abrogation of lymphocyte egress.

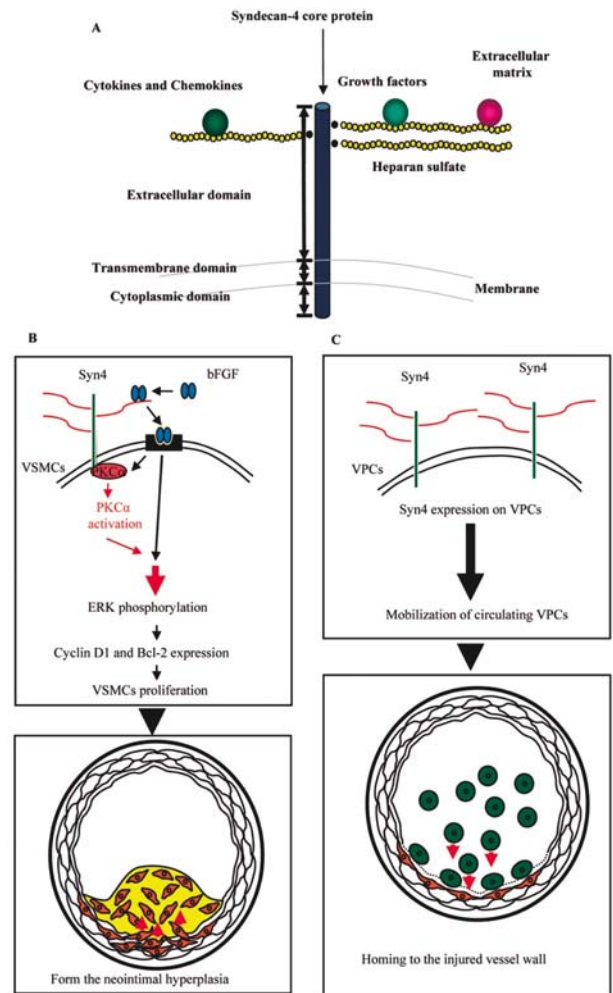


Figure 2. Role of Syndecan-4 in neointimal formation after vascular injury (A) Structure of Syndecan-4. Syndecan-4 is transmembrane heparan sulfate proteoglycan and works as the co-receptor or reservoir for extracellular matrix, growth factors, and chemokines through its heparan sulfate chains, synergizing intracellular signaling. (B) Syndecan-4 expressed on vascular smooth muscle cells (VSMC) regulates proliferation. Syndecan-4 functions as co-receptor for basic fibroblast growth factor (bFGF). Binding of bFGF to Syndecan-4 heparan sulfate proteoglycan synergizes intracellular signaling, such as ERK phosphorylation, resulting in Cyclin-D1 and Bcl-2 expression, and subsequent VSMC proliferation. (C) Syndecan-4 on vascular progenitor cell (VPC) is involved in migration to injured vascular walls. In response to vascular injury, VPC recruit to injured vascular walls. We found that Syndecan-4 is critical for mobilization of VPC.

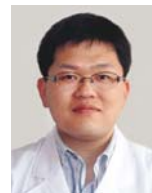
ROYCE' 健康バイオ研究部門

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(生命科学)
佐藤 崇之

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、本研究部門は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。本研究は免疫制御分野との連携体制で推進する。

1. チョコレートなどの食品素材に含まれる新規生理活性成分の探索研究

チョコレートをはじめとする各種食品素材の中に含まれ、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。またその免疫バランス制御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、疾患マウスモデルを用いて検討し、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

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。その中で、北海道産黒大豆「黒千石」に、免疫バランスの改善を見込める成分があることを見出した。

3. ヒト免疫バランス評価法の確立と免疫疾患克服を目指したヒト介入性試験

ヒト免疫担当細胞の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康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、ヒト介入性試験を構築し、免疫疾患の予防・改善・克服を目指した研究を実施する。

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、特に十勝地域にはスギが生息せず、十勝の上士幌町ではスギ花粉リトリート(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康人と比較検討しうる評価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。

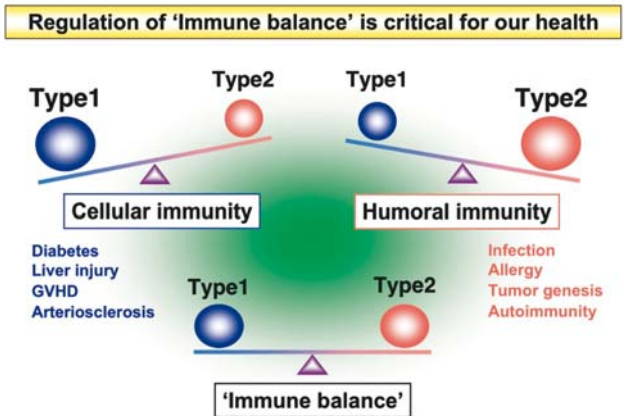


図1. 免疫バランスと免疫疾患

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 Type1, 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.

Development of novel immunomodulators useful for the control of immune balance and its application to the therapy for immune diseases

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

Assistant Professor **Takayuki SATOH, Ph.D.**

Nowadays, our foods, environments, and life-style have been dramatically changing. The changes cause the disruption of our body system in addition to environmental disruption. Especially, the disruption of immune balance, which is controlled by various helper T cell subsets (Th1/Th2/Th17/Treg), resulted in the increase of 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. We revealed that Kurosengoku was a novel immuno-improving food, which would be a useful tool for improving of immune

balance in developed countries.

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. Establish of assay system for immune-balance and application of the novel immunomodulators to the therapy for immunological disorders.

We will set up the simple methods to judge the 'immune balance' state based on the characterization of immunological cells from patients, and then, develop the system of the diagnosis to check people's health. According to the results of the diagnosis, we finally will try to investigate whether the novel immune balance regulating materials is useful for the 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 Hokkaido just has begun to escape the allergy. In addition to construction of the system of the diagnosis as described above, we will work on the elucidation of the molecular mechanism as well as the 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 also aiming to construct the novel combination of food, health, and environment with the medical treatment, which is essential to people's lives, through our research works and the contribution to society.

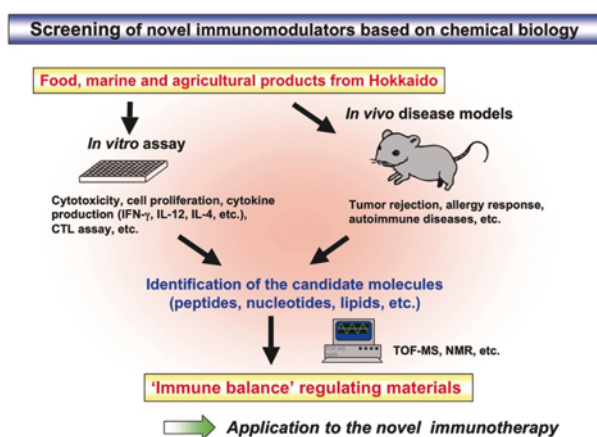


図2. ケミカルバイオロジーによる免疫バランス制御因子の探索
北海道の農水畜産物より得られる食品素材より、免疫バランスを制御できる機能性成分を簡便な試験管内評価法により検索する。さらに、生体レベルでの免疫疾患の改善効果を検証するとともに、TOF-MS解析などにより、生理活性物質の同定を行なう。

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 were screened by *in vitro* or *in vivo* assay for immune regulation. The novel immune regulating materials were further identified by TOF-MS or other analysis.

プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門

研究課題

疾患の予防・治療を目指した プロバイオティクスによる生体制御機構の解明



特任教授・医学博士
宮崎 忠昭



特任助教・博士(医学)
中山 洋佑

背景

プロバイオティクスとは、「腸内菌叢のバランスを整え、健康に有益な働きをする微生物とそれらの増殖促進物質」のことで、1989年にイギリスの Fuller によって定義され、広く認知されるようになってきました (図1)。プロバイオティクスは、抗生物質 (アンチバイオティクス) に対比される概念であり、抗生物質が病気の治療に利用されるのに対して、プロバイオティクスは病気の発症を未然に防ぐ「予防医学」の考え方が基本になっています。乳酸菌やビフィズス菌は代表的なプロバイオティクスであり、ヨーグルトなどの発酵乳製品に広く利用されています。

プロバイオティクスの機能のひとつに、整腸作用があります。摂取されたプロバイオティクスは、生きたままヒトの腸管に到達して定着し、大腸菌などの有害菌の増殖を抑えて腸内菌叢の改善に働くことが報告されています (図2)。また、ある種のプロバイオティクスに、血中コレステロールの低下作用と内臓脂肪の低減作用があることが明らかにされ、プロバイオティクスの新たな健康機能として注目されています。最近、私たちは乳酸菌の摂取がインフルエンザの予防にも効果を示す可能性があることを明らかにしました。

研究概要

本研究分野では、これらのプロバイオティクスによる疾病予防作用と生体内での作用機序の解明を目指しています。現在、プロバイオティクス菌によるインフルエンザ等の感染症、癌、炎症性疾患の予防・治療効果に加えて寿命延長効果を評価しています。さらにその効果を示す菌体画分あるいは産生物の成分分析により活性物質を同定します。その物質による腸管免疫系の免疫細胞活性化や細胞遊走・接着の制御機構およびサイトカイン産生誘導能および腸内フローラへの影響を明らかにします。

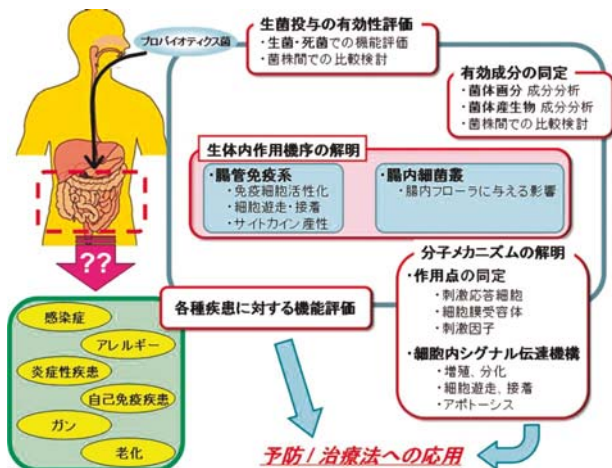


図1. プロバイオティクスの疾患予防・治療への応用
Fig. 1. Application of probiotics for prevention and treatment of diseases

これらの効果や機能が認められた場合、応答する細胞やその物質の受容体、刺激因子を明らかにし、細胞増殖、アポトーシス (図3) や細胞遊走の誘導シグナル伝達経路を解明します。これまで私たちが解析してきたアポトーシス誘導分子や老化・寿命制御遺伝子の発現変化を調べ (図4)、それらの発現制御および細胞内会合や局在変化による機能調節機構を明らかにし、プロバイオティクスの疾病予防・治療への応用を目指します (図1)。

研究内容

(1) 細胞死の制御機構の解明

TNFファミリー分子の一つである TRAIL (TNF related apoptosis-inducing ligand) は癌細胞にアポトーシスを誘導しますが、正常細胞には作用を示さない事が知られ、副作用のない癌治療への応用が期待されているサイトカインです (図3)。これまでに DAP3 (death associated protein 3) が細胞死を誘導するデスレセプターのリガンドの一つである TRAIL のアポトーシス誘導シグナルを伝達する事を明らかにしました。また、DAP3 が細胞接着喪失によるアポトーシス (Anoikis) のシグナル伝達経路にも重要である事を見出しました。細胞接着と癌転移には密接な関係があり、Anoikis を起こさない癌細胞は容易に転移を起こす性質があります。つまり癌細胞特異的にアポトーシスを誘導するサイトカインのシグナル伝達経路に関与するだけでなく、癌の転移抑制による悪性化阻止にも DAP3 は関与していると考えられます。そこで、プロバイオティクスによる癌細胞の細胞死・転移抑制効果を評価し、アポトーシス関連分子の制御機構を解明します。

つまり癌細胞特異的にアポトーシスを誘導するサイトカインのシグナル伝達経路に関与するだけでなく、癌の転移抑制による悪性化阻止にも DAP3 は関与していると考えられます。そこで、プロバイオティクスによる癌細胞の細胞死・転移抑制効果を評価し、アポトーシス関連分子の制御機構を解明します。

(2) インフルエンザウイルスの感染に対する生体防御機構の解明

インフルエンザは毎年、流行を繰り返し、多くの犠牲者を出している人獣共通感染症です。感染したインフル

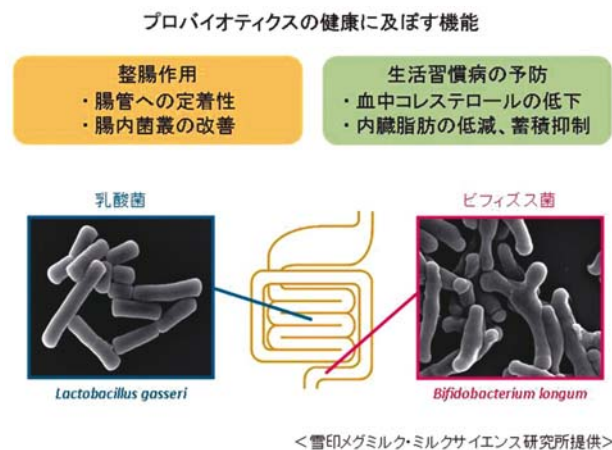


図2. プロバイオティクスの微生物とその健康への影響
Fig. 2. Microbes used as probiotics and the effects on human health

