

北海道大学  
遺伝子病制御研究所概要

INSTITUTE FOR GENETIC MEDICINE

2014-2015



|   |    |
|---|----|
| ● 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                |    |
| RNA 生体機能分野 Division of RNA Biofunction                    | 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 |
| 分子神経免疫学分野 Division of Molecular Neuroimmunology           | 16 |
| 病態研究部門  |    |
| Research Section of Pathophysiology                       |    |
| 癌生物分野 Division of Cancer Biology                          | 18 |
| 感染病態分野 Division of Molecular Virology                     | 20 |
| 分子腫瘍分野 Division of Molecular Oncology                     | 22 |
| 免疫生物分野 Division of Immunobiology                          | 24 |
| 疾患制御研究部門  |    |
| Research Section of Disease Control                       |    |
| 疾患モデル創成分野 Division of Disease Model Innovation            | 26 |
| 免疫機能学分野 Division of Functional Immunology                 | 28 |
| 分子間情報分野 Division of Molecular Interaction                 | 30 |
| フロンティア研究ユニット  |    |
| Frontier Research Unit                                    |    |
| 動物機能医科学研究室 Biomedical Animal Research Laboratory          | 32 |
| 血管生物学研究室 Laboratory of Vascular Biology                   | 34 |
| 附属施設  |    |
| Attached Facility   |    |
| 附属動物実験施設 Laboratory of Animal Experiments                 | 36 |
| 感染癌研究センター Research Center for Infection-associated Cancer | 38 |
| 寄附研究部門  |    |
| Endowed Department  |    |
| プロバイオティクス・イムノロジー研究部門 Department of Probiotics Immunology  | 40 |
| 共同利用・共同研究推進室  |    |
| Joint Usage / Research Center Promotion Office            | 42 |
| ● 教育活動  |    |
| Education Activities                                      | 44 |
| ● 代表論文  |    |
| Selected Paper  | 45 |
| ● 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 for Genetic Medicine; IGM) のDNAには、歴史的に2つの特徴的なオリジンをみることが出来ます。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IGMは発足しました。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する一方で、IGM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/免疫疾患およびがんに着目し、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大部門に渡る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、さらに寄附研究部門を加えた形で構成されています。さらに2014年には特に若手研究者の育成に重点をおいたブランチとして、動物機能医科学研究室および血管生物学研究室から構成されるフロンティア研究ユニットを新たに増設しました。また、教育連携にとしましては、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200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・共同研究拠点に認定されました。その中で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、国内外の関連研究者と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。

近年大学や研究を取り巻く環境は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ちつくり強く研究を推進させ、生命医学に新しい世界を切り拓くことであると考えています。研究所全体が一丸となって、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26年12月

北海道大学遺伝子病制御研究所所長 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. In 2014, the “Frontier Research Unit” has newly added as a section for nurturing of young investigators. IGM is also engaged in undergraduate and postgraduate education programs. 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, such as Graduate Schools of Dental Medicine, Agriculture, and Science *etc.*

The institute, which is one of the largest research organizations in the Northeastern part of Japan, has a total of nearly 200 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 domestic/overseas researchers, and to develop relationships with visited researchers and community in pursuit of new collaborations and initiatives.

Our direction of the road ahead is fundamentally driven based on the two above-mentioned origins of its DNA. The mission of our IGM teaching staffs is to play a key, leading 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.

December 2014

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（1,935m<sup>2</sup>）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。
- 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。
- 昭和46. 4. 1 癌研究施設に生化学部門が設置された。

# 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 (1,935m<sup>2</sup>) 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
1969. 4 Cancer Immunopathology Institute, Hokkaido University School of Medicine was renamed Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine
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。<br><br>附属ウイルスベクター開発センターが廃止された。<br>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<br>Discontinued, Center for Virus Vector Development<br>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  |
| 平成24. 4. 1  | 癌関連遺伝子分野は、幹細胞生物学分野に改称された。   | 2012. 4                        | Division of Cancer Related Genes was renamed Division of Stem Cell Biology   |
| 平成25. 9.11  | 癌ウイルス分野は、RNA 生体機能分野に改称された。  | 2013. 9                        | Division of Tumor Virology was renamed Division of RNA Biofunction   |
| 平成25.10.31  | ROYCE' 健康バイオ研究部門が終了した。  | 2013.10                        | Discontinued, Department of ROYCE' Health Bioscience as Endowed Department in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University  |
| 平成26. 2. 1  | フロンティア研究ユニット「動物機能医学研究室」が設置された。  | 2014. 2                        | Established, Biomedical Animal Research Laboratory as Frontier Research Unit in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University  |
| 平成26. 3.31  | 寄附研究部門「マトリックスメディスン研究部門」が終了した。   | 2014. 3                        | Discontinued, Department of Matrix Medicine as Endowed Department in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University   |
| 平成26. 4. 1  | フロンティア研究ユニット「血管生物学研究室」が設置された。   | 2014. 4                        | Established, Vascular Biology as Frontier Research Unit in Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University   |
| 平成26. 5. 1  | 分子免疫分野は、分子神経免疫学分野に改称された。  | 2014. 5                        | Division of Molecular Immunology was renamed Division of Molecular Neuroimmunology   |
| 平成26.10. 1  | 免疫制御分野は、免疫機能学分野に改称された。  | 2014.10                        | Division of Immunoregulation was renamed Division of Functional Immunology   |

## 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

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

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

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

遺伝子病制御研究所附属動物実験施設歴代施設長

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

|    |       |            |             |
|----|-------|------------|-------------|
| 初代 | 上出 利光 | 平成12. 4. 1 | ～平成16. 3.31 |
| 2代 | 菊池九二三 | 平成16. 4. 1 | ～平成18. 3.31 |
| 3代 | 畠山 昌則 | 平成18. 4. 1 | ～平成20. 6.30 |
| 4代 | 志田 壽利 | 平成20. 7. 1 | ～平成24. 3.31 |
| 5代 | 森松 正美 | 平成24. 4. 1 | ～平成25.10.31 |
| 6代 | 清野研一郎 | 平成25.11. 1 | ～           |

|                                 |         |          |
|---------------------------------|---------|----------|
| Toshimitsu UEDE, M.D.,Ph.D.     | 2000. 4 | ～2004. 3 |
| Kunimi KIKUCHI, D.Med.Sc        | 2004. 4 | ～2006. 3 |
| Masanori HATAKEYAMA, M.D.,Ph.D. | 2006. 4 | ～2008. 6 |
| Hisatoshi SHIDA, Ph.D.          | 2008. 7 | ～2012. 3 |
| Masami MORIMATSU, D.V.M.,Ph.D.  | 2012. 4 | ～2013.10 |
| Ken-ichiro SEINO, M.D.,Ph.D.    | 2013.11 | ～        |

遺伝子病制御研究所附属ウイルスベクター開発センター歴代センター長

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

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

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

遺伝子病制御研究所附属感染癌研究センター歴代センター長

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

|    |       |            |             |
|----|-------|------------|-------------|
| 初代 | 畠山 昌則 | 平成20. 7. 1 | ～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 | ～平成26. 3.31 |
| 4代 | 近藤 亨  | 平成26. 4. 1 | ～           |

|                                  |         |          |
|----------------------------------|---------|----------|
| 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 | ～2014. 3 |
| Toru KONDO, Ph.D.                | 2014. 4 | ～        |

名 誉 教 授

Professor Emeritus

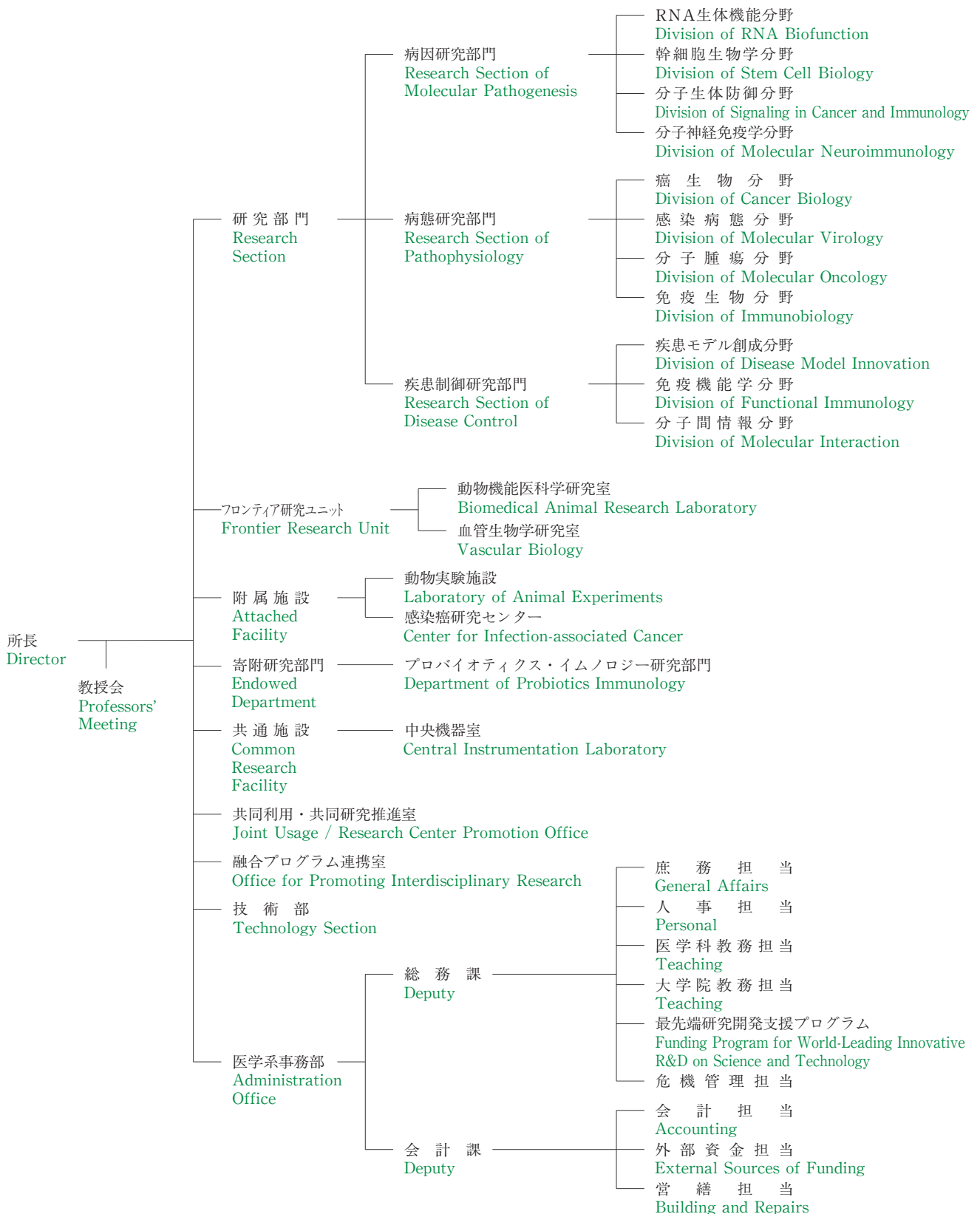
(称号授与年月日)

|      |       |            |
|------|-------|------------|
| 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 |
| 医学博士 | 上出 利光 | 平成25. 4. 1 |
| 理学博士 | 志田 壽利 | 平成25. 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 |
| Toshimitsu UEDE, M.D.,Ph.D.   | 2013. 4 |
| Hisatoshi SHIDA, Ph.D.        | 2013. 4 |

# 機構

## Organization



| 職員数          | 平成26年 6 月 1 日現在 | Number of Staff            | 2014.6.1 |
|--------------|-----------------|----------------------------|----------|
| 教授           | 10              | Professor                  | 10       |
| 准教授          | 6               | Associate Professor        | 6        |
| 講師           | 3               | Lecturer                   | 3        |
| 助教           | 17              | Assistant Professor        | 17       |
| 事務職員（医学系事務部） | 56              | Administrative Officer     | 56       |
| 技術専門職員       | 6               | Technical Specialist       | 6        |
| 博士研究員        | 5               | Postdoctoral fellow        | 5        |
| 学術研究員        | 8               | Research Fellow            | 8        |
| 客員研究員        | 5               | Visiting Fellow            | 5        |
| 非常勤研究員       | 2               | Part-time Fellow           | 2        |
| 研究支援推進員      | 5               | Research Support Assistant | 5        |
| 非常勤職員        | 15              | Part-timer                 | 15       |
| 計            | 138             | Total                      | 138      |

| 学生数           | 平成26年 6 月 1 日現在 | Number of Student   | 2014.6.1 |
|---------------|-----------------|---|----------|
| 医学研究科博士課程     | 10              | Graduate School of Medicine, Doctor Course                          | 10       |
| 医学研究科修士課程     | 10              | Graduate School of Medicine, Master Course                          | 10       |
| 理学院博士課程       | 1               | Graduate School of Science, Doctor Course                           | 1        |
| 総合化学院博士課程     | 5               | Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Doctor Course | 5        |
| 総合化学院修士課程     | 4               | Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Master Course | 4        |
| 生命科学院博士課程     | 2               | Graduate School of Life Science, Doctor Course                      | 2        |
| 生命科学院修士課程     | 1               | Graduate School of Life Science, Master Course                      | 1        |
| 理学部学生         | 2               | School of Science, Undergraduate student                            | 2        |
| 特別研究学生        | 3               | Special Research Student  | 3        |
| ビジティングスチューデント | 31              | Visiting Student  | 31       |
| 計             | 69              | Total   | 69       |

# 職員・学生

## Staff and Student

### 病因研究部門

#### ●RNA 生体機能分野

教授 廣瀬 哲郎  
助教 岩切 大  
助教 山崎 智弘  
学術研究員 萬年 太郎  
学術研究員 中條 岳志  
学術研究員 川口 哲哉  
訪問研究員 細木 華奈  
非常勤職員 田畑亜矢子

#### ●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  
博士研究員 大津 直樹  
研究支援推進員 梅澤 沙織  
非常勤職員 川見 祥代  
大学院生 項 慧慧 (博士1年)  
ビテイングスチューデント 金子 貞洋 (博士4年)  
ビテイングスチューデント 坂田健一郎 (博士4年)  
ビテイングスチューデント 山口 響子 (博士2年)  
ビテイングスチューデント 塚本 桂広 (博士3年)

#### ●分子生体防御分野

教授 高岡 晃教  
助教 佐藤 精一  
助教 亀山 武志  
非常勤研究員 石川 浩三  
非常勤職員(兼) 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 山田 大翔 (博士3年)  
大学院生 李 凱 (博士2年)  
大学院生 畑中加奈枝 (修士2年)  
大学院生 松村 弥生 (修士2年)  
大学院生 町野ひろみ (修士1年)  
学部生 西本 瑤子 (学部4年)  
ビテイングスチューデント 鈴木 啓 (博士4年)  
ビテイングスチューデント 川邊 智宏 (学部6年)  
ビテイングスチューデント 千丈 創 (学部6年)  
ビテイングスチューデント 芦名 一茂 (学部6年)  
ビテイングスチューデント 石塚 幹広 (学部6年)  
客員研究員 齋 秀二

#### ●分子神経免疫学分野

教授 村上 正晃  
助教 上村 大輔  
特任助教 小椋 英樹  
特任助教 有馬 康伸  
博士研究員 熱海 徹  
博士研究員 蔣 菁菁  
技術専門職員(兼) 中山千恵美

非常勤職員 熊井乃里子  
特別研究学生 孟 潔 (博士4年)  
特別研究学生 板東 秀典 (博士3年)  
特別研究学生 Sabharwal Lavannya (博士3年)  
ビテイングスチューデント 遠藤 努 (博士4年)

### 病態研究部門

#### ●癌生物分野

教授 野口 昌幸  
講師 水津 太  
技術職員(兼) 平田 徳幸  
非常勤研究員 Bala Jyoti  
非常勤職員 矢花 千泉  
ビテイングスチューデント 木村 光輝 (医学部6年)  
ビテイングスチューデント 枝村 達磨 (医学部5年)

#### ●感染病態分野

教授 志田 壽利  
准教授 大橋 貴  
学術研究員 奥田 靖子  
学術研究員 浅沼 高寛

#### ●分子腫瘍分野

教授 藤田 恭之  
助教 梶田美穂子  
助教 昆 俊亮  
博士研究員 山内 肇  
技術専門職員(兼) 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3年)  
大学院生 アリジャン・カデル (博士2年)  
大学院生 齋藤沙弥佳 (博士1年)  
大学院生 高城 幹太 (博士1年)  
大学院生 松澤 文彦 (博士1年)  
大学院生 八子 優太 (博士1年)  
大学院生 佐々木彩名 (修士2年)  
大学院生 山本沙也加 (修士2年)  
大学院生 飯島小百合 (修士1年)  
大学院生 石橋公二郎 (修士1年)  
学部生 佐藤 奈波 (学部4年)

#### ●免疫生物分野

教授 清野研一郎  
講師 和田はるか  
助教 バグダーディー・ムハンマド  
学術研究員 草間 千枝  
研究支援推進員 岡部 レイ  
大学院生 林 えりか (博士3年)  
大学院生 太田 稔 (博士1年)  
大学院生 大塚 亮 (修士2年)  
大学院生 辻 飛雄馬 (修士2年)  
大学院生 樋口光太郎 (修士1年)

大学院生 臼居 優 (修士1年)  
 大学院生 中西沙耶香 (修士1年)  
 ビジネスチューアент 佐々木 元 (博士4年)  
 ビジネスチューアент 武内慎太郎 (博士4年)  
 ビジネスチューアент 阿部 紘丈 (博士3年)  
 ビジネスチューアент 神田 真聡 (博士3年)  
 ビジネスチューアент 新田 統昭 (学部6年)  
 ビジネスチューアент 杉崎 麻友 (学部4年)  
 ビジネスチューアент 阿部優里香 (学部3年)  
 ビジネスチューアент 佐々木愛里 (学部2年)  
 ビジネスチューアент 對馬 峻太 (学部1年)  
 ビジネスチューアент 中川 恵 (学部1年)  
 ビジネスチューアент 審 一範 (学部1年)  
 ビジネスチューアент 江澤永倫子 (学部1年)

### 疾患制御研究部門

#### ●疾患モデル創成分野

教授 (兼) 清野研一郎  
 助 教 森岡 裕香

#### ●免疫機能学分野

教授 (兼) 近藤 亨  
 准 教授 北村 秀光  
 大学院生 大竹 淳矢 (博士4年)  
 大学院生 角田健太郎 (博士4年)  
 大学院生 寺田 聖 (博士2年)  
 大学院生 金海 俊 (修士2年)  
 大学院生 岸川 拓斗 (修士2年)  
 ビジネスチューアент 大野 陽介 (博士4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 三岡 哲生 (博士3年)  
 大学院生 山神香菜子 (博士3年)  
 大学院生 又吉 晶 (修士2年)

### フロンティア研究ユニット

#### ●動物機能医科学研究室

講 師 三浦 恭子  
 助 教 河村 佳見  
 非常勤職員 田辺 裕  
 ビジネスチューアент 宮脇 慎吾 (博士4年)

#### ●血管生物学研究室

特任准教授 樋田 京子  
 特任助教 間石 奈湖  
 学術研究員 鈴木 裕子  
 ビジネスチューアент 北條 敬之 (博士4年)

ビジネスチューアент 山田 健司 (博士3年)  
 ビジネスチューアент 鳥居ちさほ (博士3年)  
 ビジネスチューアент 柳谷 美沙 (博士2年)  
 ビジティングフェロー Alam Mohammad Towfik  
 客員研究員 秋山 廣輔  
 学 部 生 安永 賢史 (学部6年)

### 附属施設

#### ●附属動物実験施設

施設長(兼)教授 清野研一郎  
 助 教 (兼) 森岡 裕香  
 技術専門職員(兼) 室田 宏之  
 技術専門職員(兼) 尾関 祐一  
 研究支援推進員 山本 裕子  
 非常勤職員 渡辺 幸子  
 非常勤職員 美馬 紀子

#### ●感染癌研究センター

センター長(兼)教授 近藤 亨  
 准 教授 地主 将久  
 学術研究員 森田 智子  
 非常勤職員 山階 維騎  
 大学院生 Annan Dorcus Akuba-Muhyia (博士1年)

### 寄附研究部門

#### ●プロバイオティクス・免疫学・免疫学・免疫学研究部門

特任教授 宮崎 忠昭  
 特任助教 中川 久子  
 博士研究員 馬場 一信  
 客員研究員 猪村 帝  
 非常勤職員 石神かおり

### 技術部

技術部長(兼)教授 高岡 晃教  
 嘱託職員 吉田 栄子  
 技術専門員 山口 桂  
 技術専門職員 尾関 祐一  
 技術専門職員 室田 宏之  
 技術専門職員 石川 晋  
 技術専門職員 中山千恵美  
 技術職員 平田 徳幸

### 共同利用・共同研究推進室

室長(兼)准教授 濱田 淳一  
 研究支援推進員 櫻井 希  
 非常勤職員 伊藤 鮎子

### 融合プログラム連携室

准 教 授 瀧本 将人

# RNA 生体機能分野

研究課題

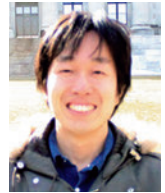
## ノンコーディング RNA の生体機能と 関連疾患の研究



教授・理学博士  
廣瀬 哲郎



助教・医学博士  
岩切 大



助教・生命科学博士  
山崎 智宏

### キーワード

RNA、ゲノム機能、エピゲノム、癌、神経変性疾患

### 研究概要

21世紀に入ってから見いだされた哺乳類ゲノムが産生する多数のノンコーディング RNA (ncRNA) の新しい作用機構と生理機能を明らかにする。これによってゲノムに潜む新しい規則性とその獲得機構を解明する。さらに ncRNA の関わる様々な疾患を見いだすことによって、これまで未知の病因解明や ncRNA を標的とした新しい治療技術の開発に結びつく技術基盤の確立を目指す。この他に EB ウィルスによる発がんの分子機構に関する解析を行う。

### 研究内容及び成果

#### (1) 細胞構造構築 ncRNA の新機能解析

哺乳類ゲノムから産生される ncRNA の中には、それ自体が細胞内構造の骨格となって、その構造構築を担うものが存在する。本研究室では、核内構造体構築を司る構造構築 ncRNA を世界に先駆けて発見し、その作用機構と生理機能解析、さらには関連疾患の解析を進めている。本研究期間では、構造構築 ncRNA である NEAT1 の作用機構を解明するために、そこに相互作用するタンパク質因子の機能解析を網羅的に実施することによって、ncRNA の生合成機構と密に共役した核内構造体の構築機構の概要を明らかにすることに成功した (Naganuma *et al.* EMBO J 2012 など)。一方、ncRNA による構造構築の役割を解明するために、NEAT1 ncRNA の発現が著しく変動するストレス条件の探索や、その際の多面的な機能解析を通して、パラスペックルが分子スポンジとして核質内の様々な制御因子を係留し、その因子の標的遺伝子の発現を柔軟に制御していることをつきとめた (Hirose *et al.* Mol Biol Cell 2014) (下図)。また共同研究によって神経変性疾患患者の脊髄運動ニューロンにおいて異常なパラスペックルが形成さ

れていることを見いだした (Nishimoto *et al.* Mol Brain 2013)。

#### (2) ゲノム中の新しい ncRNA 機能の同定法開発

細胞内構造の構築を担う新しい ncRNA の同定を行うための、新しい RNA 探索手法を考案し、新規構造構築 RNA の探索を実施した。まず細胞抽出液の密度勾配遠心法を組み合わせた分画法を確立し、細胞内構造体を含む高密度画分に含まれる RNA 種を次世代シーケンサーによって網羅的に解析し、霊長類特有の ncRNA 様転写物が蓄積する核内 foci を見いだした。第二に、ヒト完全長 cDNA リソースを用いた共局在スクリーニング法を確立し、特定の ncRNA と共局在するタンパク質因子をゲノムワイドに同定することに成功した(下図)。これによって RNA 構造体であるパラスペックルに複数の神経変性疾患関連タンパク質が含まれていることが明らかになった (Naganuma *et al.* EMBO J 2012)。またこのヒト完全長 cDNA リソースを用いて RNA に依存した顆粒状構造体を網羅的に探索する新たな手法を考案し、複数の新しい構造体を見出すことに成功した。

#### (3) EB ウィルスによる発癌の分子機構

EBV 感染が上皮細胞に与える影響について解析し、膜蛋白質である latent membrane protein 2A (LMP2A) が extracellular signal-regulated kinase (ERK) を恒常的に活性化することがわかった。さらに ERK 活性化は anoikis (上皮細胞の足場消失に伴いおこるアポトーシス) を誘導する因子である Bim を抑制し、その結果 anoikis 抵抗性をもたらすことを明らかにした。これらの結果は、LMP2A による ERK の活性化が EBV による発癌に寄与していることを示唆するものと考えられた。

### パラスペックルのスポンジ機能モデル

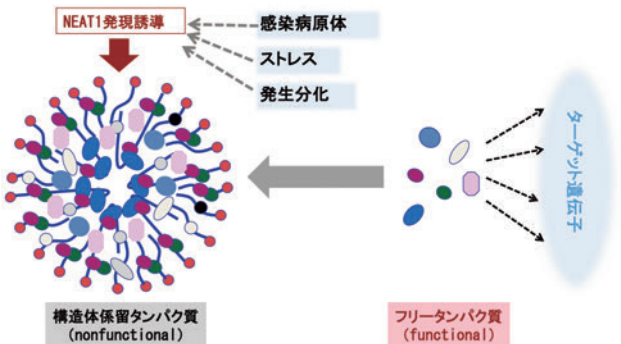


図1. パラスペックルのスポンジ機能モデル。様々な刺激によって誘導される NEAT1 ncRNA によってパラスペックル形成が誘発される。パラスペックルは、核内の制御因子を係留し、その標的遺伝子の発現を制御する。

### 10432 Venus-tagged FLJ cDNAクローン

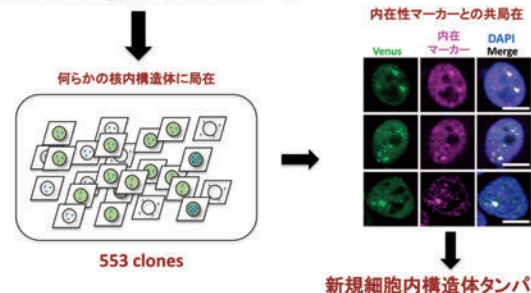


図2. 完全長 cDNA リソースを用いた共局在スクリーニングによる核内構造体タンパク質の同定法。

# Division of RNA Biofunction

Research Project:

## Research on biological function of noncoding RNA and related diseases

Professor **Tetsuro HIROSE, PhD**

Assistant Professor **Dai IWAKIRI, PhD**

Assistant Professor **Tomohiro YAMAZAKI, PhD**

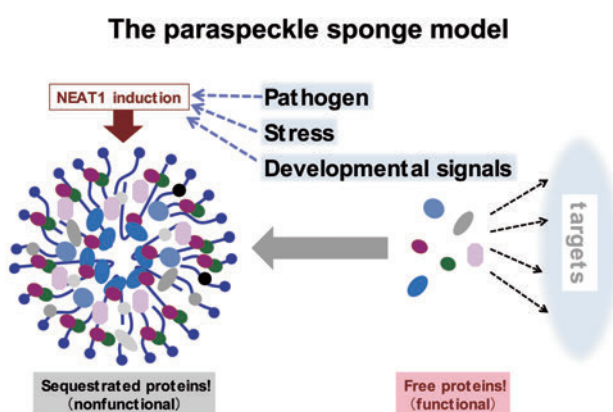
### Outline

In the beginning of 21<sup>st</sup> century, the production of large number of long noncoding RNAs (ncRNAs) was discovered in mammalian genomes. Our research is aimed to unveil molecular mechanism of actions of long noncoding RNAs and their physiological functions. We also challenge to establish basic tools which link our basic research to new medical and pharmaceutical technologies that target to ncRNAs. Our group also studied on the molecular mechanism of oncogenesis induced by EB virus infection.

### Contents and Result

#### (1) Analysis of novel functions of architectural ncRNA

We previously discovered the architectural NEAT1 ncRNAs that functions as skeleton of intracellular structure (PNAS 2009). We have been studying on the mechanism of actions of these architectural ncRNAs, their physiological events and diseases. In this period, we extensively carried out functional analysis of >40 proteins localized in paraspeckles and revealed that the paraspeckle construction proceeds in conjunction with the biogenesis of NEAT1 ncRNA (EMBO J 2012). The functional analyses of NEAT1 revealed that the paraspeckle acts as a molecular sponge that sequesters various regulatory proteins and regulates gene expression (Mol Biol Cell 2014) (Figure 1). As a collaborative research, we detected the formation of aberrant paraspeckles in the spinal motor neuron from the neurodegenerative disease patients (Mol Brain 2013).



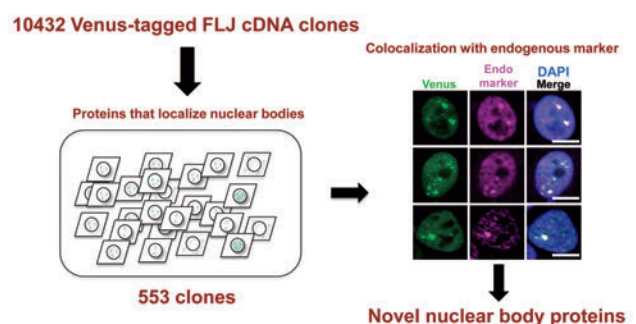
**Fig. 1.** The paraspeckle sponge model. The induced NEAT1 expression triggers to construct paraspeckle structure. The paraspeckle sequesters nuclear regulatory proteins and regulates expression of the respective target genes.

#### (2) Development of new methodologies for identifying novel genomically encoded functions of ncRNAs

New methodologies to search for functional architectural ncRNAs were developed. First, the nuclear bodies were enriched by density gradient centrifugation and the enriched RNAs were extensively analyzed using the next generation sequencer. This analysis identified primate-specific ncRNA-like transcripts that are localized in the novel unidentified nuclear foci. Second, we established the method of co-localization screening to identify the proteins that are co-localized with specific ncRNAs using the full length (FLJ) cDNA resource (Figure 2). This analysis identified >30 RNA-binding proteins localized in the paraspeckles in which multiple proteins related to the specific neurodegenerative disease are contained (EMBO J 2012). Furthermore, using FLJ resource, we established another method to identify new RNA granules.

#### (3) Molecular mechanism of EBV-mediated oncogenesis

We analyzed the effect of EBV infection on epithelial cells by using EBV-converted epithelial cells and revealed that the extracellular signal-regulated kinase (ERK) is constitutively activated by EBV-latent membrane 2A (LMP2A). Further study demonstrated that LMP2A-mediated ERK activation induces resistance to anoikis, a type of apoptosis induced by cell detachment, by down-regulating the pro-anoikis mediator Bim. These findings suggest that LMP2A-mediated ERK activation contributes to the generation of EBV-associated epithelial malignancies.



**Fig. 2.** Co-localization screening method to identify novel nuclear body-localized proteins using human FLJ cDNA resource.

# 幹細胞生物学分野

## 研究課題

### 神経幹細胞／前駆細胞の異常を起因とする疾患発症に関わる新規遺伝子群の同定とそれら因子の性状解析を通じた疾患治療法の開発



教授・医学博士  
近藤 亨



准教授・医学博士  
濱田 淳一



助教・理学博士  
森口 徹生

## キーワード

神経幹細胞、オリゴデンドロサイト、がん幹細胞、グリオーマ、細胞老化、HOX 遺伝子

## 研究概要

神経幹細胞/前駆細胞から誘導したがん幹細胞モデルとオリゴデンドロサイト前駆細胞を用いて確立した細胞老化モデルを用いて同定したがん化・老化に関わる新規因子群の機能解析とその研究成果を基盤とした新規治療方法の創出を目的としている。

## 研究内容及び成果

### (1) グリオーマ幹細胞特異的因子群の機能解析と新規治療法の開発

悪性腫瘍に存在するがん幹細胞は、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。当分野では、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 (mRNA、miRNA を含む) の同定と機能解析を進めてきた (Fig.1)。現在、GIC で発現亢進している 2 つの膜タンパク質 (Glim、Glim2) と GIC で発現消失している miRNA 群の機能解析とそれらを標的とした抗体・核酸医薬の開発を進めている。

### (2) 老化とがん化に関わるペプチドホルモン様分子 Ecr4 の機能解析

Ecr4 (esophageal cancer related gene 4) は、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) や神経幹細胞 (NSC) の老化関連因子として当分野で同定した分泌型ペプチドをコードする遺伝子である。また、様々ながん組織で発現が低下していることが海外のグループを含めて報告され、がん抑制遺伝子として機能する可能性が示されている。

我々は Ecr4 ノックアウトマウスの NSC から人工グリオーマ幹細胞を樹立し、Ecr4 を欠損した人工グリオーマ幹細胞が高い造腫瘍能を持つことをマウスへの移植実験により明らかにした。Ecr4 は細胞増殖・運動能の制御のみならず、生体内での炎症反応など宿主細胞との相互作用に関与する新しいタイプのがん抑制遺伝子だと考えられる。現在、Ecr4 の受容体の同定を行い、詳細な分子メカニズムの解析を行っている。また、この Ecr4-Ecr4 受容体シグナルの多様な生命現象への関わりについても研究を行っている。

### (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明らかにしている (Fig.2)。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受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。

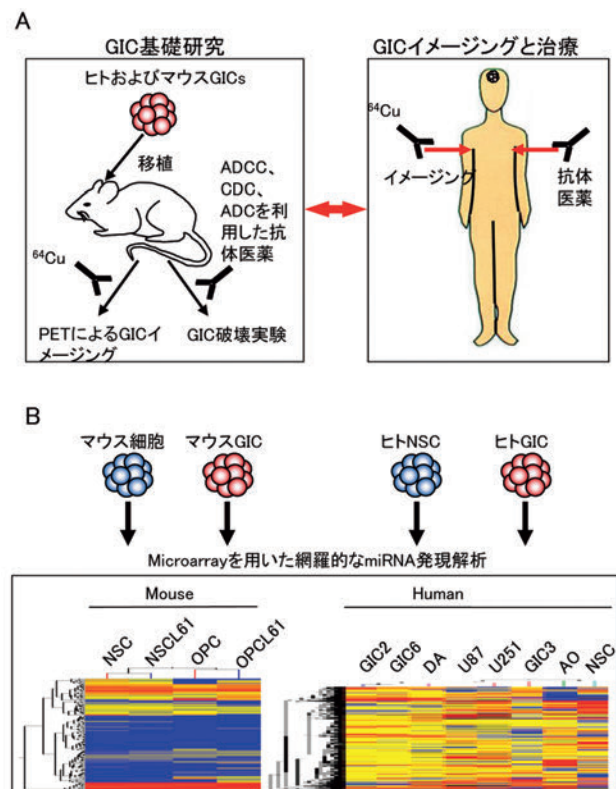


図1. A: GIC特異的膜タンパク質を標的としたグリオーマ治療戦略。B: GIC特異的miRNA群の同定。

Fig. 1. A: Therapeutic strategies targeting GIC-specific membrane proteins. B: Identification of GIC-specific miRNAs.



# Division of Stem Cell Biology

Research Project:

Characterization of novel genes involved in age-related CNS disorders, such as glioma and Alzheimer disease, and the development of new therapeutic methods for these diseases.

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

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

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

## Outline

Our research objectives are (1) to characterize the glioma-initiating cells (GIC) induced from neural stem cells (NSC) and oligodendrocyte precursor cells (OPC), find GIC-specific factors and develop new therapeutic strategies and (2) to characterize factors involved in NSC/OPC senescence and investigate the relationship between candidate factors and age-related disorders.

## Contents and Result

### (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 express tissue-specific stem cell markers, form tumors, and are resistant to irradiation and chemotherapy, suggesting that CICs are the essential therapeutic target. To characterize CIC, we established mouse GIC 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. We have found potential candidate genes, which increase and decrease in GICs and non-GICs respectively, are characterizing them and are developing novel antibody-based (Fig. 1).

### (2) Analysis of Ecrq4 peptide hormone

The esophageal cancer related gene 4(Ecrq4) encodes a putative peptide hormone, and has been shown to be a novel senescence factor in OPCs and NSCs in our laboratory. Recent evidences indicate

that Ecrq4 also function as a tumor suppressor gene. Using mouse GICs derived from Ecrq4-knockout NSCs, we identified that Ecrq4(-/-) GICs generated tumors more quickly and with higher percentage in immunocompetent mice. We further identified Ecrq4 receptor and are examining the function of Ecrq4 in tumorigenesis. We are also studying about the function of Ecrq4-signaling in variety of biological phenomena including age-related 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.2). We are now analyzing 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.

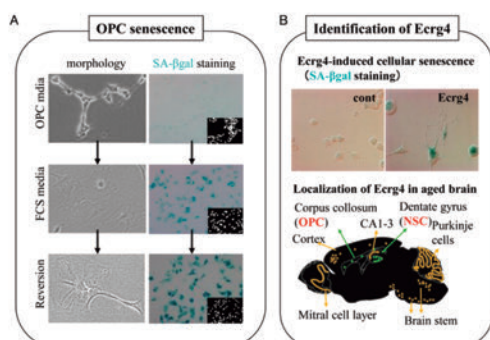


図2. A: OPCは高濃度FCS存在下で細胞老化する。SA-βgal (senescence-associated beta galactosidase) 活性の亢進、細胞増殖抑制。B: Ecrq4の強発現は細胞老化を誘導し、加齢脳NSC、OPC等に発現が観られる。

**Fig. 2.** A: OPCs become senescent in the presence of high concentration of FCS with the increased level of SA-β 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.