エンザウイルスの増殖と病態の重篤化にはアポトーシスが密接に関わっていると考えられています。ウイルス感染に伴い、感染細胞では Fas や DR4、DR5 などアポトーシスを誘導するデスレセプターの発現が亢進されることが知られています(図5)。これらデスレセプターを介したシグナルは感染細胞にアポトーシスを誘導すると共に、ウイルス増殖に対して有利に働くと考えられています。

一方、インフルエンザウイルスの爆発的な増殖は、急激な炎症反応を引き起こし、アポトーシスを誘導する TNF- α や FasL、TRAIL および炎症性サイトカインが多量に血中へ分泌されます。これらのサイトカインが様々な臓器の細胞にアポトーシスを誘導するため(図3)、ウイルスが感染による病態が重篤化すると考えられています。ですから、アポトーシスを誘導を制御する事によってインフルエンザの病状改善や死亡例の減少を導く可能性が考えられます。最近、マウスに乳酸菌を投与することにより、ウイルス感染後のアポトーシス制御分子や炎症性サイトカインの発現抑制、病態の軽減や生存率の上昇が認められました。そこで、プロバイオティクスによるアポトーシスや炎症の抑制機構を明らかにし、感染症の予防・治療に役立ちます。

(3) 寿命の制御機構の解明

白血球の食作用が免疫に重要であることを発見し、ノーベル生理学・医学賞を受賞したメチニコフ博士は、ブルガリアに長寿者が多いことからヨーグルトが長寿に有用であるという説を唱えました。線虫 *C. elegans* (*Caenorhabditis elegans*) (図4)では、通常の給餌である大腸菌を乳酸菌に代えることで、寿命が延長されることが示され、実際に、私たちの研究している乳酸菌も寿命延長作用を示していますが、その分子メカニズムの詳細は不明です。

C. elegans は、土壌に生息し細菌類を食べる体長約1mmの線虫で、体は透明で顕微鏡下で観察が可能であり、細胞数が少ない(およそ1000個)こと、ライフサイクルが21日前後であることから、1960年代よりアポトーシス誘導機構、寿命・老化機構の解明のモデル動物として用いられています(図4)。*C. elegans* に対して RNAi を用いた実験手法により、原因遺伝子を同定することが出来るなど分子メカニズム解析に非常に有用です。

これらのことから、乳酸菌・乳酸菌生産物による寿命制御遺伝子への関わりを中心に、細胞の寿命に係る細胞死制御分子などとの関連性を解析し、生体の寿命を規定する分子メカニズムを解明していきます(図6)。

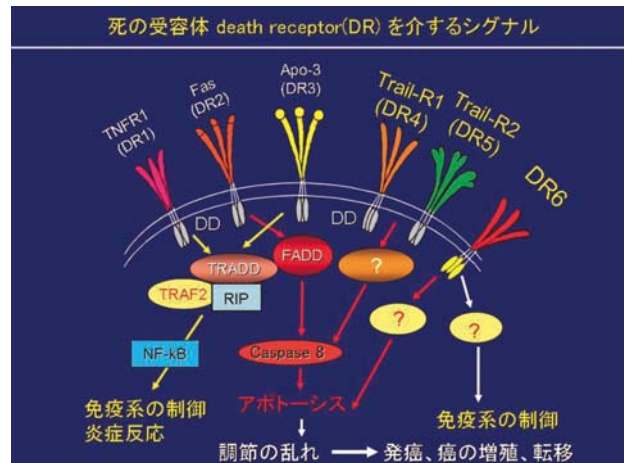


図3. 細胞死を誘導する受容体とその機能
Fig. 3. Receptors to induce cell death and their functions

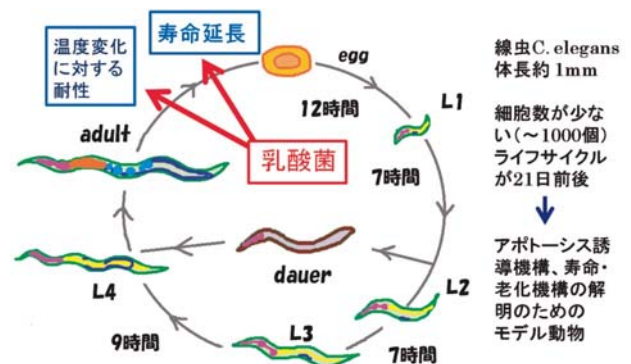


図4. 乳酸菌による線虫の寿命制御
Fig. 4. Regulation of life span of *C. elegans* by lactic acid bacteria

Department of Probiotics Immunology

Research Project:

Investigation of the biological control by probiotics for prevention and treatment of diseases

Professor **Tadaaki MIYAZAKI, Ph.D.**

Adjunct assistant Professor **Yosuke NAKAYAMA, Ph.D.**

Probiotics, defined by Fuller (1989, Britain), have been widely known as microorganisms that improve the intestinal flora balance, beneficially affecting the host animal and also as substances that stimulate the growth of microorganisms (Fig. 1). Different from antibiotics, which are used to cure illnesses, probiotics serve as a form of “preventive medicine”, stopping illnesses from the developing. Some studies report that probiotics, once ingested, are delivered intact to the intestinal tract of humans and that they remain there, improving the intestinal flora balance by suppressing the growth of harmful bacteria (Fig. 2). The objective of our proposed study is to elucidate how probiotics affect living organisms and prevent illness. We aim to demonstrate how the probiotics that we analyze serve to prevent illnesses and diseases (and will provide therapies for these) by examining the expressions and changes in apoptosis induction molecules and genes that affect aging and life span. By elucidating the mechanisms of regulating the induction of apoptosis, and the functions of molecular interactions and changes in intracellular localization, we will be able to develop and translate probiotics into their therapies.

(1) Investigation of the mechanisms for cell death induction

Previously, we have demonstrated that DAP3 (death associated protein 3) communicates apoptosis-inducing signals of TRAIL, a death receptor ligand, inducing cell death (Fig. 3). We have also established that DAP3 plays important roles in the signaling pathways of apoptosis (anoikis) by inducing the loss of

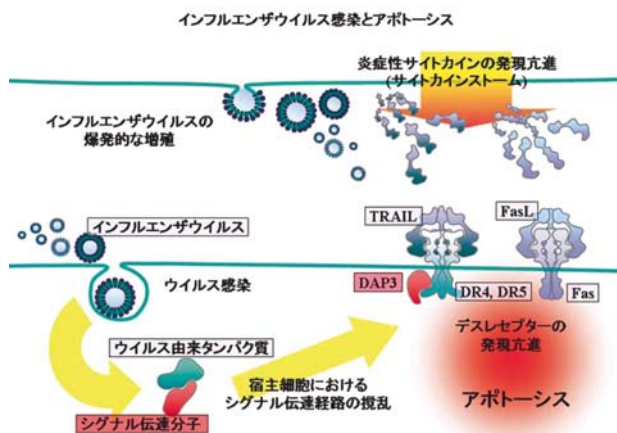


図5. インフルエンザウイルスの感染によるアポトーシス誘導機構

Fig. 5. Mechanism of apoptosis induction by influenza virus infection

cell adhesion functions (Fig. 7). Cell adhesion is closely correlated with metastasis of cancers, and cancer cells that do not result in anoikis have the characteristic to give rise to metastasis easily. Overall, DAP3 appears to be involved in the prevention of malignancy progression by regulating metastasis of cancers as well as effects in the signaling pathways of the cytokines that induce apoptosis and uniquely focuses on cancer cells. Thus, the study aims to investigate the mechanisms regulating apoptosis related molecules by evaluating the effects of probiotics on cell death and metastasis in cancer cells.

(2) Investigation of the defense mechanisms against influenza viruses

Influenza is a worldwide occurring infectious disease causing numerous deaths annually. It is now accepted that apoptosis may contribute to the spread of influenza viruses and to the severity of the conditions of infected victims. It has been known that the expression of death receptors which induce apoptosis, such as Fas, DR4, and DR5, in infected cells increases in conjunction with viral infections (Fig. 5). Signals transmitted through these death receptors are thought to induce apoptosis in infected cells and work to promote virus propagation.

Here, an explosive multiplication of influenza virus numbers trigger acute inflammatory reactions, and the secretion of large amounts of $TNF-\alpha$, FasL, TRAIL which induce apoptosis, and inflammatory cytokines are released into the blood. These are thought to worsen viral infections as these cytokines induce apoptosis in the cells of organs. Therefore, it would appear to be possible to improve the disease

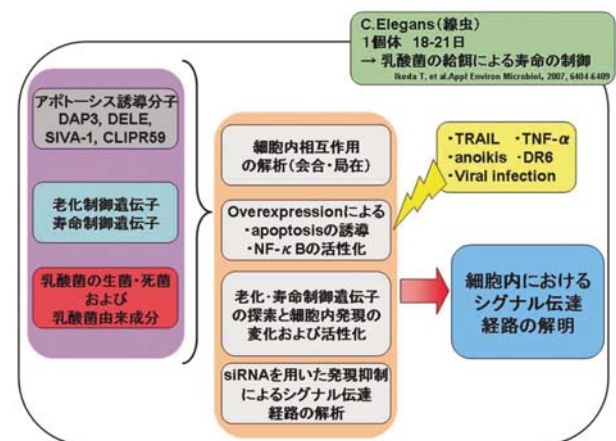


図6. 老化・寿命制御機構の解明

Fig. 6. Elucidation of the mechanism for aging and regulation of life span

condition of patients and to reduce the number of deaths by controlling the induction of apoptosis. We have shown that Siva-1 is critical for the regulation of influenza virus replication and apoptosis induction (Fig. 8). Recently, by administering mice with lactic acid bacteria, we have confirmed that certain molecules regulate apoptosis induction and inflammatory cytokine expressions, and alleviate symptoms, as well as increase the survival rate. Therefore, we aim to elucidate the mechanisms that regulate apoptosis and inflammation using probiotics, and use the knowledge gained for prevention and treatment of infectious diseases.

(3) Investigation of mechanisms regulating longevity

Dr. Metchnikoff who discovered that the phagocytosis of leucocytes is important for immunity and who received the 1908 Nobel Prize for Physiology or Medicine has suggested that yogurt may contribute to longevity since there are many persons surviving to very high ages in Bulgaria. It has been established that the life of *C. elegans* (*Caenorhabditis elegans*) can be extended by replacing the *E. coli* bacteria, which it is usually feeding on, with lactic acid bacteria, and our study has shown the effectiveness of lactic acid bacteria in extending the lifespan of *C. elegans*; however, details of the molecular mechanisms involved are unknown.

C. elegans is a transparent nematode, about 1mm in length, which lives in soil feeding on bacteria. Since *C. elegans* can be examined under a microscope, has few cells (about 1000), and its lifecycle is about 21 days, it has been used as a model animal to elucidate apoptosis induction mechanisms or life and aging mechanism since the 1960s. *C. elegans* is very useful for analyzing the mechanisms of molecules, enabling identification of causative genes in experiments using RNAi for gene expression (Fig. 4). Focusing on how lactic acid bacteria and the products of these bacteria contribute to life span mechanisms, we will analyze the relations of molecules that regulate cell death, which are related to cell longevity, and attempt to determine the molecular mechanisms that determine the life span of organisms (Fig. 6).

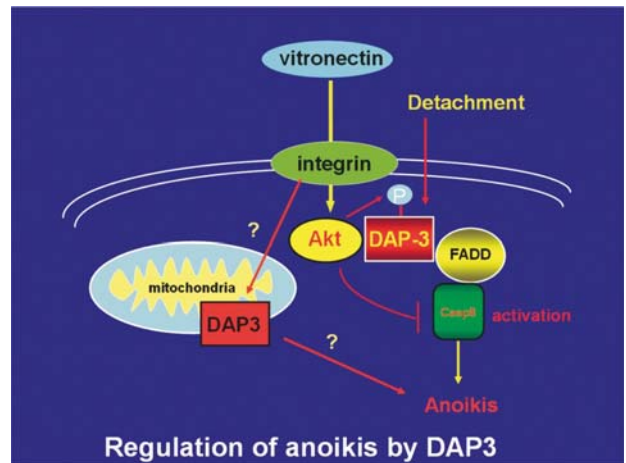


図7. アノイクシスの制御機構

Fig. 7. Mechanism for anoikis regulation

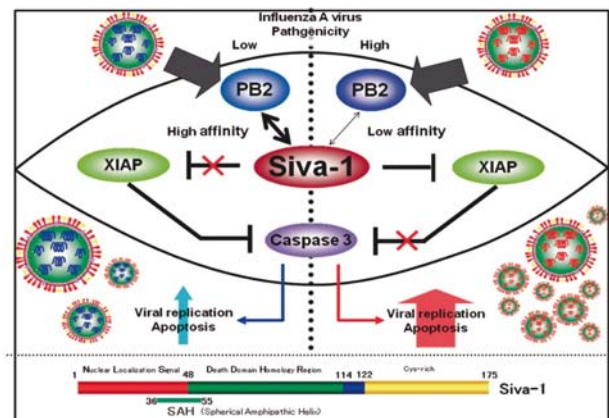


図8. Siva-1によるインフルエンザウイルスの増殖制御とアポトーシス誘導機構

Fig. 8. Regulation of influenza virus replication and apoptosis induction by Siva-1