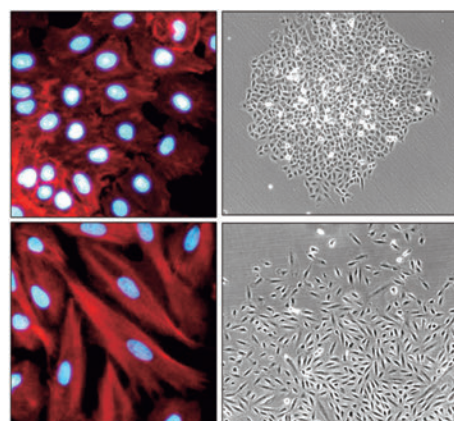


図3. HOXD3を発現していない肺癌細胞は上皮細胞様の形態(上)を呈するが、HOXD3を過剰発現させると線維芽細胞様の形態に変化する(下)。癌転移の早期において重要な形態学的変化とされる上皮-間葉移行に類似している。

**Fig. 3.** Overexpression of HOXD3 converts epithelial cell-like morphology (upper) of human lung cancer cells to fibroblastic morphology (bottom). This phenomenon resembles the epithelial-mesenchymal transition, an important step in an early stage of metastasis

# 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 (生命科学)  
佐藤 精一



助教・博士 (歯学)  
亀山 武志

### キーワード

自然免疫、癌、感染症

### 研究概要

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、非常勤研究員1名、技術職員および事務補助員の2名の他、客員研究員1名、学部学生1名、大学院修士課程の学生3名、博士課程の学生3名、計14名の構成員からなっています。

### 研究内容及び成果

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

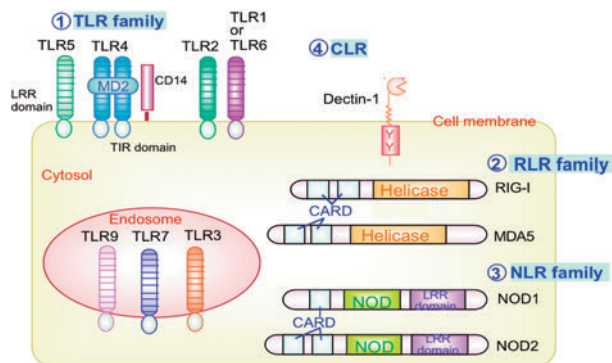


図1. 自然免疫系におけるパターン認識受容体 (the pattern recognition receptors in the innate immune system) 自然免疫系においても特異性は高くはないが、適応免疫系の抗原受容体に相当するような生体内に侵入した微生物を認知する受容体(パターン認識受容体; pattern recognition receptors; PRRs)が存在することがわかってきた。そのような受容体は、核酸をはじめ、細胞壁や鞭毛などの構成分子について、微生物由来の特有の分子パターンを認識することからパターン認識受容体と呼ばれる。元々は、ショウジョウバエの体軸形成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

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。

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ました (図1)。さらにこの受容体を介するシグナルは自然免疫系のみならず、その後の適応免疫系の活性化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。

# 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 **Seiichi SATO, Ph.D.**

Assistant professor **Takeshi KAMEYAMA, DDS, Ph.D.**

### Outline

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 sensor molecular patterns derived from host cells when the cells undergo necrosis/apoptosis, which may reflect aberrant inflammatory responses in autoimmune diseases.

### Contents and Result

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.

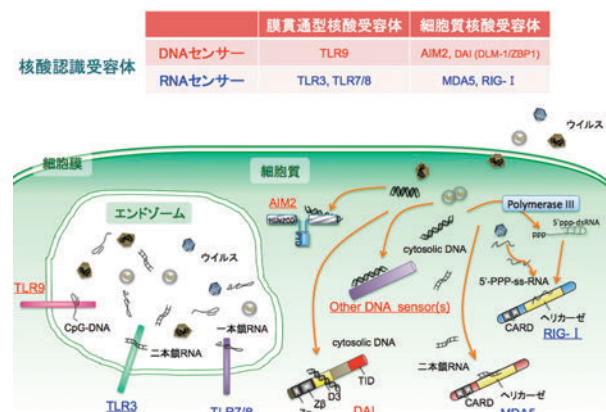


図2. 自然免疫系核酸受容体 (Nucleotide receptors in the innate immune system) 自然免疫系における核酸受容体はDNAおよびRNAに対する認識受容体(センサー)が存在し、さらにそれぞれを局在から膜貫通型と細胞質型の2つに分類できる。細胞質DNAセンサーについては、DAI (DLM-1/ZBP1)の他に、未知なる受容体(X)の存在が考えられる。TLR, Toll-like receptor; DAI, DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors; MDA5, melanoma differentiation-associated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

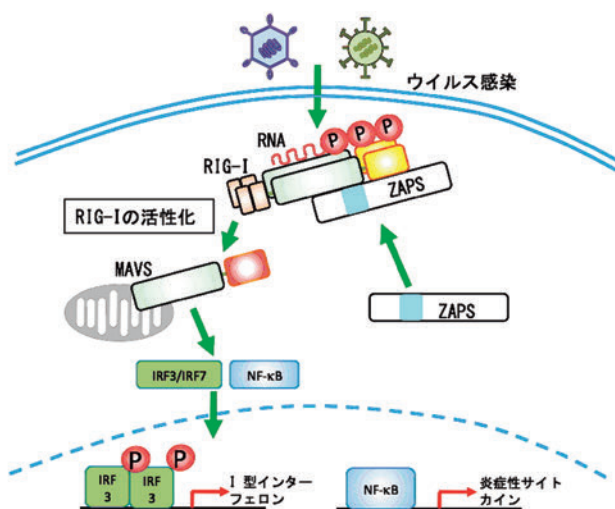


図3. ZAPSが関与するRIG-I活性化の分子機構 (Scheme of RIG-I-mediated signal transduction induced by ZAPS)

### 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

# 分子神経免疫学分野

研究課題

## ヘルパーT細胞依存性の慢性炎症における「Gateway Reflex」とその分子基盤「炎症回路」の解析



教授・医学博士  
村上 正晃



助教・医学博士  
上村 大輔



特任助教・医学博士  
小椋 英樹



特任助教・理学博士  
有馬 康伸

### キーワード

免疫、神経、非免疫系、サイトカイン、慢性炎症、炎症性疾患

### 研究概要

私たちは、自己免疫疾患における非免疫細胞の役割に着目し研究を行ってきた。血管内皮細胞などの非免疫細胞において、転写因子 NF- $\kappa$ B と STAT3 の同時活性化によって形成されるケモカインの過剰産生機構「炎症回路」を発見し、種々の自己免疫疾患・慢性炎症への寄与を明らかにしてきた。最近では、神経の活性化が局所の血管内皮細胞にて過剰な炎症回路を形成すること、またその部位の血管が免疫細胞の標的組織への侵入口となることを見出し、新しい神経シグナル-免疫系：「Gateway Reflex」として発表した。現在、特定の精神ストレスや神経刺激などがどのように炎症応答を制御するかを解析しており、種々の疾患に対する新規治療・予防法の確立を目指している。

### 研究内容及び成果

#### (1) 神経活性化による炎症誘導機構の解析

神経系と免疫系の関連は古く新しい研究領域である。ホルモンを介した神経-内分泌による免疫反応制御は古くから研究されているが、直接的な制御（神経シグナル-免疫系）はほとんど知られていなかった。我々は、局所神経の活性化が免疫応答を亢進する分子機構を世界に先駆けて報告した。抗重力からの感覚神経-交感神経の活性化は、第5腰椎背側血管の内皮細胞周囲にてノルエピネフリンの産生を促した。それにより血管内皮細胞からケモカインが過剰産生され、局所で血液脳関門が破壊されて免疫細胞のゲートが形成される。自己反応性 Th17 細胞が血中にある場合、そのゲートから中枢神経系に侵入し、その場の恒常性を破壊させて、炎症を誘導して多発性硬化症モデル EAE を発症させる（図1）。このゲートが形成される部位は、活性化する神経によって変化することも明らかとなっており、「Gateway Reflex」と命名し解析を進めている。今後、神経の活性化や現代社会の精神ストレスが種々の疾患に関与する分子機構が明らかにされ、神経の活性化を人為的に誘導することで局所のゲートを制御し、種々の疾患・病態をコントロールする技術が創出されることが期待される。

#### (2) 炎症回路の制御遺伝子の解析

我々はこれまでに、ヘルパーT細胞依存性の自己免疫疾患モデルの解析から「炎症回路」という炎症の誘導のための機構を発見した。血管内皮細胞や線維芽細胞などの非免疫系細胞において、IL-17 や TNF $\alpha$  などの炎症性サイトカイン刺激によって転写因子 NF- $\kappa$ B が活性化すると、種々のケモカインや IL-6 などのサイトカインが産生される。

炎症回路とは、ケモカインなどの産生が IL-6-STAT3 経路の活性化を介して相乗的に増強され、NF- $\kappa$ B 信号

のポジティブフィードバック・ループを形成するという機構である（図2）。NF- $\kappa$ B 刺激が主信号として、STAT3 信号は炎症回路を維持するための副信号（燃料）のように機能する。現在までの解析から、炎症回路は種々のケモカインの過剰産生を通じて関節リウマチや多発性硬化症などの自己免疫疾患モデル、また慢性移植片拒絶モデルなど、多くの疾患、病態モデルの形成に関与することが明らかになっている。また様々なヒト炎症性疾患に関与するという遺伝学的な証拠も得られていることから、我々は炎症回路が慢性炎症の根幹をなすメカニズムである可能性が高いと考えている。

現在、炎症回路における NF- $\kappa$ B 過剰活性化の分子機構の解析と、ゲノムワイドスクリーニングによって得られた炎症回路を制御する遺伝子について、創薬に向けた取り組みを製薬会社と共同で行っている。

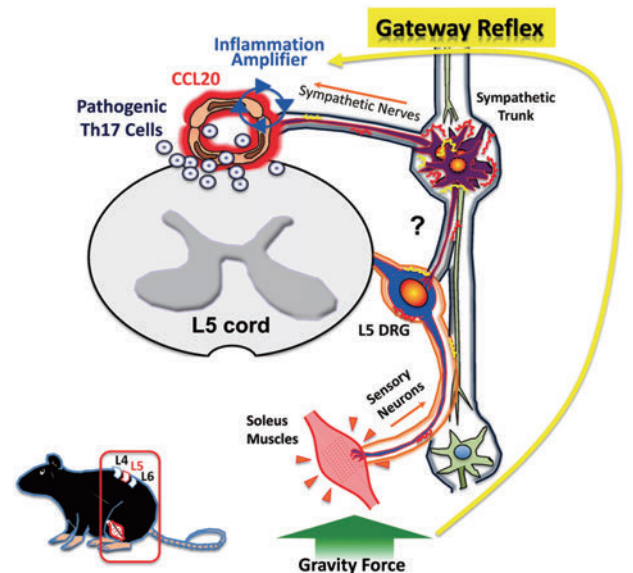


図1. 局所神経活性化による侵入口形成機構

**Fig. 1. Gateway Reflex: Regional neural activation defines a gateway for immune cells, including autoreactive CD4<sup>+</sup> T cells, to enter CNS.**

The Gateway Reflex is induced by an anti-gravity response in soleus muscles that stimulates sympathetic nerves, which in turn stimulates the inflammation amplifier in endothelial cells at the L5 dorsal vessels. The result is an increased expression of various chemokines including CCL20, a chemoattractant for autoreactive CD4<sup>+</sup> T cells, which leads to inflammation via activation of the Inflammation Amplifier (see Subtitle ②).

# Division of Molecular Neuroimmunology

Research Project:

There are two major research projects in our lab: the “Gateway Reflex”, a novel interaction between the neural and immune systems, and the “Inflammation Amplifier”, a chemokine inducer in endothelial cells and fibroblasts that is critical for the development of various helper T cell-mediated diseases.

Professor **Masaaki MURAKAMI, D.V.M., PhD** Assistant Professor **Daisuke KAMIMURA, PhD**  
Research Assistant Professor **Hideki OGURA, PhD** Research Assistant Professor **Yasunobu ARIMA, PhD**

## Outline

Many human diseases are genetically associated with MHC class II alleles, suggesting that helper T cells play important roles in their development. We use various animal models to understand the molecular mechanisms of this development. The lab has been divided into two research groups. The focus of the first group is the “Gateway Reflex”, which describes a novel interaction between the neural and immune systems. Here, regional neural activations create gateways for immune cells to enter the CNS. We hypothesize that the Gate Reflex might provide novel therapeutic targets against inflammatory diseases, particularly in CNS.

The second group is investigating the Inflammation Amplifier, which is a local chemokine inducer in non-immune cells that leads to inflammation. At the molecular level, the inflammation amplifier can be viewed as an enhanced NF- $\kappa$ B activation loop after simultaneous activations of NF- $\kappa$ B and STAT3. The amplifier is genetically associated with various human diseases. Thus, we consider the amplifier a promising target for new drugs against human inflammatory diseases.

## Contents and Results

### (1) Inflammation regulation via the Gateway Reflex

In multiple sclerosis (MS), a CNS autoimmune disease, autoreactive T cells are found localized despite the uniform expression of target antigens in CNS. This fact raises the possibility that there exist specific signals that direct autoreactive T cells to enter CNS. Using a MS mouse model, we defined the inflammation amplifier (see Subtitle ②) as a mechanism of the pathogenesis, in which regional neural stimulations modulate the status of blood vessel endothelium to allow the invasion of autoreactive T cells into CNS via the fifth lumbar cord. This gate for autoreactive T cells can be artificially manipulated by removing gravity force on the hind legs or by electric pulses to muscles of mice, which results in an accumulation of autoreactive T cells in the intended regions. Gating blood vessels by local neural stimulations, a phenomenon we call the Gateway Reflex (or Gateway Theory), has potential therapeutic value not only in preventing autoimmunity, but also in augmenting cancer immunotherapies via artificial neural stimulations. We have also been investigating the gateways of immune cells in other organs and the regulation of neural activation-mediated inflammation using other animal models. The results from these animal models are being compared with patient samples from

collaborating clinical departments.

### (2) Molecular Basis of the Inflammation Amplifier

The inflammation amplifier, a local chemokine inducer, was discovered in autoimmune disease models. Simultaneous activation of NF- $\kappa$ B and STAT3 in non-immune cells causes hyperactivation of NF- $\kappa$ B, which induces the overexpression of its target genes including chemokines and IL-6. This NF- $\kappa$ B positive feedback-loop plays a pivotal role in the induction of inflammation by the local accumulation of various immune cells followed by dysregulation of local homeostasis, and its chronic activation may cause chronic inflammation. Indeed, we have demonstrated that the amplifier is important for the pathogenesis seen in many animal disease models. We are especially focused on the mechanisms responsible for activating the amplifier and have done several genome-wide screenings, which identified over 1,000 positive-regulators of the amplifier. We consider them as promising candidates for novel therapeutic targets of various human diseases.

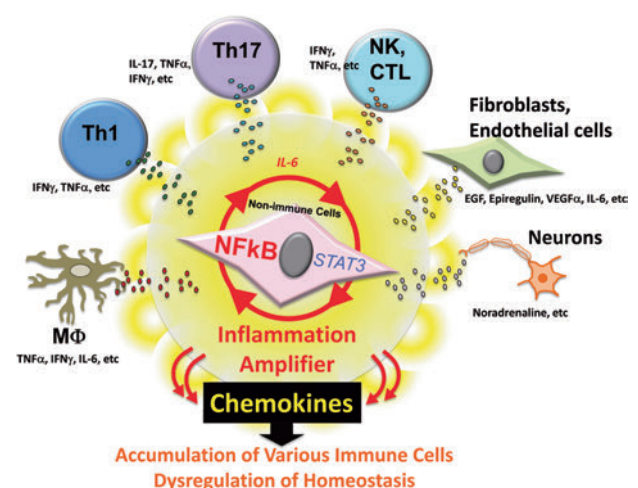


図2. 炎症増幅回路の概念図

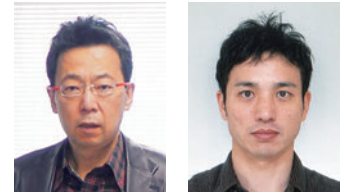
Fig. 2. The inflammation amplifier

The inflammation amplifier is a molecular mechanism where simultaneous activation of NF- $\kappa$ B and STAT3 in non-immune cells, such as endothelial cells and fibroblasts, induces the hyperactivation of NF- $\kappa$ B followed by the hyperexpression of various chemokines and/or IL-6 cytokine. This mechanism contributes to development of various disease models and pathogenesis in patients various diseases.

# 癌生物分野

研究課題

## AKT シグナル伝達系による多彩な細胞反応の制御機構の解明



教授・医学博士  
野口 昌幸

講師・理学博士  
水津 太

### キーワード

癌、細胞死、アポトーシス、AKT

### 研究概要

私たちの研究室では、細胞が営む機能の中で特に細胞死と細胞増殖のバランスが、生体のホメオスタシスを制御するかの仕組みに興味を持っています。そして、その仕組みの破綻がどのようにがんや免疫不全症などの様々なヒトの疾病の原因となっているかについて、特にセリンスレオニンキナーゼである AKT 分子を中心とした細胞内シグナル伝達に注目し、研究を進めています。

AKT シグナル伝達系は様々な成長因子、増殖因子により活性化され、膜リン脂質の働きを介し細胞内の細胞増殖と細胞死を制御する中心的な役割を担っています。私たちはこの AKT を介したシグナル伝達の研究を進め、生体がどのように細胞増殖と細胞死のバランスを制御してホメオスタシスを保っているか、そしてこの制御機構の破綻がどのようにヒト疾病の原因に結びついているかに着目し、未だ原因不明な疾病の発症機序の解明と新たな治療法を開拓することを目標としています。

### 研究内容及び成果

#### (1) プロトオンコジゲン TCL1、TCL1B による AKT 活性化

「AKT 活性化補助因子」であるプロトオンコジゲン TCL1 にはアミノ酸レベルで高い相同性を持つ同属の TCL1B が存在します。しかし TCL1B の生物学的な機能は明らかではありませんでした。また TCL1 と TCL1B はヒト染色体上で極めて近い位置に存在し、ヒト T 細胞リンパ芽球性白血病では TCL1 とともに TCL1B も同時に転座し転写・翻訳が活性化されていましたが、TCL1 と TCL1B の個々の遺伝子の発がんに関する機能的な因果関係は明らかではありませんでした。この TCL1B が AKT 活性化補助因子として機能しているか否か、さらに *in vivo* での発がんなどの病態発現に関与しているか否かを検討した結果、TCL1B は AKT とともに免疫複合体を形成し、AKT を活性化しました。また、DNA アレイを用いた比較解析では、恒常活性化型 AKT ならびに TCL1 によって誘導される遺伝子群は極めて相同性が高い事が

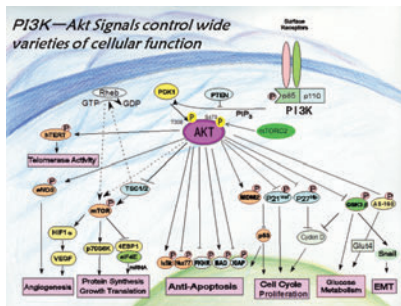


図1. AKT シグナル伝達系による多彩な細胞反応の制御機構  
AKT は様々な標的分子をリン酸化し、アポトーシス、細胞増殖、細胞周期、蛋白合成、血管新生、糖代謝など多彩な細胞反応を制御している。

Fig. 1. Serine threonine kinase Akt controls wide varieties of cellular responses.