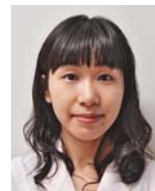
共同利用・共同研究推進室



推進室長
浜田 淳一



事務担当
伊藤 鮎子



研究支援推進員
櫻井 希

北海道大学遺伝子病制御研究所は、平成22年4月1日より、共同利用・共同研究拠点、「細菌やウイルスの持続性感染により発生する感染癌の先端的な研究拠点」に認定されました。拠点として行っている主な事業は、特別共同研究、一般共同研究および共同研究集会です。特別共同研究とは本研究が提案して重点的に推進する研究課題（細菌やウイルスの持続感染による発癌に関わるシグナルネットワーク・研究代表者高岡晃教）を所外の研究分担者とともに進めるものです。一般共同研究は、拠点が提示する共同研究プログラムに沿った研究課題を所外の研究者に独自に提案していただき、その課題を所内の研究者とともに推し進めるものです。いずれの共同研究も、本研究の施設、装置、データ等を主に利用して行うものです。研究集会は、共同研究の立案や成果発表会のために開かれる会議・シンポジウムを所外の研究者に企画していただくものです。これらの事業が円滑に行われるように、共同利用・共同研究推進室は、公募のお知

らせ、航空券・宿泊先の手配等を支援しています。

その他、ノックアウトマウス作製支援として、相同組換え ES 細胞ならびにキメラマウスの作出を行っています。支援の詳細は附属動物実験施設のウェブサイト (<http://www.igm.hokudai.ac.jp/lae/index-j.html>) をご参照ください。

プロジェクト Project 年度 Year	特別共同研究 (件数) No. of Special Joint Research Project	一般共同研究 (件数) No. of General Joint Research Project	研究集会 (件数) No. of Symposium
平成22年度 (2010)	4	22	1
平成23年度 (2011)	5	26	2
平成24年度 (2012)	5	20	4

主な研究機器 Major Research Equipment



小動物用X線 CT 装置 Latheta LCT-200 (日立アロカメディカル)

In vivo micro-CT scanner for small lab animals Latheta LCT-200 (Hitachi Aloka Medical)

マウス・ラットを使用した動物実験での形態観察を目的とした断層撮影専用装置です。標準走査時間は、断層標準撮影モード(360°収集)で約10.6秒/回転、一般X線標準撮影モードで約8.3秒/300mmです。有効撮影視野は最大300mm(体軸方向)です。

Latheta LCT-200 is an X-ray computed tomography scanner for animal experiments using mice and rats. It is powerful for morphologically observing inside the body. Standard scanning time is 10.6 s/rotation (standard tomography mode) and 8.3 s/300 mm (standard X-ray photography mode). Maximum scanning length is 300 mm (body axis).



共焦点レーザー走査型顕微鏡 FLUOVIEW FV1000-D (Olympus)

Confocal laser scanning microscope

生細胞の蛍光イメージング(405nm~635nmの波長域に対応)を高精度・高感度に行うことができます。

FLUOVIEW FV1000-D is capable of fluorescently imaging live cells at high accuracy and sensitivity. It is operated in the fluorescence wavelength 405~635 nm.

Joint Usage / Research Center Promotion Office

Associate Professor **Jun-ichi HAMADA, Ph.D.**
 Secretary **Ayuko ITOH**
 Technician **Nozomi SAKURAI**

Promotion Office of the Joint Usage/Research Center started its activities in April, 2010 when the Institute for Genetic Medicine was authorized to be “infection-associated cancers caused by sustained infection with bacteria and viruses.” by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan. Projects of the Center consist of Special Joint Research, General Joint Research, and Symposia. For Special Joint Research, the institute is presenting the project “Signal networks related to carcinogenesis by persistent infection with bacteria or viruses. Outside researchers are invited to apply for collaboration in the project. In General Joint Research, outside researchers can individually design research projects in line with the Joint Research Programs which are proposed by members of each division of the institute. In both projects, researches are to be performed in the institute, using the apparatuses available and the data thus obtained. Symposia are held for presenting and discussing results of the researches, which inspire participants to

plan their next research steps.

Promotion Office acts for smooth development of the projects, and supports organizing symposia, assisting participants with their travel from afar.

In addition, as support to generate knockout mice, we establish gene-targeted ES clones and produce chimeric mice from ES cells. Please refer to a website of Laboratory of Animal Experiment for the details of the support (<http://www.igm.hokudai.ac.jp/lae/index-j.html>).



セルソーター FACS Aria II (Becton, Dickinson and Company)
Cell sorter

蛍光標識した細胞を高速に分取することができます。4本のレーザーを搭載しており、450nm~785nmの波長域の蛍光に対応可能です。細胞の分取は、チューブを用いる場合には4方向の分取、またプレートを用いる場合には384ウェルプレートまで使用することができます。

FACS Aria II is a high speed cell sorter for measuring and sorting fluorescence-labelled cells. The cell sorter has 4 channels of lasers, near UV (375 nm), Violet (405 nm), Blue (488 nm), and Red (633 nm). The sorted cells are collected in a variety of vessels including: FACS tubes for 4-way sort, and multiwell plate for up to 384-well plate.



2010研究集会
Symposium 2010



2011研究集会
Symposium 2011



2011研究集会
Symposium 2011



2012研究集会
Symposium 2012

教育活動

Education Activities

本研究所教員は、大学院医学研究科、大学院理学院、大学院総合化学院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、理学院博士後期課程、大学院総合化学院修士課程及び博士後期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。

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 Chemical Sciences and Engineering or Graduate School of Life Science. Students can take Master Course and Doctor Course of Graduate School of Medicine, Doctor Course of Graduate School of Science, Master Course and Doctor Course of Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, and Master Course and Doctor Course of Graduate School of Life Science.

大学院医学研究科

科 目 名		担 当 教 員
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論 専門医学研究Ⅰ・Ⅱ	癌ウイルス学 癌ウイルス学分野 癌ウイルス学分野 癌ウイルス学 癌ウイルス学分野	准教授 丸尾 聖爾 助 教 岩切 大
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論 専門医学研究Ⅰ・Ⅱ	幹細胞生物学 幹細胞生物学分野 幹細胞生物学分野 幹細胞生物学 幹細胞生物学分野	教 授 近藤 亨 准教授 濱田 淳一 助 教 森口 徹生 助 教 飯笹 久
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論 専門医学研究Ⅰ・Ⅱ	分子免疫学と細胞外基質学 分子免疫学分野 分子免疫学分野 分子免疫学と細胞外基質学 分子免疫学分野	教 授 上出 利光 助 教 森本 純子 助 教 前田 直良
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論 専門医学研究Ⅰ・Ⅱ	分子腫瘍学総論 癌生物学分野 癌生物学分野 分子生物学の基礎 癌生物学分野	教 授 野口 昌幸 助 教 水津 太
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論 専門医学研究Ⅰ・Ⅱ	ヒトウイルス感染症 感染病態学分野 感染病態学分野 ヒトウイルス感染症 感染病態学分野	教 授 志田 壽利 准教授 大橋 貴 助 教 張 険峰
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論 専門医学研究Ⅰ・Ⅱ	免疫生物学 免疫生物学分野 免疫生物学分野 免疫生物学 免疫生物学分野	教 授 清野研一郎 講 師 香城 諭 講 師 和田はるか
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論 専門医学研究Ⅰ・Ⅱ	Type1/Type2 サイトカインによる免疫制御と疾患の克服 免疫制御学分野 免疫制御学分野 Type1/Type2 サイトカインによる免疫制御 免疫制御学分野	教 授 西村 孝司 准教授 北村 秀光 助 教 脇田 大功 特任助教 佐藤 崇之
医学総論 基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ 基本医学総論	癌ウイルス学 癌ウイルス学分野 癌ウイルス学分野 癌ウイルス学	准教授 吉山 裕規

大学院総合化学院

科 目 名	担 当 教 員
生物化学Ⅰ（疾病制御化学Ⅰ） Biochemistry I (Molecular Signaling in Immunity and Cancer I)	教 授 高岡 晃教
生物化学Ⅰ（疾病制御化学Ⅱ） Biochemistry I (Molecular Signaling in Immunity and Cancer II)	教 授 藤田 恭之

大学院生命科学院

科 目 名	担 当 教 員
細胞高次機能学特論	教 授 田中 一馬

代表論文 ; Selected Paper

○癌ウイルス分野

EBV lytic infection enhances transformation of B-lymphocytes infected with EBV in the presence of T-lymphocytes.

Katsumura KR, Maruo S, Takada K.
J Med Virol. 2012 Mar; 84(3): 504-510.

Adenovirus virus-associated RNAs induce type I interferon expression through a RIG-I-mediated pathway.

Minamitani T, Iwakiri D, Takada K.
J Virol. 2011 Apr; 85(8): 4035-4040.

Epstein-Barr virus nuclear antigens 3C and 3A maintain lymphoblastoid cell growth by repressing p16INK4A and p14ARF expression.

Maruo S, Zhao B, Johannsen E, Kieff E, Zou J, Takada K.
Proc Natl Acad Sci USA. 2011 Feb 1; 108(5): 1919-1924.

○幹細胞生物学分野

Esophageal cancer-related gene 4 is a secreted inducer of cell senescence expressed by aged CNS precursor cells.

Kujuro Y, Suzuki N, Kondo T.
Proc Natl Acad Sci USA. 2010 May 4; 107(18): 8259-8264.

Combination of a ptgs2 inhibitor and an epidermal growth factor receptor-signaling inhibitor prevents tumorigenesis of oligodendrocyte lineage-derived glioma-initiating cells.

Hide T, Takezaki T, Nakatani Y, Nakamura H, Kuratsu J, Kondo T.
Stem Cells. 2011 Apr; 29(4): 590-599.

Essential role of the Hedgehog signaling pathway in human glioma-initiating cells.

Takezaki T, Hide T, Takanaga H, Nakamura H, Kuratsu J, Kondo T.
Cancer Sci. 2011 Jul; 102(7): 1306-1312.

○分子生体防御分野

ZAPS is a potent stimulator of signaling mediated by the RNA helicase RIG-I during antiviral responses.

Hayakawa S, Shiratori S, Yamato H, Kameyama T, Kitatsuji C, Kashigi F, Goto S, Kameoka S, Fujikura D, Yamada T, Mizutani T, Kazumata M, Sato M, Tanaka J, Asaka M, Ohba Y, Miyazaki T, Imamura M, Takaoka A.
Nat Immunol. 2011 Jan; 12(1): 37-44.

IRF3 regulates cardiac fibrosis but not hypertrophy in mice during angiotensin II-induced hypertension.

Tsushima K, Osawa T, Yanai H, Nakajima A, Takaoka A, Manabe I, Ohba Y, Imai Y, Taniguchi T, Nagai R.
FASEB J. 2011 May; 25(5): 1531-1543.

Interferon- α/β and anti-fibroblast growth factor rece-

ptor 1 monoclonal antibody suppress hepatic cancer cells in vitro and in vivo.

Sasaki S, Ishida T, Toyota M, Ota A, Suzuki H, Takaoka A, Yasui H, Yamamoto H, Takagi H, Maeda M, Seito T, Tsujisaki M, Shinomura Y, Imai K.
PLoS One. 2011 May 9; 6(5): e19618.

○分子免疫分野

Interleukin-17A deficiency accelerates unstable atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E-deficient mice.

Danzaki K, Matsui Y, Ikesue M, Ohta D, Ito K, Kanayama M, Kurotaki D, Morimoto J, Iwakura Y, Yagita H, Tsutsui H, Uede T.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2012 Feb; 32(2): 273-280.

Osteopontin modulates the generation of memory CD8+ T cells during influenza virus infection.

Morimoto J, Sato K, Nakayama Y, Kimura C, Kajino K, Matsui Y, Miyazaki T, Uede T.
J Immunol. 2011 Dec 1; 187(11): 5671-5683.

$\alpha 9\beta 1$ integrin-mediated signaling serves as an intrinsic regulator of pathogenic Th17 cell generation.

Kanayama M, Morimoto J, Matsui Y, Ikesue M, Danzaki K, Kurotaki D, Ito K, Yoshida T, Uede T.
J Immunol. 2011 Dec 1; 187(11): 5851-5864.

○癌生物分野

Characterization of the interaction of influenza virus NS1 with Akt.

Matsuda M, Suizu F, Hirata N, Miyazaki T, Obuse C, Noguchi M.
Biochem Biophys Res Commun. 2010 May 7; 395(3): 312-317.

Regulation of Akt by phosphorylation of distinct threonine and serine residues Threonine: Structure, Biosynthesis and Functions; Advances in Medicine and Biology.

M. Noguchi & F. Suizu.
Nova Science Publishers, New York, USA. in press 2011.

The role of tumor necrosis factor- α for interleukin-10 production by murine dendritic cells.

Hirata N, Yanagawa Y, Ogura H, Satoh M, Noguchi M, Matsumoto M, Togashi H, Onoe K, Iwabuchi K.
Cell Immunol. 2011; 266(2): 165-171.

○感染病態分野

Role of Nucleocytoplasmic RNA Transport during the Life Cycle of Retroviruses.

Shida H.
Front Microbiol. 2012; 3: 179.

Nuclear and cytoplasmic effects of human CRM1 on HIV-1 production in rat cells.

Nagai-Fukataki M, Ohashi T, Hashimoto I, Kimura T, Hakata Y, Shida H.
Genes Cells. 2011 Feb; 16(2): 203-216.