Akt is a well-established survival factor exerting anti-apoptotic activity. Akt also plays a multiple roles in regulating intracellular responses in various tissues.

示されました (Hashimoto et al., *Oncogenesis*, 2013)。

この結果により、TCL1B は「AKT 活性化補助因子」として機能しており、ヒトの様々な悪性腫瘍の原因や発がん重要な役割を担っていることが明らかとなりました。また、この TCL1B-AKT 複合体の構造と機能の解析に基づいて、私たちは新規 AKT 阻害剤「TCL1B-Akt-in」を開発しました。この新しい分子標的薬は、様々な悪性腫瘍において細胞死を誘導し、新規抗がん治療への応用が期待される研究成果と考えています。

#### (2) AKT によるオートファジーの制御の仕組みの解明

最近 PI3K-AKT シグナル伝達系が mTOR を介し、オートファジー(自食作用)の制御に関与することが示されています。しかし、PI3K-AKT シグナルを介したオートファジーの制御の標的分子、制御機構の詳細は不明でした。私たちはリソソーム(lysosome)に局在し、AKT に結合する新しい細胞内分子 Phafin2 を同定しました。Phafin2 は Pleckstrin homology (PH) domain ならびに FYVE (Fab1-YotB-Vac1p-EEA1) domain からなる 25 kDa の小さい分子です。私たちはこの Phafin2 が、PI3K-AKT-mTOR シグナルによりオートファジーへの方向性決定の鍵を握る分子として注目して解析を行った結果、オートファジー誘導には Phafin2 とリソソーム膜上にある膜リン脂質 PI(3)P と結合が重要であることや、オートファジー誘導ならびにその機能には AKT ならびに Phafin2 の存在が必須であることを明らかにしました (Matsuda-Lennikov et al., *PLoS ONE*, 2014)。

この一連の研究によって、細胞内 PI3K-AKT-mTOR シグナル伝達によるオートファジー制御の仕組みが明らかになるばかりでなく、Phafin2-AKT 複合体を介したオートファジーを制御することで、発がんに関わるウイルス感染などにおける病態や細胞反応の制御の開発に向けた道標となる可能性があります。

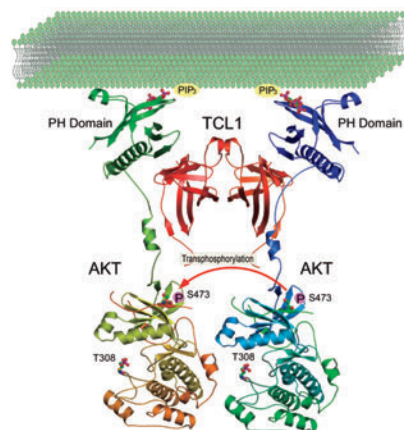


図2. プロトオンコジゲン TCL1 による AKT 活性化の分子機構  
プロトオンコジゲン TCL1 は、AKT の活性化を促進する「AKT 活性化補助因子」であり、ヒトリンパ球芽球性白血病の原因となる。

Fig. 2. Model of TCL1-dependent Akt kinase activation.  
The proto-oncogene *TCL1* functions as a coactivator for Akt. *TCL1* binds to the Akt PH domain and facilitates the formation of Akt/*TCL1* hetero-oligomers at the inner plasma membrane leaflet through interaction of the PH domain of the kinase with PIP3.

## Regulation of the balance between cell death and survival through Akt signal cascade

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

Lecturer **Futoshi SUIZU (PhD)**

### Outline

Our research interest is to clarify how the balance between cell death and survival regulates in vivo homeostasis primarily focusing on PI3K-Akt signaling cascade. Serine threonine kinase Akt, also called Protein Kinase B, regulates diverse cellular processes, including cellular survival, proliferation, cell cycle, cytoskeletal organization, vesicle trafficking, glucose transport, and platelet function. Therefore, deregulation and/or malfunction of Akt underlie a wide variety of human diseases including cancers, glucose intolerance, schizophrenia, viral infections, and autoimmune diseases.

In past several years we have characterized the binding molecules of AKT that functionally modulate its kinase activity and its downstream cellular responses underlies various human neoplastic diseases.

We showed that *TCL1/TCL1B*, implicated in human T cell leukemia, physically interacted with Akt, hence enhanced Akt kinase activity, thus functions as an Akt kinase co-activator. Further, we demonstrated that *TTC3* is a novel E3 ubiquitin ligase for Akt that preferentially binds to phosphorylated Akt, hence facilitating ubiquitination and proteasomal degradation. The observation disclosed a new insight for the molecular mechanisms of Down syndrome, the most common genetic disorder in humans.

Autophagy is an evolutionarily conserved mecha-

nism for the gross disposal of intracellular proteins. Akt activation is suggested to prevent induction of autophagy. However, the precise mechanisms of Akt in the regulation of autophagy unclear. In our recent studies we demonstrated a new connection of Akt with autophagy. We identified lysosomal protein Phafin2 as a new Akt binding partner. We showed that lysosomal co-localization of Akt with Phafin2 is critical in the regulation of autophagy.

These studies together disclosed a new twist of biology of Akt, a core intracellular survival regulator, that spatial control of Akt by its binding partners underlying various human diseases.

### Contents and Result

Protooncogene *TCL1b* functions as an Akt kinase co-activator which exhibits oncogenic potency in vivo.

Protooncogene *TCL1* (T cell leukemia 1), which translocated in human T cell polymphocytic leukemia (T-PLL), interacts with Akt, enhances its kinase activity, and functions as an Akt kinase co-activator. In human T-PLL, both *TCL1* and *TCL1b* genes are activated by juxtaposition onto the T-cell receptor  $\alpha$  or  $\beta$  loci. Therefore, it remains unclear whether *TCL1b* itself, independent of *TCL1*, bears oncogenicity.

We found that, *TCL1b* interacted with Akt and enhanced Akt kinase activity. Bioinformatics approach using DNA Array Analysis demonstrated that *TCL1b* showed highly homologous gene induction pattern as myr-Akt, a constitutive active form of Akt in cluster analysis, KEGG pathway mapping, and Gene ontology. These observations together establish that *TCL1b* functions as an Akt kinase co-activator, and possibly plays an active role in oncogenicity in various human cancer.

### Lysosomal Interaction of Akt with Phafin2: A Critical Step in the Induction of Autophagy

We showed that Phafin2 (EAPF or PLEKHF2), a lysosomal protein with a unique structure of N-terminal PH (pleckstrin homology) domain and C-terminal FYVE (Fab 1, YOTB, Vac 1, and EEA1) domain was found to interact with Akt and function in subsequent induction of autophagy in lysosomal PtdIns (3)P dependent manner. This finding establish that lysosomal accumulation of Akt and Phafin2 is a critical step in the induction of autophagy.

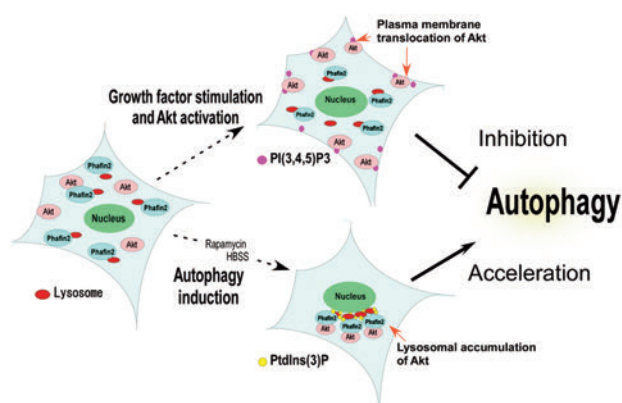


図3. Phafin2-AKT 複合体によるオートファジーの誘導  
セリンスレオニンキナーゼ AKT が、Phafin2 と結合しリソソーム膜の膜リン脂質 PI(3)P 依存的にリソソームに移行することにより、オートファジーの誘導を制御する。

**Fig. 3.** Lysosomal interaction of Akt with Phafin2 is a critical step to induce autophagy.

Akt-Phafin2 functional interaction in lysosome not only clarifies the molecular basis of the PI3K-Akt signaling pathway in the regulation of autophagy, but also shows how 3-MA (3-methyladenine), a widely used autophagy inhibitor, inhibits autophagy in mammalian cells at molecular levels.

# 感染症態分野

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

### キーワード

エイズ、ヒト白血病ウイルス、ワクチン、動物モデル

### 研究概要

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230万人に上る新規感染者の増加は止まっていない。他方、感染を防御するためのワクチン開発は遅々としている。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。

### 研究内容及び成果

#### (1) 低病原性ワクシニアウイルスと HTLV-I 特異的 CTL を併用した ATL の新規治療法の開発

ATL に有効な新規細胞療法・ウイルス療法を開発することを目的として、国立感染症研究所との共同研究で開発した弱毒ワクシニアウイルスである LC16m8Δ (m8Δ) の HTLV-I 腫瘍に対する腫瘍溶解活性をラットモデルで検証した。m8Δ は HTLV-I Tax 特異的 CTL 細胞株 (4O1/C8)、または HTLV-I 感染 T 細胞株 (FPM1) に感染すると、FPM1 細胞のみで複製して感染細胞を溶解できることが判明し、CTL 細胞に損傷を与えずに、HTLV-I 感染細胞を排除できる可能性が示された。さらに、m8Δ の HTLV-I 感染細胞に対する腫瘍溶解活性の特異性を向上させるために、Tax エピトープを提示する MHC-I 単鎖三量体を発現する m8Δ (m8Δ/RT1A1SCTax180L) を構築し、4O1/C8 細胞との併用効果について CTL 耐性 HTLV-I 感染細胞株 (FPM1V.EFGFP/8R 細胞) を用いて検討したところ、4O1/C8 細胞は単独では細胞傷害活性を発揮出来なかったが、m8Δ/RT1A1SCTax180L との併用により細胞傷害を誘導することが確認された。この細胞傷害の程度は、m8Δ 単独の腫瘍溶解活性よりも有意に高かったことから、MHC-I 単鎖三量体を介した CTL の活性化が HTLV-I 感染細胞の傷害を増強したことが示され m8Δ と CTL の併用が腫瘍溶解性 m8Δ の HTLV-I 特異性を高めるとともに、CTL からエスケープする ATL 細胞の排除にも役立つ可能性が示唆された。

#### (2) HIV ワクチン開発

HIV に対する免疫誘起方法としても、m8Δ 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。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 m8Δ を作製すれば対 HIV ワクチンとなりえる。日本 BCG 研究所と京大ウイルス研究所と協力して、猿エイズ (SIV) の遺伝子を発現できるように改変した BCG 東京172型と m8Δ 株を組み合わせ、インド産赤毛猿を免疫した。そして、高病原性 SIV を直腸感染させて、感染防御能を調べたところ、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。ついで、高発現 (pSFJ) と中発現 (p7.5) プロモーターの下で SIV gag 遺伝子を m8Δ に発現させて、BCG との組み合わせで CD8+T 細胞の誘導能をマウスと比較した。その結果、pSFJ の下で発現させた方が効率よくかつ長期間にわたって Gag 特異的 CD8+T 細胞を誘導し維持することが分かった。また、我々は中和抗体と CTL の両方を効率よく誘導する、HIV-1 env を発現する m8Δ プライム/センダイウイルスベクター (SeV) プースト法を開発した。pSFJ と p7.5 を比較検討したところ、抗 Env 抗体は pSFJ が、Env 特異的 CD8+T 細胞は p7.5 の下で発現させた方がより効率的に誘導されることが分かった。最後に、SIV 遺伝子を発現する BCG プライム/m8Δ プースト/Env 発現 SeV 2nd プーストで蟹食い猿を免疫して SIV 感染への防御能を調べたところ、感染防御や SIV の排除の可能性を示す結果を得た。これらの結果を基に HIV ワクチン開発へと進んで行きたいと考えている。

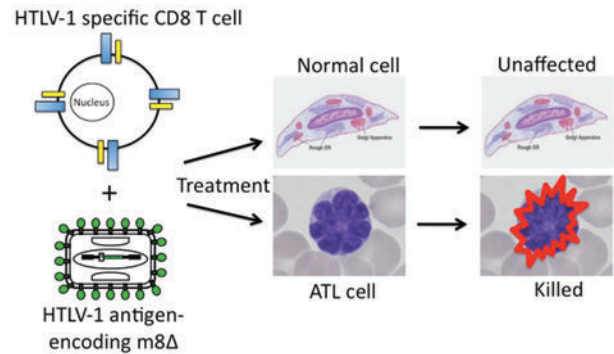


図1. ワクシニアウイルスと HTLV-I 特異的 CTL を併用した ATL の新規治療法

Fig. 1. Anti-ATL therapy using the combination of a vaccinia virus encoding a single chain trimer of MHC-I with a Tax-epitope and Tax-specific CTLs

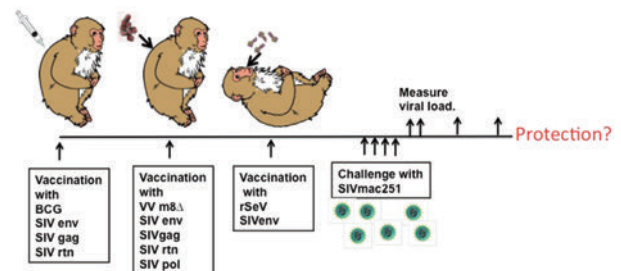


図2. 猿への抗エイズワクチンによるサルエイズウイルス (SIV) 感染防御効果の実験

Fig. 2. Experiments for protection of monkeys from SIV infection by anti SIV vaccines



# Division of Molecular Virology

Research Project:

## Mechanism and prevention of infection of human retroviruses

Professor **Hisatoshi SHIDA PhD**

Associate Professor **Takashi OHASHI PhD**

### Outline

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.

### Contents and Result

(1) Development of a novel anti-HTLV-I therapy using the combination of a vaccinia virus encoding a single chain trimer of MHC-I with a Tax-epitope and Tax-specific CTLs

Adult T-cell leukemia (ATL) is a malignant lymphoproliferative disease caused by Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I). To develop an effective therapy against the disease, we have examined the oncolytic ability of an attenuated vaccinia virus (VV), LC16m8Δ, and an HTLV-I Tax-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) line, 4O1/C8, against an HTLV-I-infected rat T cell line, FPM1. LC16m8Δ developed by ourselves is a genetically stable variant of LC16m8 strain that has been shot to 100,000 people without any serious adverse effects. Our results demonstrated that m8Δ was able to replicate in and lyse tumorigenic FPM1 cells, but was incompetent to injure 4O1/C8 cells, suggesting the preferential cytolytic activity toward tumor cells. To further enhance the cytolysis of HTLV-I-infected cells, we modified m8Δ and obtained m8Δ/RT1AISCTax180L, which can express a single chain trimer (SCT) of rat MHC-I with a Tax-epitope. Combined treatment with m8Δ/RT1AISCTax180L and 4O1/C8 increased the cytolysis of FPM1V.EFGFP/8R cells, a CTL-resistant subclone of FPM1, compared with that using 4O1/C8 and m8Δ presenting an unrelated peptide, suggesting that the activation of 4O1/C8 by m8Δ/RT1AISCTax180L further enhanced the killing of the tumorigenic HTLV-I-infected cells. Our results indicate that combined therapy of oncolytic VVs with SCTs and HTLV-I-specific CTLs may be effective for eradication of HTLV-I-infected cells, which evade from CTL lysis and potentially develop ATL.

(2) Development of anti HIV-1 vaccine

We optimized LC16m8Δ as a vector by comparing immunogenicities of SIV Gag proteins expressed under either the pSFJ1-10, a strong promoter developed by ourselves or the p7.5 promoter, a classical early-late promoter that has moderate but weaker activity than pSFJ1-10. Since we preliminarily observed that too much expression of foreign protein decreased the propagation of VV *in vitro*, balance between expression of the foreign antigen and viral

propagation *in vivo* might be crucial for optimal immunogenicity. Thus, we compared the immunogenicity and virulence of m8Δ/p7.5/SIVGag and m8Δ/pSFJ/SIVGag in the setting of the recombinant Bacillus Calmette-Guerin (BCG) prime/recombinant m8Δ boost vaccination protocol. Vaccination in mice revealed that m8Δ/pSFJ/SIVGag was less pathogenic and elicited Gag-specific IFN-γ<sup>+</sup>, CD107a<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T cells more efficiently than m8Δ/p7.5/SIVGag and maintained them as effector memory T cells even 4 month after boost with m8Δ/pSFJ/SIVGag. Therefore, m8Δ that express SIV Gag under pSFJ1-10 promoter was better than m8Δ harboring p7.5 promoter.

Although it is commonly agreed that elicitation of both anti HIV-1 antibody and cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cells is effective to prevent HIV-1 infection, it is generally hard to elicit a high titer of anti HIV-1 antibody, particularly neutralizing antibody. We examined the effect of m8Δ expressing HIV-1 Env gene on eliciting anti HIV-1 antibody and CD8<sup>+</sup> T cells in the setting recombinant m8Δ prime followed by Sendai virus vector (SeV) boost in mice. Then we found that this vaccination regimen efficiently produced both Env-specific CD8<sup>+</sup> T cells and anti-Env antibodies, including neutralizing antibodies.

Monkeys were immunized with rBCG expressing SIV genes, followed with boost with the SIV gene-expressing m8Δ vaccinia virus, and further boosted with or without env expressing SeV. Eight weeks after the final boost, monkeys were challenged up to 5 times with a low dose of SIVmac251 by the rectal route. SIV-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell responses were elicited and maintained until SIV challenge. Some vaccinated animals had potent multifunctional SIV specific CD8<sup>+</sup> T cells. Plasma viremia was not detected in these animals throughout the follow-up period. Another vaccinated monkey became infected once, but viral load declined to the level under detection limit. All unvaccinated control monkeys were infected as expected. Vaccine-induced SIV-specific T cell responses appear to be effective against SIV challenge. Importantly, our results suggest that a vaccine regimen based on an rBCG prime and vaccinia m8Δ boost (both licensed vaccine platforms with a long track record of safety in humans) should be explored as a safe and valuable means for efficacious HIV/AIDS vaccine development.

# 分子腫瘍分野

研究課題

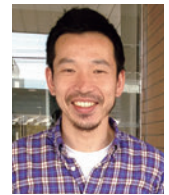
## 癌細胞と正常上皮細胞との相互作用



教授・医学博士  
藤田 恭之



助教・医学博士  
梶田美穂子



助教・生命科学博士  
昆 俊亮

### キーワード

癌、細胞競合、上皮細胞

### 研究概要

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。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。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。

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されれば、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。

### 研究内容及び成果

Filamin は正常上皮細胞が示す抗腫瘍作用の調節因子として機能する

正常上皮細胞と v-*Src* 変異細胞の境界で特異的に機能している分子を探索するため、生化学的スクリーニングを行いました。その結果、アクチン結合タンパク質である filamin と中間径フィラメントである vimentin の同定に成功しました。これらの分子の局在を観察したところ、変異細胞に隣接する正常上皮細胞内において、filamin と vimentin は変異細胞を取り囲むように濃縮していました。また、v-*Src* 変異細胞に隣接する正常細胞から filamin または vimentin をノックダウンすると、変異細胞の apical extrusion が顕著に抑制されることが分かりました。さらに、filamin は vimentin の上流で作用し、vimentin のダイナミックな再編成を調節することにより、vimentin による変異細胞の管腔側への排出を促進していることも明らかにしました。filamin の *Src* 変異細胞への集積や filamin ノックダウンによる *Src* 変異細胞の apical extrusion の抑制は、zebrafish 胚を用いた *in vivo* においても確認でき、filamin による変異細胞への作用は種を越えて保存されていることが示唆されています。これらの結果により、正常上皮細胞は隣接する変異細胞の存在を感知し、変異細胞の apical extrusion を誘導することが明らかとなり、その現象には正常細胞内の filamin が中心的な役割を果たしていることが明らかになりました。この結果は、発がんの初期段階において、変異細胞に隣接する正常上皮細胞には、変異細胞を排除する機構が備わっていることを示唆しており、その核となる分子である filamin の制御機構を明らかにすることによって、初期癌をターゲットとした新たな癌治療、癌検出法の開発に繋げていきたいと考えています。

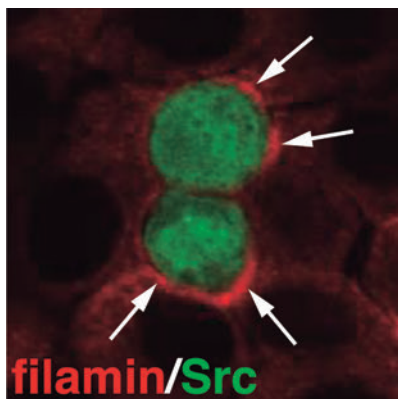


図 1. *Src* 変異細胞に隣接する正常上皮細胞内での filamin 集積 (矢印)

(赤：filamin 染色、緑：*Src* 変異細胞)

Fig. 1. Filamin accumulation in the neighboring normal cells at the interface with *Src*-transformed cells.

# 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 **Shunsuke KON, Ph.D.**

### Outline

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.

### Contents and Result

#### Filamin acts as a key regulator in epithelial defence against transformed cells

Recent studies have shown that certain types of transformed cells are extruded from an epithelial monolayer. However, it is not known whether and how neighbouring normal cells play an active role in this process. We show that filamin A and vimentin accumulate in normal cells specifically at the interface with Src- or RasV12-transformed cells (Fig.1). Knockdown of filamin A or vimentin in normal cells profoundly suppresses apical extrusion of the neighbouring transformed cells. We also show in zebrafish embryos that filamin plays a positive role in the elimination of the transformed cells. Furthermore, the Rho/Rho kinase pathway regulates filamin accumulation, and filamin acts upstream of vimentin in the apical extrusion. This is the first report demonstrating that **normal epithelial cells recognize and actively eliminate neighbouring transformed cells**. We name this process as EDAC (Epithelial Defense Against Cancer). (Fig.2). By further developing this new research field, we would create a novel type of cancer treatment: eradication of transformed cells by enhancing a defensive force of neighbouring normal epithelial cells.

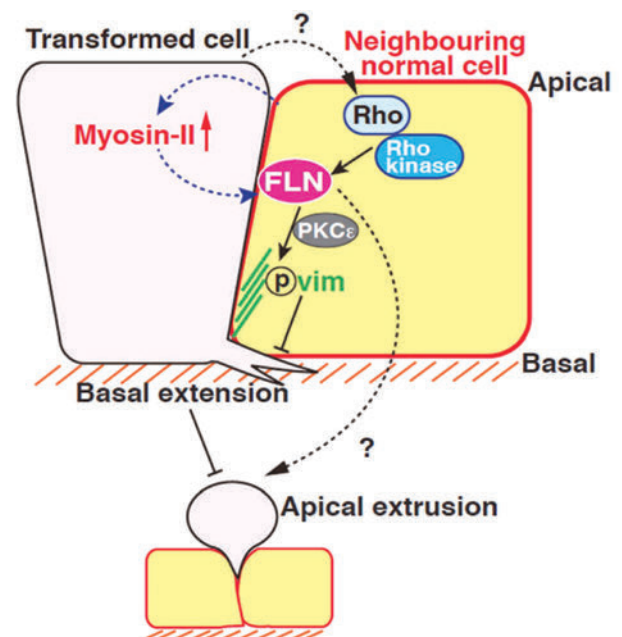


図2. EDACの分子メカニズム  
変異細胞に隣接する正常上皮細胞内では、filaminを介した抗腫瘍作用が誘導される。

Fig. 2. Molecular mechanisms of Epithelial defense against cancer (EDAC).

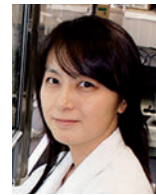
# 免疫生物分野

研究課題

がんと移植・再生に関する基礎医学的研究



教授・医学博士  
清野研一郎



講師・生命科学博士  
和田はるか



助教・医学博士  
バグダーディー・ムハンマド

## キーワード

がん、移植、再生、多能性幹細胞

## 研究概要

当分野では、清野が消化器外科出身ということもあり、病態としてはがん及び臓器移植に関連する事項に関心を寄せている（臨床時代、がん及び移植医療に従事していた）。移植に関しては、近年多能性幹細胞が樹立され、それらを用いた細胞移植医療が期待されている（再生医療と呼ばれることが多い）。そこで、当研究室では「がん」と「移植・再生」に関する基礎医学的研究を行い、新しい原理の発見、新規診断や治療に結びつく基盤的事実を見出すことを目指して日々研究を行っている。中でもがんにも移植にも極めて重要な基礎学問である免疫学に関する研究を中心に据え、がん免疫に有利な免疫機能を増強させる分子に関する研究、iPS細胞を用いた新しいがん免疫治療、がん幹細胞と免疫反応の関連について、免疫寛容の誘導に関する研究、多能性幹細胞を用いたアロ免疫制御法に関する研究などを行っている。また、自己免疫疾患など炎症性疾患の成因にも深い興味を抱いており、疾患特異的iPS細胞を用いた病態解明や炎症制御法の開発についても研究を行っている。

## 研究内容及び成果

### (1) 多能性幹細胞を用いた新しい免疫制御法の開発

近年、ES細胞やiPS細胞といった多能性幹細胞を用いた細胞移植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（拒絶反応）についてはあまり大きな関心は払われていない。我々はこの拒絶反応に対し、多能性幹細胞のポテンシャルを生かした新しい免疫制御法の開発を試みている。これまでに、マウスES細胞からミエロイド系の細胞を分化誘導し、いくつかの生理活性物質の存在下で、アロの免疫反応を強力に抑制する制御性マクロファージの生成に成功した。この細胞をアロの動物に投与し、その後、もとのES細胞由来の細胞を移植

### 他人由来の多能性幹細胞から分化した細胞の移植に伴う免疫抑制

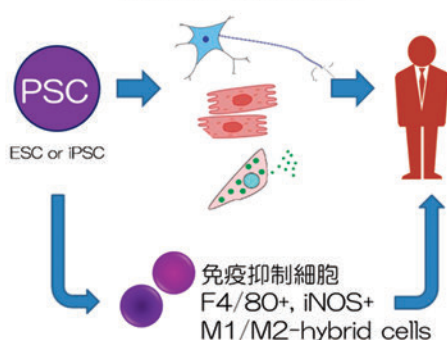


図1. 多能性幹細胞からの制御性マクロファージの誘導とその応用

Fig. 1. Induction of immune regulatory macrophages from pluripotent stem cells and its application

すると有意に生着期間が延長することが観察された。このような研究は、安全な細胞移植医療を確立する上で重要であり、今後前臨床試験を視野に入れ、マーモセットなど霊長類を用いた実験を行っていく予定である。

### (2) がんワクチンを増強させる因子に関する研究

がん細胞株は、それ単体でがん免疫を誘導することはほとんどない。しかし我々は、あるマウスがん細胞株を維持し実験に使用している中、偶然にも当研究室で保有している株は他で報告されているものとは異なり強い抗腫瘍効果を誘導しうるものであることを見出した。そこでこの株（Sapporo株）とATCCから入手できる株（ATCC株）との遺伝子発現を比較すると、いくつかの興味深い遺伝子が特異的にSapporo株に発現していることが判明した。それらの遺伝子のうちいくつかは、ATCC株に導入するとSapporo株同様に抗腫瘍効果をもたらすこともわかった。本研究は、北海道から発信するがん免疫に関するユニークな研究であり、新しいがんワクチンの樹立につながるような成果が得られることを期待している。

### (3) 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。その分子メカニズムとして、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 $\kappa$ 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。近年、bHLHe40という分子を欠損したマウスではNKT細胞のIFN- $\gamma$ 産生が著しく低下していることを見出した。そのメカニズムを解析すると、同分子は転写因子T-betに直接結合しIFN- $\gamma$ の産生調節に寄与していることが初めて明らかとなった。このbHLHe40によるIFN- $\gamma$ 産生調節はTh1細胞では見られず、NKT細胞に特異的な現象であると考えられた。

# Division of Immunobiology

Research Project:

## Basic medical research for cancer and transplantation/regeneration

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

Assistant Professor **Haruka WADA, PhD**

Assistant Professor **Muhammad BAGHDADI, PhD**

### Outline

In this laboratory, we are interested in cancer and transplantation/regeneration, because Prof. Seino used to be a surgeon and involve in those diseases. Regarding transplantation, pluripotent stem cells have been recently established, and it is expected that they are used for the donor source for transplantation (so called regenerative medicine). We pursue basic medical research for cancer and transplantation/regeneration, aiming to discover basic phenomena and principles which may contribute to establish new diagnoses and therapeutics. Particularly, we perform immunological research which is important for both cancer and transplantation. Our main research targets are enhancement of immunity against cancer, new anti-cancer therapy using iPS cells, relationship between cancer stem cells and immunity, immune regulatory strategy using pluripotent stem cells, autoimmune diseases, and disease-specific iPS cells.

### (1) Development for new immune regulatory therapy using pluripotent stem cells

Recently, it has been expected that pluripotent stem cells are used for the donor source for cellular transplantation. On the other hand, little attention has been paid to immunological issues including allogeneic rejection. We have tried to establish a novel immune-regulatory strategy based on the potential of pluripotent stem cells. So far, we have differentiated myeloid cells from mouse ES cells and further induced them to immune-suppressive regulatory macrophages in the presence of several physiological active substances. When these regulatory macrophages were administered to recipient mice which received allogeneic cellular transplants originally derived from the ES cells, significant prolongation of the graft survival was observed. These results open new insights to develop new strategy for safe and effective immune therapy in the allogeneic transplantation using pluripotent stem cells.

### (2) Factors which enhance cancer vaccine effect

It is rare that cancer cell lines themselves induce efficient anti-cancer immunity. However, we have found a cell line, which have been maintained in our laboratory, had a strong potential to induce the immunity. We designated this cell line Sapporo strain, and compared their gene expressions with standard ATCC strain which had been obtained from ATCC. The comparison indicated that the Sapporo strain particularly expressed some interesting genes. It was further indicated that, when some of those genes were

transfected into ATCC strain, similar anti-cancer immunity was induced. This is a unique, interesting study, which may leave behind a significant results such as establishment of a new cancer vaccine.

### (3) A mechanism of cytokine production by NKT cells

NKT cells are a one of immune regulatory cells bridging innate and acquired immunity. We have previously shown that NKT cells change their cytokine profile upon the situation of stimulation (acute or chronic, and so on), in turn affect dendritic cell function, finally regulate the acquired immunity including Th1/Th2 balance. For the molecular mechanisms, we have indicated that, in dendritic cells obtained from animals whose NKT cells had been activated, phosphorylation of ERK-1/2 and upregulation of I $\kappa$ BNS were observed. Furthermore, a chemokine CXCL16 was also important to regulate NKT cell trafficking. We have recently found that bLHLe40 deficient mice showed decreased production of IFN- $\gamma$ NKT cells. As a mechanism, we showed for the first time that bLHLe40 directly bound to T-bet and regulate the IFN- $\gamma$  production. This bLHLe40-mediated regulation of IFN- $\gamma$  production was not observed in Th1 cells, thus suggesting that it is NKT cell-specific mechanism.

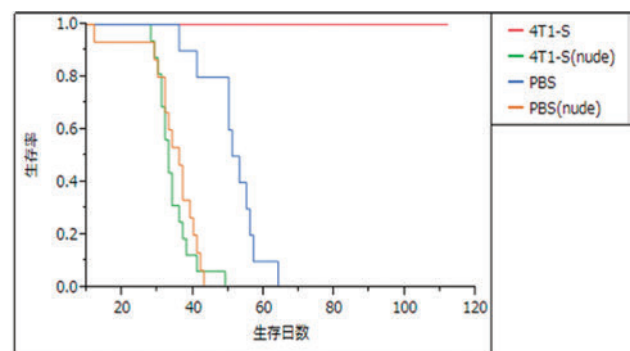


図2. 左: 細胞株を事前投与した後、チャレンジした後の生存曲線  
右: 遺伝子発現比較解析

Fig. 2. Left: The cell lines were administered, challenged with the cancer cells, and the survival was monitored.  
Right: Gene expressions

# 疾患モデル創成分野

研究課題

## 新しい遺伝子改変技術ならびに 疾患モデル動物の開発



### キーワード

遺伝子改変動物、発生工学、胎盤

### 研究概要

本分野では、疾患モデル動物の開発を通じて各種疾患の発症メカニズムを解明し、新たな予防・診断・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で新規の疾患モデルを創成している。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。

### 研究内容及び成果

#### (1) 新しいゲノム改変技術の開発

点変異に由来するヒト遺伝性疾患を反映したモデル動物の作製ならびにその解析は、発症メカニズムの解明や、診断・予防・治療法開発などにおいて極めて有用である。目的の塩基配列変化の影響だけを正確に反映する動物の作製が理想的であるが、既存の遺伝子改変技術の多くは余分なゲノム変化を伴う。PiggyBac トランスポゾンや CRISPR/Cas9 システムを利用し、標的部位のみを特異的に改変する新しい技術の開発を行っている。

#### (2) 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

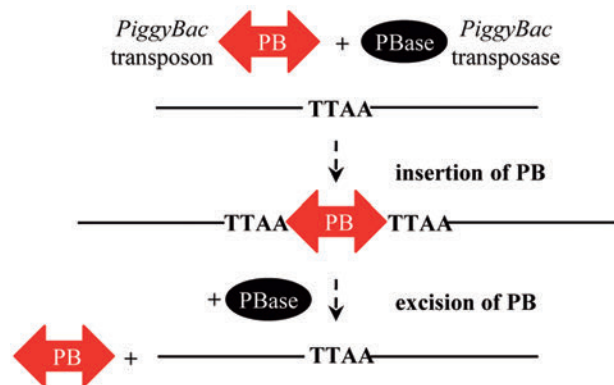


図1. PBは転移酵素の存在下、TTAA配列を認識してゲノム中に挿入される。ゲノム中のPBは転移酵素の働きで再び切り出され、別の部位へ転移する。PBが切り出された後のゲノム配列は完全に元通りになり、痕跡が一切残らない。

Fig. 1. When PB is inserted into the genome, its recognition site, the tetranucleotide TTAA, simultaneously produces a duplicate of itself and PB is inserted between these two identical TTAA's. Only one of these TTAA's is left behind when the PB is removed, and thus the remaining genome is indistinguishable from its pre-PB-insertion sequence.

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。

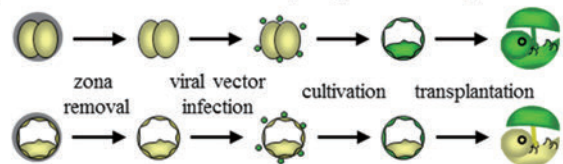
#### (3) 分娩異常マウスの開発と解析

日本では全分娩の約10%が早産または過期産といった「異常分娩」になっており、妊娠の高齢化に伴って近年増加傾向にある。根本的な原因が不明であることから対症薬物療法が施されるのが一般的である。本分野では、独自に探索した胎盤機能関連遺伝子をノックアウトすることで、胎盤肥大と分娩異常を呈する新しいモデルマウスの開発に成功している。このマウスを利用して、未だ不明な点が多く存在する分娩発来機構の解明を目指すとともに、異常分娩の予防・診断・治療法開発に向けた研究を遂行している。

#### a) Construct of the lentiviral vector



#### b) A scheme for the transduction of preimplantation embryos



#### c) Transgene expression before (top) and after (bottom) implantation

Left : untransduced  
Middle : transduced at the 2-cell stage  
Right : transduced at the blastocyst stage

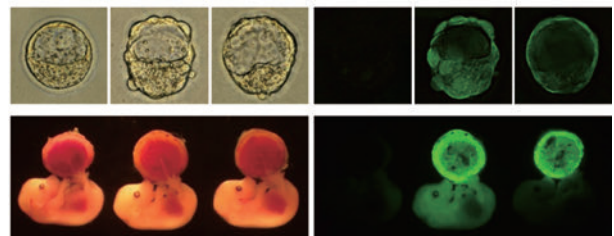


図2. レンチウイルスベクターを2細胞期胚に感染させると胎児と胎盤の両方に遺伝子が導入されるが、胚盤胞期胚に感染させると外側の栄養外胚葉層のみにウイルスが感染し、結果として胎盤特異的に遺伝子が発現する。

Fig. 2. 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 trophectoderm- and placenta-specific gene expression.