Inhibitory effect of human TRIM5alpha on HIV-1 production.
Zhang X, Kondo M, Chen J, Miyoshi H, Suzuki H, Ohashi T, Shida H.
Microbes Infect. 2010 Sep; 12(10): 768-777.

○分子腫瘍分野

Loss of Scribble causes cell competition in mammalian cells.
Norman M, Wisniewska KA, Lawrenson K, Garcia-Miranda P, Tada M, Kajita M, Mano H, Ishikawa S, Ikegawa M, Shimada T, Fujita Y.
J Cell Sci. 2012 Jan 1; 125(Pt 1): 59-66.

Interface between normal and transformed epithelial cells: a road to a novel type of cancer prevention and treatment.
Fujita Y.
Cancer Sci. 2011 Oct; 102(10): 1749-1755.

Interactions between normal and transformed epithelial cells: Their contributions to tumorigenesis.
Hogan C, Kajita M, Lawrenson K, Fujita Y.
Int J Biochem Cell Biol. 2011 Apr; 43(4): 496-503.

○免疫生物分野

Successful differentiation to T cells, but unsuccessful B-cell generation, from B-cell-derived induced pluripotent stem cells.
Wada H, Kojo S, Kusama C, Okamoto N, Sato Y, Ishizuka B, Seino K.
Int Immunol. 2011 Jan; 23(1): 65-74.

Establishment of an improved mouse model for infantile neuroaxonal dystrophy that shows early disease onset and bears a point mutation in Pla2g6.
Wada H, Yasuda T, Miura I, Watabe K, Sawa C, Kamijuku H, Kojo S, Taniguchi M, Nishino I, Wakana S, Yoshida H, Seino K.
Am J Pathol. 2009 Dec; 175(6): 2257-2263.

Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of alpha-galactosylceramide, which can induce cross-protection against influenza viruses.
Kamijuku H, Nagata Y, Jiang X, Ichinohe T, Tashiro T, Mori K, Taniguchi M, Hase K, Ohno H, Shimaoka T, Yonehara S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H, Seino KI.
Mucosal Immunol. 2008 May; 1(3): 208-218.

○疾患モデル創成分野

Valine 1532 of human BRC repeat 4 plays an important role in the interaction between BRCA2 and RAD51.
Ochiai K, Yoshikawa Y, Yoshimatsu K, Oonuma T, Tomioka Y, Takeda E, Arikawa J, Mominoki K, Omi T, Hashizume K, Morimatsu M.
FEBS Lett. 2011 Jun 23; 585(12): 1771-1777.

Interactions between canine RAD51 and full length or truncated BRCA2 BRC repeats.
Ochiai K, Yoshikawa Y, Oonuma T, Tomioka Y, Hashizume K, Morimatsu M.
Vet J. 2011 Nov; 190(2): 293-295.

Motor-coordination-dependent learning, more than others, is impaired in transgenic mice expressing pseudorabies virus immediate-early protein IE180.
López-Ramos JC, Tomioka Y, Morimatsu M, Yamamoto S, Ozaki K, Ono E, Delgado-García JM.
PLoS One. 2010 Aug 12; 5(8): e12123.

○免疫制御分野

The development of IL-17/IFN- γ -double producing CTLs from Tc17 cells is driven by epigenetic suppression of Socs3 gene promoter.
Satoh T, Tajima M, Wakita D, Kitamura H, Nishimura T.
Eur J Immunol. 2012 Jun 4. [Epub ahead of print]

Neuropeptide signaling activates dendritic cell-mediated type 1 immune responses through neurokinin-2 receptor.
Kitamura H, Kobayashi M, Wakita D, Nishimura T.
J Immunol. 2012 May 1; 188(9): 4200-4208.

First clinical trial of cancer vaccine therapy with artificially synthesized helper/killer-hybrid epitope long peptide of MAGE-A4 cancer antigen.
Takahashi N, Ohkuri T, Homma S, Ohtake J, Wakita D, Togashi Y, Kitamura H, Todo S, Nishimura T.
Cancer Sci. 2012 Jan; 103(1): 150-153.

○分子間情報分野

Mutations in N-terminal flanking region of blue light-sensing light-oxygen and voltage 2 (LOV2) domain disrupt its repressive activity on kinase domain in the Chlamydomonas phototropin.
Aihara Y, Yamamoto T, Okajima K, Yamamoto K, Suzuki T, Tokutomi S, Tanaka K, Nagatani A.
J Biol Chem. 2012 Mar 23; 287(13): 9901-9909.

Essential role of the NH2-terminal region of Cdc24 guanine nucleotide exchange factor in its initial polarized localization in Saccharomyces cerevisiae.
Fujimura-Kamada K, Hirai T, Tanaka K.
Eukaryot Cell. 2012 Jan; 11(1): 2-15.

Isolation and characterization of novel mutations in CDC50, the non-catalytic subunit of the Drs2p phospholipid flippase.
Takahashi Y, Fujimura-Kamada K, Kondo S, Tanaka K.
J Biochem. 2011 Apr; 149(4): 423-432.

○マトリックスメディスン研究部門

Syndecan-4 prevents cardiac rupture and dysfunction after myocardial infarction.
Matsui Y, Ikesue M, Danzaki K, Morimoto J, Sato M, Tanaka S, Kojima T, Tsutsui H, Uede T.
Circ Res. 2011 May 27; 108(11): 1328-1339.

Syndecan-4 deficiency limits neointimal formation after vascular injury by regulating vascular smooth muscle cell proliferation and vascular progenitor cell mobilization.

Ikesue M, Matsui Y, Ohta D, Danzaki K, Ito K, Kanayama M, Kurotaki D, Morimoto J, Kojima T, Tsutsui H, Uede T.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011 May; 31(5): 1066-1074.

Accelerated development of aging-associated and instability-induced osteoarthritis in osteopontin-deficient mice.

Matsui Y, Iwasaki N, Kon S, Takahashi D, Morimoto J, Matsui Y, Denhardt DT, Rittling S, Minami A, Uede T.

Arthritis Rheum. 2009 Aug; 60(8): 2362-2371.

○プロバイオティクス・免疫ロジック研究部門

CLIPR-59 regulates TNF- α -induced apoptosis by controlling ubiquitination of RIP1.

Fujikura D, Ito M, Chiba S, Harada T, Perez F, Reed JC, Uede T, Miyazaki T.

Cell Death Dis. 2012 Feb 2; 3: e264.

Osteopontin is critical to determine symptom severity of influenza through the regulation of NK cell population.

Sato K, Iwai A, Nakayama Y, Morimoto J, Takada A, Maruyama M, Kida H, Uede T, Miyazaki T.

Biochem Biophys Res Commun. 2012 Jan 6; 417(1): 274-279.