# Division of Disease Model Innovation

Research Project:

## Development of novel gene manipulation methods and generation of animal models for various diseases.

Professor **Ken-ichiro SEINO, M.D., Ph.D.**  
Assistant Professor **Yuka MORIOKA, Ph.D.**

### Outline

Research in the division of disease model innovation focuses on development of novel gene manipulation methods and generation of animal models for various diseases. We generate gene-manipulated mice by using a developmental engineering technique. Their phenotype is analyzed in detail and their utility as a novel disease model is evaluated. Our present research projects are:

### Contents and Result

#### (1) Development of novel techniques for genome modification

Point mutation mice are key tool in the creation of human disease models. It is important to generate precise point mutation mice having only the desired mutation. However, the methods currently available leave unwanted extra genome change. By applying *PiggyBac* Transposon or CRISPR/Cas9 system, we are trying to develop novel techniques for site-specific genome modification.

#### (2) Development and application of placenta-specific gene manipulation method

Lentiviral vector transduction of blastocysts after

removal of the zona pellucida results in trophectoderm- and placenta-specific gene incorporation. By applying this technique, we are planning to elucidate the mechanisms of implantation and placental formation that were impossible until now with the currently available methods.

#### (3) Animal models for parturition abnormality

The complete mechanism of parturition of the human remains unclear. Although the fetus and placenta are thought to play critical roles in induction of parturition, no evidence in genetic level has been reported. By disrupting the originally screened gene, we succeeded in generating mice which show the abnormality of placental formation and parturition. These mice are useful for the elucidation of the parturition mechanism and to overcome the abnormal parturition.

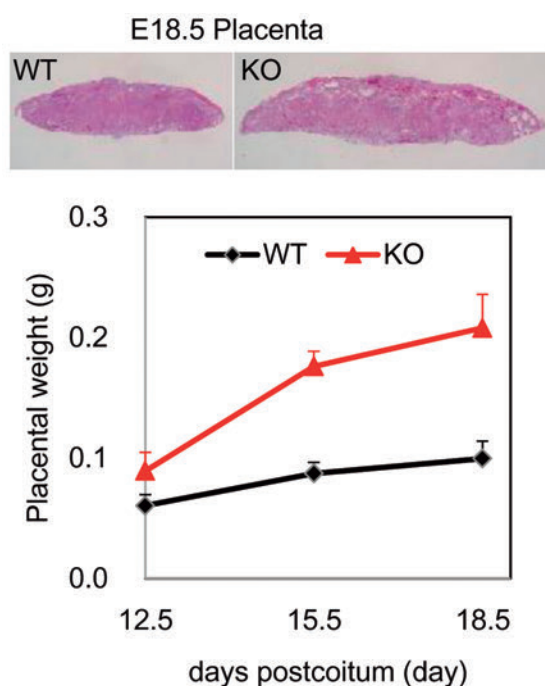


図3. 遺伝子Xを欠損したマウスの胎盤は野生型の約2倍に肥大する。

Fig. 3. Disruption of gene X caused abnormal enlargement of the placenta.

# 免疫機能学分野

研究課題

## 免疫機能の制御メカニズム解明とがん・アレルギー・免疫関連疾患治療への応用



教授(兼)・医学博士 近藤 亨



准教授・博士(地球環境科学) 北村 秀光

### キーワード

樹状細胞、抗原提示、サイトカイン、がん、アレルギー、トランスレーショナルリサーチ

### 研究概要

我々の健康維持にとって重要な免疫系は、通常様々な免疫担当細胞群が互いに協力し合い、外来由来の異物や自己にとって好ましくない細胞を排除している。しかしながら、これらの免疫機能が破綻すると、自己免疫疾患やアレルギー疾患、がんの発生等に至ることが知られている。そこで免疫機能学分野においては、免疫調節の中枢を担う樹状細胞とヘルパーT細胞を基軸とした免疫機能の制御メカニズムを解明して、がん、アレルギー、自己免疫病などの免疫関連疾患に対する新しい免疫療法を開発することを目的として研究を実施している。さらに、これまで得られた基盤的研究成果をもとに、北海道大病院・大学院医学研究科と連携したトランスレーショナルリサーチも展開している。本研究の成果によって、地域社会に密着した新しい医療バイオ研究の発展に貢献することを目標としている。

### 研究内容及び成果

#### (1) 樹状細胞の機能制御機構の解明とがん・アレルギー性疾患治療への応用

樹状細胞は代表的な抗原提示細胞で我々の免疫調節の中枢を担う重要な免疫担当細胞の一つである。本研究室では樹状細胞による抗原特異的ヘルパー・キラーT細胞の活性化を基軸とした免疫機能の制御メカニズム解明を行なうとともに、がんやアレルギーなど免疫関連疾患について、より効果の高い新しい治療法の開発を展開している。本研究に関わるテーマとして、(a)樹状細胞の抗原提示機能の制御による効率的がん特異的T細胞誘導法の開発とそのがん治療への応用；(b)感染やアレルギーなど慢性・炎症性疾患における神経ペプチドシグナルによる樹状細胞の新しい機能制御機構の解明；(c)がん幹細胞を標的とした次世代型がん免疫療法の開発などがある。特にヒトの免疫機能の解明については、大学院医学研究科と連携して臨床検体を用いた解析・評価を行い、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。

#### (2) マイクロRNAを基軸とした免疫体質の解析・評価に関する研究

樹状細胞およびT細胞を介した宿主免疫体質の破綻は、がん、アレルギー、感染症など様々な病気の発症の原因となる。現在、治療効果の高い安心・安全ながん免疫治療の開発には、治療前および治療過程におけるがん患者の免疫状態を評価する免疫モニタリング法の開発や、臨床効果を予見し得るバイオマーカーの探索と同定が望まれている。そこで我々は、がん患者個々の免疫体質を予め判定できる標準化された血清マイクロRNAを基軸としたバイオマーカー・評価法の確立とその免疫調

節機能の作用機序解明を行なう。本研究で得られた情報をデータベース化することで、がん治療前の早期の段階でがん免疫治療による抗腫瘍効果を予見すること、重篤な副作用の発生を未然に防ぐ個別化治療システムの構築を目指す。また本研究成果を活用し、インフルエンザなどの感染症やHPV、HCVなどの感染がんにおけるワクチン治療の効果や副作用の予見とともに、さらに現代日本社会でも大きな問題になっている、食物アレルギー、花粉症、アトピー、アナフィラキシー、喘息などの過剰な免疫・アレルギー応答性に関するリスクの予測に関する研究も行なう。

#### (3) がん・慢性炎症時に産生されるIL-6を介した樹状細胞の機能不全の解明

がんは医学の進歩により生命予後の著しい改善がなされてきたが、依然として日本人の死亡原因の一位である。そこで、現在、既存の標準治療法に加えがん免疫治療の研究開発がなされているが、未だ標準的な治療法までには至っていない。これは、がん患者生体内での免疫状態の低下を要因とする、抗腫瘍免疫の不良が原因の一つと考えられている。IL-6は担がん環境下で産生されるサイトカインの一つであるが、最近、我々はマウス樹状細胞においてIL-6がMHCクラスIIの発現低下を引き起こし、T細胞への抗原提示能が減弱すること、マウス担がんモデルにおいて抗IL-6R抗体の投与による樹状細胞機能の改善効果、および抗腫瘍免疫応答の増強効果を明らかにした。そこで、当分野では、がん治療モデルマウスやヒト末梢血由来樹状細胞を使用し、マウスおよびヒト樹状細胞におけるIL-6-STAT3活性化による機能不全を詳細に解析し、より効果の高いがん・免疫関連疾患治療法の開発に繋ぐ研究を展開する。

#### Regulation of DC function is a promising strategy for activation of antigen-specific T cells in cancer immunotherapy

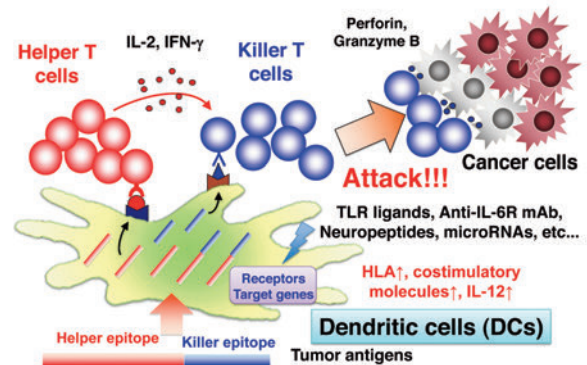


図1. 樹状細胞の機能制御による効果の高いがん免疫治療の開発 TLR・サイトカイン・神経ペプチドシグナルの調節あるいはマイクロRNAを導入することで樹状細胞のがん抗原提示機能を増強する次世代型のがん免疫治療を構築する。さらに大学院医学研究科と連携し、被験者の免疫モニタリングおよび、臨床効果と副作用の発生を予見する新規バイオマーカーの探索と同定も行い、安心・安全で効果の高い免疫治療に繋ぐ研究を展開している。



# Division of Functional Immunology

Research Project:

## Control of immunological function and its application to immunotherapy for cancer, allergy, and autoimmune diseases.

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

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

### Outline

Immune system, composed of various immune cells, is essential to maintain our health. Both Type 1 and Type 2 immunity is tightly controlled because excessive activation may cause a lot of immune diseases such as autoimmune, allergy and tumorigenesis. Therefore, the proper regulation of the 'immunological function' is critical for prevention and therapy of the immune diseases. We have scientifically clarified the precise mechanisms in the occurrence of the diseases using our originally established animal disease models. In this laboratory, pivotal roles of regulation for the immunological function by T cells and dendritic cells have been investigated in order to apply the findings to development of novel immunotherapy for cancer, allergy, and autoimmune diseases. We also aim to contribute to society through our basic and translational studies in collaboration with Hokkaido University Hospital and Graduated School of Medicine.

### Contents and Result

#### (1) Research on function of dendritic cells and its application to immunotherapy for cancer and allergy

Dendritic cells (DCs) are one of the most powerful antigen-presenting cells to activate T cell-mediated immune responses. One goal of our research is to develop a novel immunotherapy through functional control of antigen-specific helper T and killer T cells in addition to DCs. The related research subjects are as follows; (a) Induction of tumor-specific T cells by regulation of DC function and its application to tumor immunotherapy; (b) Regulation mechanism of DC function by neuropeptide signaling in chronic inflammation including infection and allergy; (c) Development of novel immunotherapy targeting cancer initiating cells. In addition, we conduct immune monitoring for patients and try to identify useful biomarker to establish novel cancer immunotherapy in collaboration with Hokkaido University Hospital and Graduated School of Medicine.

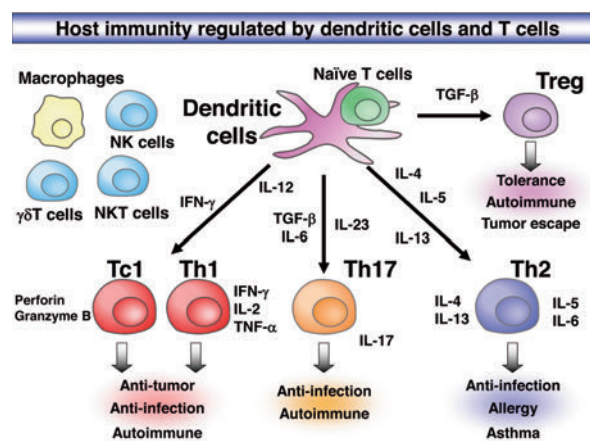
#### (2) Research on analytical characterization of immune status based on microRNA

Imbalance of T cell- and dendritic cell-mediated immune status becomes the cause of various immune diseases. Nowadays, it is essential to identify accurate biomarkers to evaluate immune status of individual cancer patients. Recent studies have indicated that microRNA, short non-coding RNAs, can become a promising biomarker for prediction of malignancy or life expectancy of cancer patients. Therefore, we

investigated the usefulness of serum microRNA as a novel biomarker for precise evaluation of immune status in cancer immunotherapy. These findings also suggest that microRNA will become a useful biomarker for prediction and evaluation of immune responses in various diseases such as allergy, atopy, infection in addition to the personalized cancer immunotherapy.

#### (3) Research on the effect of IL-6/STAT3-signaling on dysfunction of antigen presentation by dendritic cells

Immunosuppression in tumor microenvironments is one of the critical issues for cancer immunotherapy. To create more effective treatment, it is essential to overcome the dysfunction of immunity in cancer patients. We have demonstrated that IL-6, a pleiotropic cytokine, significantly inhibited maturation of murine dendritic cells (DCs) via STAT3 activation both in vitro and in vivo. In this study, we investigate the effects of IL-6 produced under tumor microenvironments or chronic inflammation on antigen-presenting ability of DCs. These findings suggest that IL-6/STAT3 signaling causes dysfunction of DCs, which will be a promising target for improving the effects of cancer immunotherapy.



**Fig. 2.** Elucidation of mechanism of immunological function and its application to immunotherapy

Through antigen presentation by dendritic cells, naïve CD4<sup>+</sup> T cells can differentiate into functionally distinct two subtypes, Th1 cells and Th2 cells, which eliminate the antigen from our body. However, the excessive activation of Th1- or Th2-type immunity may cause various immune diseases including inflammatory autoimmune diseases, allergy, and tumorigenesis. Treg and Th17 are induced by immune suppressive cytokines, TGF- $\beta$  or IL-6, which are closely related with various autoimmune diseases such as colitis. The control of the immunological function is essential for the development of effective therapy in cancer, allergy, and various immune diseases.

# 分子間情報分野

研究課題

## 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

### キーワード

生体膜、脂質非対称性、脂質輸送体

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。

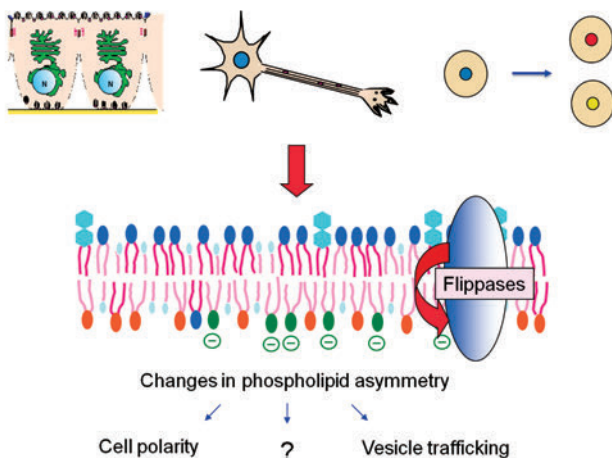


図1. 生体膜リン脂質の非対称性とその機能

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.

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.

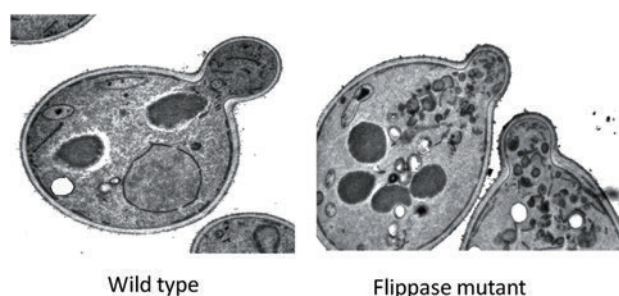


図2. フリッパー変異細胞で見られる異常な膜構造(電子顕微鏡像)

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.

# 動物機能医科学研究室

研究課題

## 真社会性齧歯類ハダカデバネズミの老化耐性・がん化耐性の分子メカニズムの解明



講師・医学博士  
三浦 恭子



助教・理学博士  
河村 佳見

### キーワード

ハダカデバネズミ、癌、老化

の観点から、デバの老化耐性・がん化耐性機構・因子の同定に迫るべく研究を進めている（図2）。

### 研究概要

ハダカデバネズミは異例の長寿命齧歯類（体重約35g、平均生存期間28年）であり、生存期間の8割の期間は、老化の兆候（活動量・繁殖能力・心臓拡張機能・血管機能の低下等）を示さず、加齢に伴う死亡率の上昇も認められないことが報告されている。さらに、今まで自然発生腫瘍が確認されたことが無いという特徴を持つ。我々の研究室はこの老化・がん化に対し耐性を持つ齧歯類、ハダカデバネズミを新たなモデル動物として起用し、その耐性メカニズムについて、分子生物学・細胞生物学・発生工学的アプローチを用いて解析を進めている。ハダカデバネズミの老化・がん化抑制機構を解明し他動物種でも再現できれば、将来的に新規の観点から老化・がん化の予防/治療方法の開発につながると考えられる。

### 研究内容及び成果

#### ハダカデバネズミ研究基盤の確立

ハダカデバネズミ(Naked mole-rat, NMR) (図1 A)は「アフリカの角」と呼ばれる領域(エチオピア・ケニア・ソマリア)のサバンナ地中にトンネル状の巣を形成して集団で生息する齧歯類である。哺乳類では極めて珍しい昆虫のアリやハチに類似した「真社会性」とよばれる分業制のカースト社会を持つ(図1 B)。ひとつの群れの中では、1匹の女王ネズミと1-数匹の王ネズミのみが繁殖を行い、他の非繁殖個体は、それぞれ兵隊ネズミ(巣の防衛)や働きネズミ(穴掘り、食料の調達、仔の世話)として協調して集団生活を行う。驚くべきことにNMRはマウスと同等の大きさながら平均寿命が約30年という異例の長寿命齧歯類である。生存期間の8割の期間は、老化の兆候(活動量・繁殖能力・心臓拡張機能の低下等)を示さず、加齢に伴う死亡率の上昇も認められない。さらに、自然発生腫瘍が確認されたことが無い( $N=800$ )という特徴を有している。我々はこれまでに、NMRを抗老化・抗がん化機構解析のための新規モデル動物として起用し、新規に飼育室の設立・飼育法の確立・細胞株の樹立・遺伝子配列情報など基礎的な研究情報の取得を行い、研究基盤整備を完了させてきた。具体的には、アクリルケージをパイプで連結したNMR飼育装置の作製(図1 C)、温度30度、湿度60%を保つHEPAフィルター付の飼育設備を構築した。また、*in vitro* 実験に用いるためのNMR線維芽細胞やiPS細胞等の樹立に成功し、慶應義塾大学理工学部/いわて東北メディカル・メガバンクとの共同研究で、トランスクリプトームおよび独自のNMRゲノムブラウザーなどの遺伝子情報基盤を整備した。また、MRIを用いた3D NMR脳アトラスの整備を完了した(Seki, Miura et al., *Frontiers in Neuroanatomy*, 2013)。これらの前段階的研究を踏まえ、我々はがん抑制遺伝子・代謝・細胞老化・NMR種特異的発現遺伝子群 DeBAT (DEBA-associated transcript)

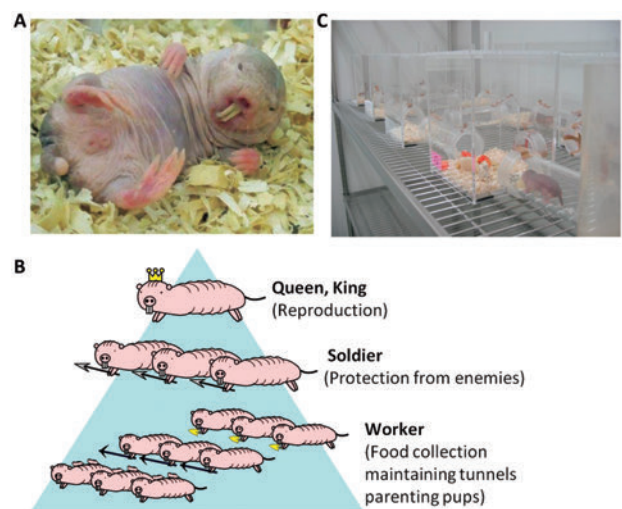


図1. ハダカデバネズミ研究基盤の構築  
(A) ハダカデバネズミ。体長8-11cm。マウスとほぼ同じ大きさながら平均寿命28年と非常に長寿。(B) NMRのカースト社会(C) NMRケージ。

**Fig. 1.** Establishment of research infrastructure of NMR  
(A) Naked mole-rat. Body size 8-11 cm. NMRs are the longest living rodent with a maximum lifespan exceeding 30 years.  
(B) Eusociality of NMRs. (C) Cages of NMRs.