Influenza A virus polymerase inhibits type I interferon induction by binding to interferon beta promoter stimulator 1.

Iwai A, Shiozaki T, Kawai T, Akira S, Kawaoka Y, Takada A, Kida H, Miyazaki T.

J Biol Chem. 2010 Oct 15; 285(42): 32064-32074.

○附属動物実験施設

Valine 1532 of human BRC repeat 4 plays an important role in the interaction between BRCA2 and RAD51.

Ochiai K, Yoshikawa Y, Yoshimatsu K, Oonuma T, Tomioka Y, Takeda E, Arikawa J, Mominoki K, Omi T, Hashizume K, Morimatsu M.

FEBS Lett. 2011 Jun 23; 585(12): 1771-1777.

Interactions between canine RAD51 and full length or truncated BRCA2 BRC repeats.

Ochiai K, Yoshikawa Y, Oonuma T, Tomioka Y, Hashizume K, Morimatsu M.

Vet J. 2011 Nov; 190(2): 293-295.

Motor-coordination-dependent learning, more than others, is impaired in transgenic mice expressing pseudorabies virus immediate-early protein IE180.

López-Ramos JC, Tomioka Y, Morimatsu M, Yamamoto S, Ozaki K, Ono E, Delgado-García JM.

PLoS One. 2010 Aug 12; 5(8): e12123.

○附属感染癌研究センター

ATM-mediated DNA damage signals mediate immune escape through integrin- α v β 3-dependent mechanisms.

Jinushi M, Chiba S, Baghdadi M, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Ito K, Yoshiyama H, Yagita H, Uede T, Takaoka A.

Cancer Res. 2012 Jan 1; 72(1): 56-65.

Tumor-associated macrophages regulate tumor-igenicity and anticancer drug responses of cancer stem/initiating cells.

Jinushi M, Chiba S, Yoshiyama H, Masutomi K, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Yagita H, Takaoka A, Tahara H.

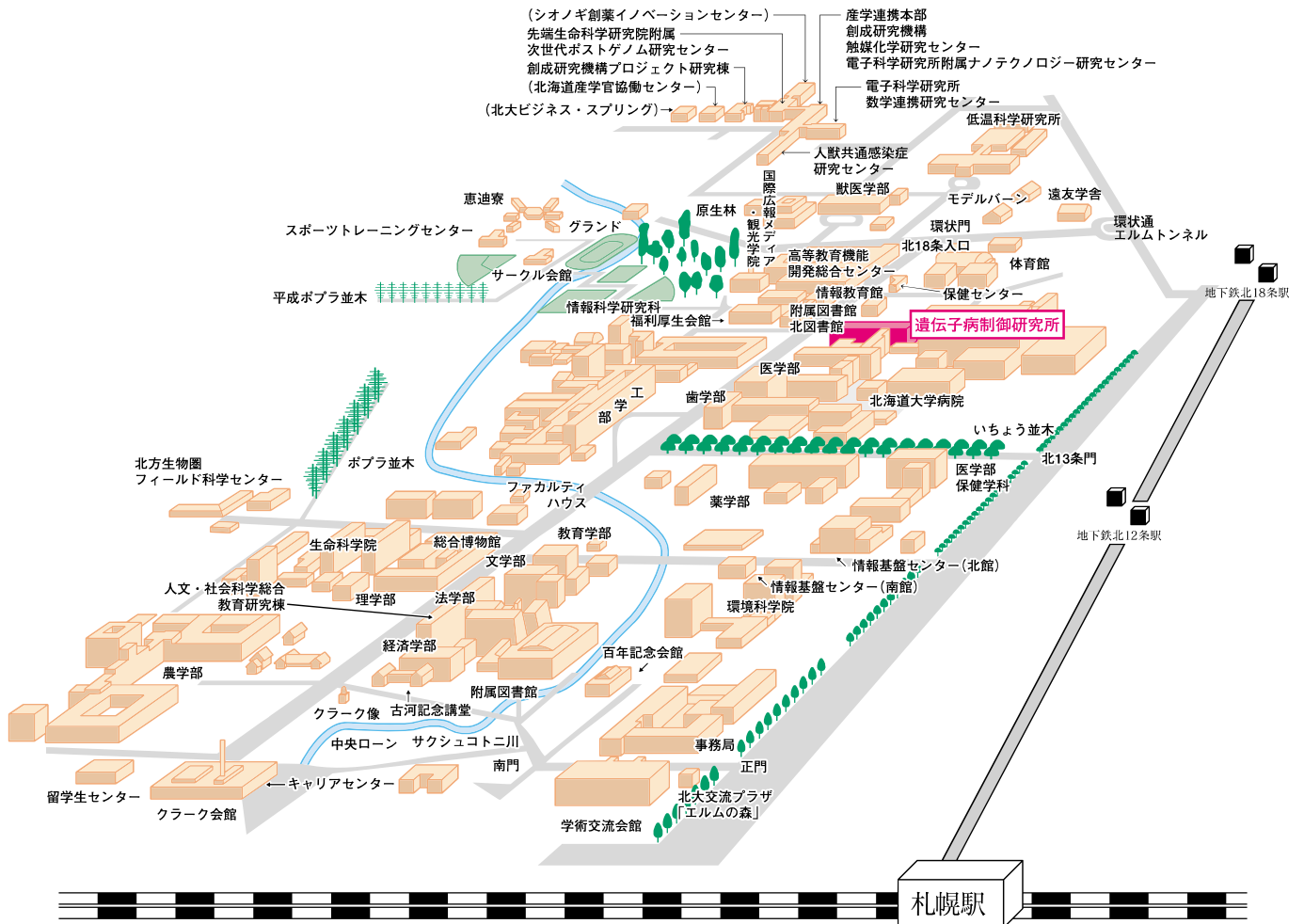
Proc Natl Acad Sci USA. 2011 Jul 26; 108(30): 12425-12430.

Identification and characterization of CCAAT enhancer-binding protein (C/EBP) as a transcriptional activator for Epstein-Barr virus oncogene latent membrane protein 1.

Noda C, Murata T, Kanda T, Yoshiyama H, Sugimoto A, Kawashima D, Saito S, Isomura H, Tsurumi T.

J Biol Chem. 2011 Dec 9; 286(49): 42524-42533.

北海道大学配置図 / Campus Map of Hokkaido University



北海道大学遺伝子病制御研究所概要

平成24年 9 月

遺伝子病制御研究所

060-0815 札幌市北区北15条西 7 丁目

電話(011)716-2111(代表)

FAX(011)717-5286

ホームページ <http://www.igm.hokudai.ac.jp/>

**Institute for Genetic Medicine,
Hokkaido University**

2012.9

N15 W7, Kita-ku, Sapporo

060-0815 Japan

Tel(011)716-2111

Fax(011)717-5286

URL <http://www.igm.hokudai.ac.jp/>