# Biomedical Animal Research Laboratory

Research Project:

## Identification of the biological mechanisms underlying senescence- and cancer-resistance in naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*)

Lecturer **Kyoko MIURA, PhD**

Assistant Professor **Yoshimi KAWAMURA, PhD**

### Outline

The naked mole-rats (NMRs) are small fossorial rodents without hair (approximately 30-60g, Fig 1A). NMRs are the longest living rodent with a maximum lifespan exceeding 30 years. In addition to its longevity, NMRs have an extraordinary resistance to cancer as tumors have never been observed. Now we are studying about the anti-cancer and anti-senescence mechanisms in NMRs with the approaches of molecular biology, cell biology and developmental engineering. Ultimately, we will create “senescence- and cancer-resistant” transgenic mice by introducing selected naked mole-rat genes. Our study would contribute to the development of the novel preventive medicine of cancer and senescence in the future.

### Contents and Result

#### Establishment of the basic infrastructure for the biological analyses of NMR

Naked mole-rats (NMR) (Fig. 1A) are wild rodent naturally found in subterranean burrows in the savanna regions of the horn of Africa (Ethiopia, Kenya and Somalia). NMR is one of only two eusocial mammals like ant or bee (Fig. 1B), exhibiting division of labor such as a single breeding ‘queen’, one-to-some ‘king’ and many sterile subordinates (‘soldiers’ and ‘workers’). Surprisingly, NMR’s maximum lifespan exceeds 30 years although their body size is same of mouse. Moreover, these animals have never been observed any spontaneous tumor formation ( $N = 800$ ), indicating the existence of the species-specific cancer- and senescence-resistant mechanisms. Recently, we have established the facility and the methods for breeding of NMRs (Fig. 1C). We have also generated several cell lines including fibroblasts, immortal cell lines and iPS cells for *in vitro* analyses. We have also collected the gene expression data sets of several NMR organs and constructed genome and gene expression browser of NMR using next-generation sequencing technologies (cooperation with Iwate Tohoku Medical Megabank Organization, unpublished data). Furthermore, 3D brain atlas of NMR has been constructed using high resolution MRI (Seki, Miura et al., *Frontiers in Neuroanatomy*, 2013). Based on these results, now we are trying to identify NMR-specific anti-cancer and anti-senescence mechanisms by cell biological approaches and species-comparison of genes expressions using next-generation DNA sequencing technologies (Fig. 2).



図2 . NMR 研究の概念図

Fig. 2. Outline of NMR studies.

# 血管生物学研究室

研究課題

## 腫瘍血管内皮細胞の異常性とその機序の解明 ～新規血管新生阻害療法開発を目指して～



特任准教授・博士（歯学） 樋田 京子  
特任助教・博士（歯学） 間石 奈湖

### キーワード

癌、血管、がん微小環境、腫瘍血管内皮、血管新生阻害療法、血管再生

### 研究概要

血管は全身に広く分布し、様々な疾患の発症や進行に多彩な役割を果たしています。がんなど虚血に陥った組織においては低酸素や血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor：VEGF）などにより血管が誘導されます。血管新生はがんの浸潤転移に重要であるため、これを標的としがんを兵糧攻めにしようという治療法が1971年、はじめて提唱されました。この治療法の根底にあったのは「血管内皮は正常細胞なので、薬剤抵抗性を獲得しにくい。したがって治療標的として適している。」という概念でした。2004年初めて血管新生阻害剤 Bevacizumab の認可以来多くのがん治療に使われています。しかし、正常血管内皮にとって重要な VEGF シグナルが遮断されると高血圧や血栓症、消化管穿孔といった副作用がおこることがあります。当初は、腫瘍組織内の血管が正常血管と異なるとは考えられておらず、その生物像は未知のままでした。一方、腫瘍血管は、形態学的には正常血管とは異なることが知られていました。そこで、私たちは世界に先駆けて腫瘍血管内皮細胞（Tumor endothelial cell：TEC）の分離培養を行い、「全身の血管内皮はすべて同じ」という当時の概念に反し、様々な特異性、特に TEC に染色体異常・セントロソームの数異常があることを初めて示しました（Fig.1）。これらの成果はがん間質にも染色体不安定性がおこりうることを示唆する結果として、その後、多くの論文に引用され注目を集めています。私たちはこれまで、TEC の異常性について研究を行い、多くの知見を得てきました。TEC の特性や標的分子を同定することができれば、正常血管を傷害することなくがんの血管のみを攻撃する新しい血管新生阻害剤を開発することができると考えています。

現在、具体的には以下のプロジェクトを中心に研究を進めています。

### 研究内容及び成果

#### (1) 腫瘍血管内皮を標的とした新規がん治療法開発を目指した研究

これまで私たちは腫瘍血管内皮細胞（TEC）が正常血管内皮細胞（NEC）と比較し血管新生能の亢進、特異遺伝子の発現（TEC マーカー）など様々な点で異なることを報告してきました。これらの分子はヒトの色々な癌種の血管においても発現が亢進しており、新しい血管新生阻害療法の標的として有望です。また、TEC マーカーのうち分泌タンパクは診断薬としても応用可能であり、こうした診断・治療薬あわせて腫瘍血管に特異的な新しい治療法の開発につなげたいと考えています。さらに薬学研究院・原島秀吉先生と共同でドラッグデリバリーシステムによる血管新生阻害剤の実用化を目指した研究も進めています。最近、TEC の中にはトランスポーターp-

glycoprotein (P-gp) の発現が高く、幹細胞性を持ち、薬剤耐性を獲得しているものが存在していることを見出しました。既存薬を用いた P-gp 阻害が腫瘍血管の薬剤耐性をキャンセルできることを示し、現在、TEC を用いて既存薬や化合物の中から新しい血管新生阻害剤候補を探すことも試みています。

#### (2) がん微小環境において腫瘍血管内皮が異常性を獲得するメカニズム

TEC 異常性のメカニズムとして、現在(1) がん細胞の血管内皮への脱分化、異分化、がん細胞との細胞融合、(2) がん微小環境内因子（低酸素、サイトカインなど）によるものなどが考えられています。(1)に関してはすでにいくつかの報告がありますが、未だ不明な点が多い状況です。(2)に関して私たちは異常性を示す TEC の中にはがん細胞起源ではないものがあることを見出しています（Fig.2）。がん細胞由来サイトカインにより血管内皮の薬剤耐性が誘導されること、がん細胞由来エクソソームが TEC の高い血管新生能に関与していること、低酸素が ROS を誘導し TEC の染色体異常の原因になりうることを示してきました。また、がんの転移能の違いによって TEC の性質にも違いがあることを初めて明らかにし、がん微小環境の違いが血管に多様性をもたらしめている可能性を示しました。腫瘍血管の多様性を探り、TEC 異常性獲得のメカニズムを明らかにすることにより、適切な時期・薬剤の選択を考慮した新しい個別化血管新生阻害療法の実現を目指しています。

#### (3) がん幹細胞、がんの浸潤転移における腫瘍血管内皮細胞の機能解析

がんの性質は、がん細胞の異常のみではなく、がん細胞のおかれた微小環境や間質細胞との相互作用の影響によっても制御されています。現在、がんの浸潤や転移における TEC の役割やがん幹細胞のニッチ形成の背景にある TEC の分子基盤を明らかにすることを目標にした研究を行っています。腫瘍血管を制御することによりがんの転移やがん幹細胞の撲滅を図ることが目標です。

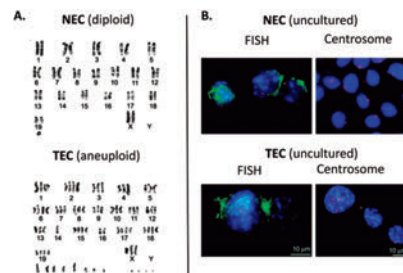


図1. 腫瘍血管内皮には染色体異常がある。A. 培養血管内皮の核型。B. 分離直後の腫瘍血管内皮における aneuploidy (FISH による) とセントロソームの数異常。

Fig. 1. Tumor endothelial cells are cytogenetically abnormal. A. Karyotype in cultured endothelial cells. B. FISH analysis showed ploidy in uncultured endothelial cells and abnormal centrosome number.

## Abnormalities of tumor endothelial cells and elucidation of the mechanism—Aiming development of new antiangiogenic therapy—

Associate Professor **Kyoko HIDA** DDSc, PhD  
Assistant Professor **Nako MAISHI** DDSc, PhD

### Outline

Anti-angiogenic therapy is a new therapeutic method for cancer that attempts to starve the cancer by targeting the blood vessels that nourish it. It was first proposed in 1971 by Dr. Judah Folkman. Since it was believed that tumor endothelium was made of normal cells and was genetically stable, it would be suitable as a target for therapy because it would not develop drug resistance the way cancer cells did. Bevacizumab, the best-known of the angiogenesis inhibitors developed from this concept, is a neutralizing antibody of the human vascular endothelial cell growth factor (VEGF), resulting in improved prognoses for numerous cancer patients. However, several problems have been identified with these therapeutic methods. One type of such problems is the reported side-effects of high blood pressure, thrombosis, and gastrointestinal perforations. It is thought that these side-effects are caused by damage to normal blood vessels since VEGF signals are necessary for normal endothelial cell survival.

### Contents and Result

Tumor blood vessels differ morphologically and phenotypically from their normal counterparts.

We have isolated and cultured tumor endothelial cells (TECs) and reported that they differ from normal endothelial cells (NECs) in many characteristics such as gene profile. In addition, we found that some TECs may be genetically abnormal and might acquire drug resistance, unlike the traditionally held view. We have learned a lot from our studies of tumor endothelial cell abnormalities. Our current research activities are focused on the following projects:

#### (1) Research intended to develop specific inhibitors against tumor endothelial cells

We have reported how TECs involve differences in gene expression. We intend to develop novel drugs targeting tumor blood vessels specifically, and have

identified several molecules (TEC markers), which are upregulated in tumor endothelial cells. Among TEC markers, secreted protein also can be used as diagnostic agents, and currently we are analyzing their usefulness using blood from cancer patients. We are taking part in joint research aimed at practical application of nucleic acid medicine, using the drug-delivery system (DDS) developed by Prof. Harashima of the Graduate School of Pharmaceutical Sciences. We also identified the fact that TECs express higher level of transporters and develop drug resistance. Since the inhibition of this transporter by existing drug abrogated TEC resistance, we are also trying to find the new candidates for novel antiangiogenic inhibitor among existing drugs or small compounds.

#### (2) Mechanism of abnormality in tumor endothelial cells

Current thinking holds that the mechanisms of abnormality in TECs include (1) dedifferentiation of the tumor cell to the endothelial cells, and cell fusion with the tumor cell, and (2) abnormality developing through factors intrinsic to the microenvironment of cancer (e.g., hypoxia and cytokines) (Fig.2). While several findings have been reported concerning the first of these, many points still remain unclear. We are studying the second mechanism. Already we have reported our findings that drug resistance in TECs induced by tumor-derived factors and that tumor-exosomes cause proangiogenic phenotype in TECs. We also have suggested that hypoxia induce ROS in endothelial cells and serve as a cause of chromosomal abnormalities in TECs. Our future goal is to achieve personalized antiangiogenic treatment through ascertaining the degree and status of angiogenesis and selecting drugs and patients accordingly.

#### (3) The roles of tumor endothelial cells in tumor invasion, metastasis, and cancer stem cell niche.

Today, the nature of a cancer is thought to be determined not by abnormalities in the tumor cells alone but also by the microenvironment. We are studying tumor microenvironment analyzing the mechanism by which abnormality develops in TECs. In particular, we have shown that the nature of TECs varies with differences in the degree of malignancy of a cancer and identified the possibility that differences in tumor microenvironment could cause heterogeneity in TECs (Fig. 3). We are now investigating the roles of TECs in tumor invasion and metastasis, and niche of cancer stem cells to develop the strategy for inhibiting tumor progression via regulating tumor angiogenesis.

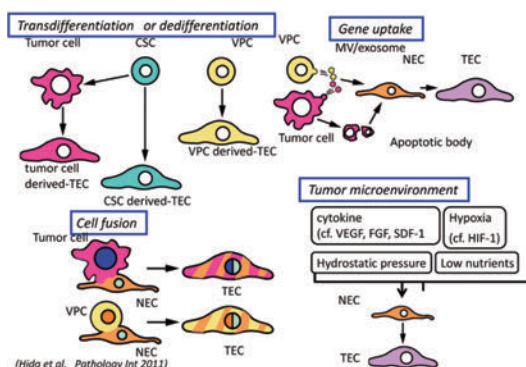


図2. 腫瘍血管内皮異常性のメカニズム

Fig. 2. Possible mechanisms of abnormality in TECs.

# 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(兼任) 教授・医学博士  
清野研一郎



(兼任) 助教・薬学博士  
森岡 裕香

## キーワード

遺伝子操作動物、疾患モデル動物、発生工学

## 研究概要

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に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、「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規程」に従い、北海道大学動物実験委員会による指導の下、科学的および動物福祉の観点からも適正に行われている。現在は、マウスとラットの近交系動物や遺伝子操作動物（トランスジェニック動物、ノックアウト動物）を用いる実験、および「国立大学法人北海道大学病原体等安全管理規程」に定めるBSL3およびABSL3までの病原体を用いた感染実験等が行われている。施設内には一般的な動物飼育室の他、P3感染実験室、遺伝子操作マウス作製用実験室、検査室

などが整備され、全館に空調設備が完備されている。さらに、北海道大学オープンファシリティに登録されている装置として、非侵襲高感度発光・蛍光生体内イメージングシステムならびに小動物用X線CT装置、X線照射装置を保有している。



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クラス感染実験施設

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

Assistant Professor **Yuka MORIOKA, Ph.D.**

### Outline

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 gene-manipulated 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 (Centers for Disease Control and Prevention) in the USA.

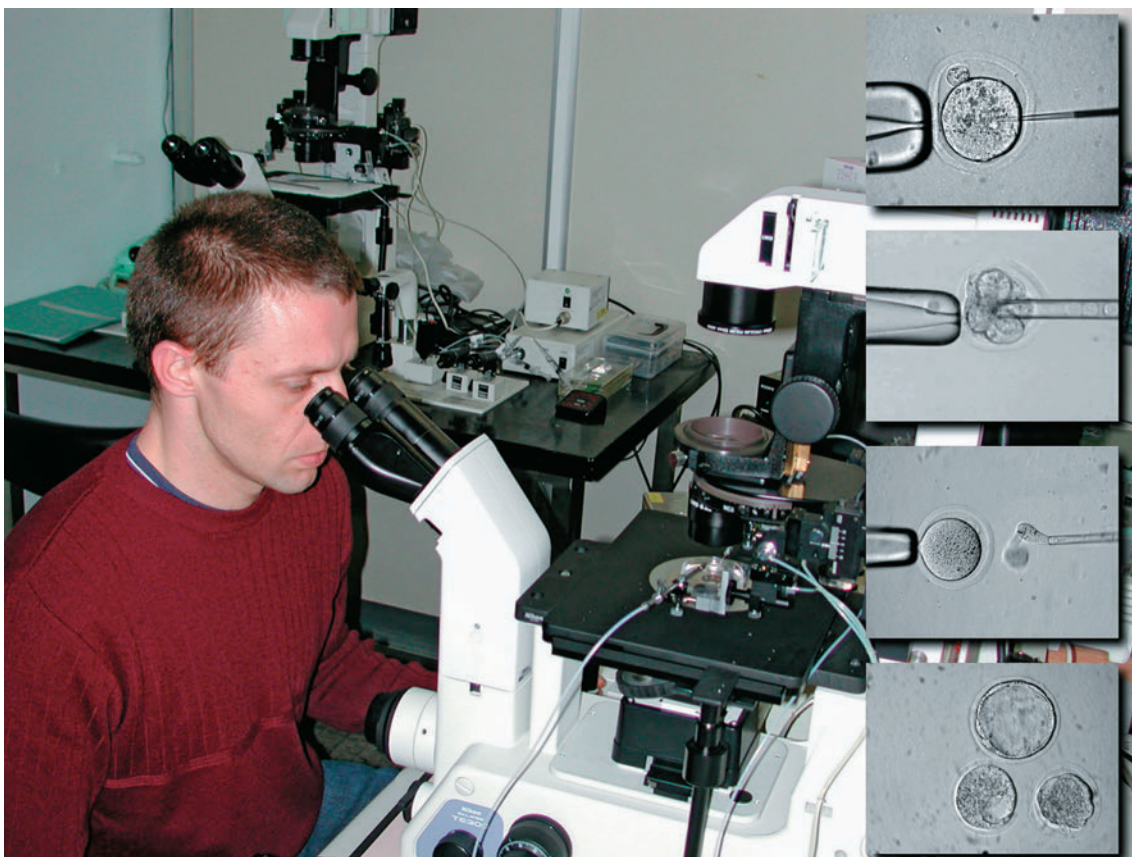


図2. 遺伝子組換えマウスを作製するための胚操作

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



センター長(兼)教授・医学博士 近藤 亨  
准教授・医学博士 地主 将久

### キーワード

腫瘍微小環境、免疫抑制、免疫治療法

### 研究概要

がん悪性進展や、抗癌剤や免疫療法など種々の抗がん剤への治療応答抑制を規定する因子として、腫瘍微小環境固有の性質に基づく免疫細胞機能の機能転換、応答性変化が重要な役割を果たす可能性が近年提唱され、腫瘍免疫、がん研究の大きなトピックスとなっている。しかしながら、その具体的な分子経路や責任分子詳細の大部分は未知であり、よって新たな診断・治療戦略の構築につながる成果の創出に至っていないのが実情である。本研究では、腫瘍内免疫応答を負に制御するとともに、免疫細胞の発癌活性の獲得に貢献する宿主側、腫瘍側因子の同定や、腫瘍内免疫細胞による抗腫瘍免疫応答制御の分子機構の同定をメインテーマとする。

### 研究内容及び成果

#### (1) 腫瘍内樹状細胞を介した自然免疫抑制メカニズムの解明

がん組織内より高産生される HMGB1 が、腫瘍内樹状細胞に高発現する TIM-3 と結合することで自然免疫リガンドである核酸の活性部位であるエンドソームへの取り込みを阻害することにより、自然免疫応答を抑制に貢献すること、さらに樹状細胞 TIM-3 は、I 型インターフェロンや NK 細胞活性抑制を介して免疫療法や抗癌剤への治療応答性を負に制御するという新たな分子機構を見出した。

#### (2) 腫瘍内マクロファージを介した抗原提示応答抑制メカニズムの解明

がん炎症シグナルで腫瘍内マクロファージ上に特異的に誘導される分子 TIM-4 は、アポトーシス腫瘍細胞の貪食とりこみに続き、オートファジーによる腫瘍抗原処理、

提示を負に制御することを見出した。さらに、マクロファージ TIM-4 は、オートファジー活性を介して抗がん剤による抗腫瘍応答の抑制に寄与するという新たな分子機構を同定した。

#### (3) 癌幹細胞とマクロファージ相互作用による新たな抗がん剤耐性機構の解明

癌幹細胞に特異性の高い腫瘍微小環境修飾メカニズムの一端を明らかにした。具体的には、抗がん剤耐性株から分離された癌幹細胞は、抗がん剤感受性癌幹細胞と比べて、高い IRF5 発現と、IRF5 依存性の M-CSF 産生能を有することを明らかとした。癌幹細胞による IRF5-M-CSF 経路は、腫瘍内への M2 マクロファージ浸潤、活性を促進することで腫瘍内での癌幹細胞形質誘導を促進し、発がん活性や抗がん剤耐性の促進に大きく貢献することを明らかにした。

TIM-4を介したオートファジー活性は抗原提示・特異的免疫応答を抑制する

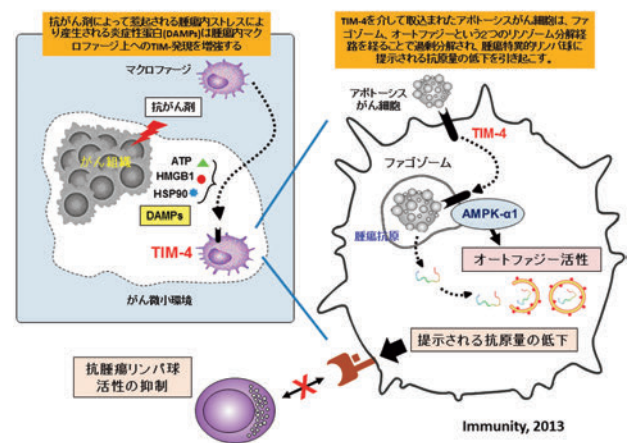


図 2.  
Fig. 2.

TIM-3とHMGB1相互作用を介した自然免疫制御メカニズム

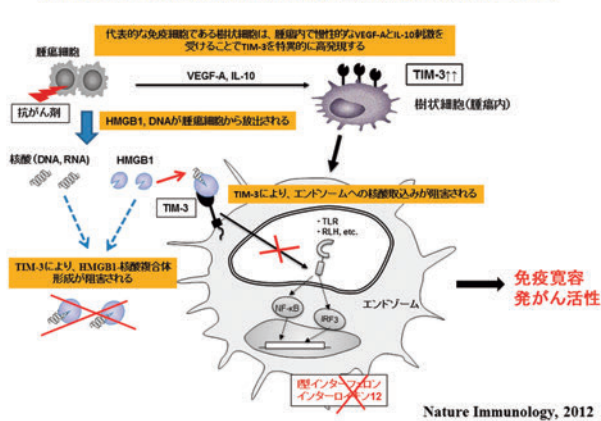


図 1.  
Fig. 1.

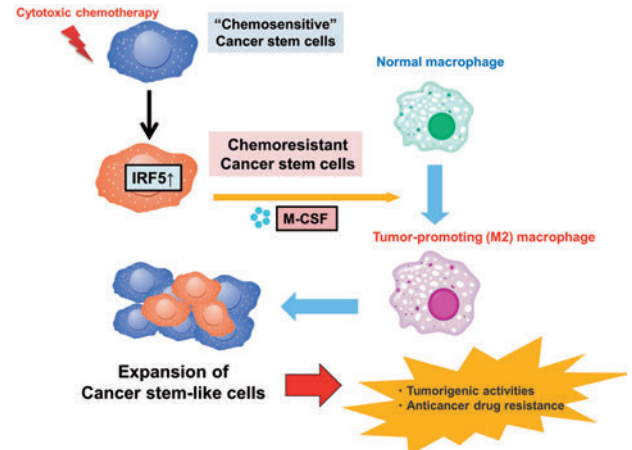


図 3.  
Fig. 3.

## Molecular mechanisms of tumor-associated myeloid cell-mediated tumorigenic activities

Professor **Toru KONDO, M.D., PhD**

Associate Professor **Masahisa JINUSHI, M.D., PhD**

### Outline

Emerging evidence has unveiled a critical role for tumor microenvironments and tumor-associated immune cells in the regulation of tumor prognosis and clinical responses to anticancer therapeutics. However, it remains to be determined the molecules and their associated pathways which are critical to control tumorigenic activities of tumor-associated immune cells. Thus, we are focusing to examine molecular machineries whereby each anticancer strategy has a distinct or overlapping role in regulating the dynamics of reciprocal communication between tumor and immune cells in tumor microenvironments.

### Contents and Result

(1) New mechanisms that tumor-associated dendritic cells regulate innate immune responses (Chiba S et al, *Nature Immunology*, 13: 832-842, 2012)

The molecular machineries by which tumor microenvironments modulate innate immunity remain unknown. We identified TIM-3 as a key factor in repressing antitumor innate immune responses. TIM-3 is highly detected on tumor-associated dendritic cells, and dendritic cell-derived TIM-3 suppresses innate immune responses through TLR and cytosolic sensor recognition of nucleic acids. As a mechanism of action, TIM-3 interacts with HMGB1 to interfere with the recruitment of nucleic acids into endosomes of dendritic cells and attenuates the therapeutic efficacies of DNA vaccines and chemotherapy by reducing immunogenicity of nucleic acids released from dying tumor cells. These findings define a novel mechanism by which tumor microenvironments suppress antitumor immunity mediated by nucleic acids.

(2) New mechanisms that tumor-associated macrophages regulate tumor antigen-presentation and antitumor CTL responses (Baghdadi M, et al. *Immunity*, 39: 1070-1081, 2013)

We found that TIM-4 repressed tumor-specific immunity triggered by chemotherapy-induced tumor cell death. TIM-4 was highly expressed on tumor-associated myeloid cells such as macrophages (TAMs), and TIM-4 directly interacted with AMPK $\alpha$ 1 and activated autophagy-mediated degradation of ingested tumors, leading to reduced antigen presentation and impaired CTL responses. Moreover, blockade of the TIM-4-AMPK $\alpha$ 1-autophagy pathway augmented the antitumor effect of chemotherapeutics by enhancing tumor-specific CTL responses. Our finding provides insight into the immune tolerance mediated by phagocytosis of dying

cells, and targeting of the TIM-4-AMPK $\alpha$ 1 interaction constitutes as a unique strategy for augmenting antitumor immunity and improving cancer chemotherapy.

(3) The critical role of cross-talk between tumor-associated macrophages and cancer stem cells on tumorigenicity and resistance to anticancer drugs (Jinushi M et al, *PNAS*, 108: 12425-12430; Yamashina T et al, *Cancer Research*, 2014)

In this project, we found that a characteristic of cancer stem-like cells from chemoresistant tumors (CSC-R) is the ability to produce a variety of proinflammatory cytokines and to generate M2-like macrophages from monocytes. Further, we identified the interferon-regulated transcription factor IRF5 as a CSC-R-specific factor for promoting M-CSF production and generating tumorigenic macrophages. Importantly, macrophages primed with IRF5+CSC-R facilitates the tumorigenic and stem cell activities of bulk tumors. Thus, our findings show how chemoresistance impacts the properties of cancer stem-like cells in their niche microenvironments.

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機能制御機構の解明



特任教授・医学博士 宮崎 忠昭  
特任助教・博士(医学) 中川 久子

### キーワード

乳酸菌、インフルエンザウイルス、炎症、アポトーシス、老化、寿命

### 研究概要

本研究分野では、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ます。現在、乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクス菌(図1)とそれらの菌体画分と産生物によるインフルエンザ等の感染症、癌、炎症性疾患の予防・治療効果および寿命延長効果を評価します。

これらの効果や機能が認められた場合、応答する細胞や受容体、刺激因子を明らかにし、細胞増殖、アポトーシスや細胞遊走の誘導シグナル伝達経路を解明し、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。

### 研究内容及び成果

#### (1) 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

インフルエンザの重篤化にはアポトーシスが密接に関わっています。ウイルス感染細胞では 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ます(図2)。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- $\alpha$  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、病態が重篤化すると考えられています。これまでに、ウイルス感染後の FasL の発現が病態形成に重要であり、このシグナルを阻害すると生存率を上昇させるとことを明らかにしました。また、最近、ガセリ菌 SP 株の経口投与がインフルエンザウイルス感染後のマウスの肺中のウイルスタイトルと炎症性サイトカインの量を減少させ、生存率を上昇させることを見出しました。

#### (2) 腸管におけるプロバイオティクスの IgA 産生誘導とその機構解明

マウスに *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (LG2055) を

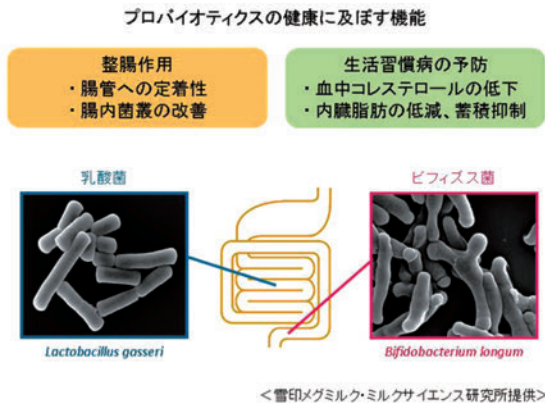


図1. プロバイオティクスの微生物とその健康への影響

Fig. 1. Microbes used as probiotics and the effects on human health

摂取させると小腸組織中の IgA 量が増加することが明らかとなり、その機構として、LG2055 が腸管に存在する樹状細胞を介して B 細胞からの IgA 産生を誘導する可能性が示唆されました。そこで、LG2055 による樹状細胞制御機構を解析するため樹状細胞として、骨髄由来樹状細胞 (BMDC) を用いて解析しました。結果、LG2055 刺激により BAFF および RALDH2 の遺伝子発現量と TGF- $\beta$  の産生が増加しました。また、LG2055 による IgA 産生誘導には、BMDC から産生される TGF- $\beta$  が重要でありこの TGF- $\beta$  は、naïve B 細胞ではなく BMDC 自身に作用し BAFF の遺伝子発現量を増加させることが明らかとなりました。

また、LG2055 は、BAFF 存在下で naïve B 細胞から IgA 産生を強く誘導しました。以上の結果から、LG2055 は樹状細胞の TGF- $\beta$  産生誘導を介して BAFF 産生を誘導すること、産生された BAFF の存在下、LG2055 は naïve B 細胞から IgA を産生させるという新たな制御機構が示されました(図3)。

#### (3) 線虫を用いた寿命の制御機構の解明

白血球の食作用が免疫機能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、ヨーグルトを常食するひとに長寿者が多いことから乳酸菌を含むヨーグルトが長寿に有用であるという説を唱えました。私たちはプロバイオティクスによる寿命延長効果と作用機構を解明するため、線虫 *C. elegans* (*Caenorhabditis elegans*) をモデル動物として解析を進めています。

*C. elegans* は、土壌に生息し細菌類を食べる体長約 1 mm の線虫であり、細胞数が少ないことに加えてライフサイクルが21日前後と短いためアポトーシス誘導機構、および寿命・老化機構の解析に用いられています。

乳酸菌・乳酸菌産物による寿命・老化制御遺伝子とアポトーシス制御分子の発現制御、およびこれらの分子機能の関連性を解析し、生体の寿命・老化を規定する分子機構の解明を目指していきます。

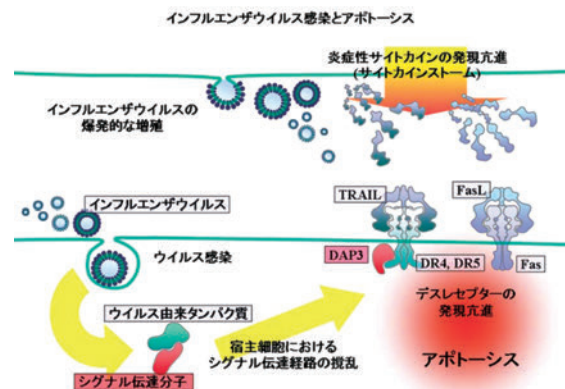


図2. インフルエンザウイルスの感染によるアポトーシス誘導機構

Fig. 2. Mechanism of apoptosis induction by influenza virus infection

## Clarification of mechanism for the regulation of biological function by probiotics to prevent and treat diseases

Professor **Tadaaki MIYAZAKI, PhD** Assistant Professor **Hisako NAKAGAWA, PhD**

### Outline

Probiotics 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. The objective of our proposed study is to elucidate how probiotics affect living organisms and prevent illness. infections diseases such as influenza cancer and inflammatory diseases. We aim to demonstrate how the probiotics, these components or products to prevent illnesses and diseases (and will provide therapies for these diseases) 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, or signaling pathway we will be able to develop and translate probiotics into their therapies.

### Contents and Result

#### (1) Investigation of the host defense mechanisms against influenza viruses

Apoptosis contributes to the spread of influenza viruses and to the severity of the conditions of infected victims. The expression of death receptors (Fig. 2) which induce apoptosis, such as Fas, DR4, and DR5, in infected cells increases in conjunction with viral infections.

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. It was shown

FasL expression is critical for the symptoms and inhibition of this signal increased the survival rate of mice. Recently, by administering mice with lactic acid bacteria, we have confirmed that inflammatory cytokine expressions and virus titer in lung were decreased and the survival rate was increased.

#### (2) Analysis of IgA production by probiotics and the mechanism in the small intestine

Induction of IgA production by oral administration of probiotic bacteria in the intestine has been considered to be one reason for this beneficial effect, but the mechanisms of the effect are poorly understood. We have found that oral administration of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (LG2055) induced IgA production and increased the rate of IgA<sup>+</sup> cell population of the mouse small intestine. LG2055 stimulates BMDC to promote the production of TGF- $\beta$  and BAFF. Furthermore, TGF- $\beta$  was important for the production of BAFF from LG2055-stimulated BMDC. Produced BAFF is essential for the secretion of IgA for LG2055 stimulated naïve B cells.

#### (3) Investigation of mechanisms regulating longevity

Dr. Metchnikoff who discovered that the phagocytosis of leucocytes is important for immunity and who received the Nobel Prize for Physiology or Medicine has suggested that yogurt may contribute to longevity since there are many persons eating yogurt surviving to very high ages. We analyzed the life-span of *C. elegans* (*Caenorhabditis elegans*) and found it can be extended by feeding with lactic acid bacteria.

Since *C. elegans* can be examined under a microscope, has few cells, 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. Focusing on how lactic acid bacteria and the products contribute to life span we will analyze the relations of molecules that regulate, apoptosis which are related to cell longevity, and attempt to determine the molecular mechanisms that determine the life span and aging process.

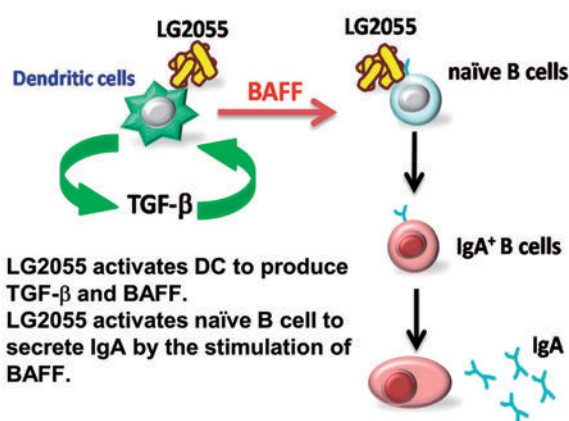


図3. LG2055によるB細胞と樹状細胞の活性化によるIgA産生機構

Fig. 3. Mechanism of IgA production by B cell and DC stimulated by LG2055

# 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所が提案して重点的に推進する研究課題（癌の発生・悪性化における感染・炎症・免疫の役割・研究代表者清野研一郎）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が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、本研究所の施設、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<br>Project<br>年度<br>Year | 特別共同研究<br>(件数)<br>No. of Special<br>Joint Research<br>Project | 一般共同研究<br>(件数)<br>No. of General<br>Joint Research<br>Project | 研究集会<br>(件数)<br>No. of<br>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                                   |
| 平成25年度(2013)                    | 5   | 14  | 3                                   |
| 平成26年度(2014)                    | 7   | 20  | 4                                   |

## 主な研究機器 Major Research Equipment

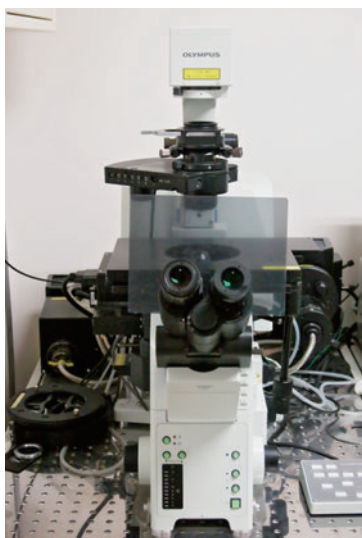


小動物用X線 CT 装置 Latheta LCT-200 (日立アロカメディカル)

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10.6s/回転、一般X線標準撮影モードで約8.3s/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 “an advanced center for research on cancers developed by persistent infection with bacteria or 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 “Roles of infection, inflammation and immunity in carcinogenesis and malignant progression.” 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.



2013研究集会  
Symposium



2014研究集会  
Symposium



## 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  |
|---|---|--|
| 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>専門医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>基本医学総論<br>基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>医学総論 | RNA 生体機能学分野<br>RNA 生体機能学分野<br>RNA 生体機能学<br>RNA 生体機能学分野<br>RNA 生体機能学 | 教 授 廣瀬 哲郎<br>助 教 山崎 智弘                           |
| 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>専門医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>基本医学総論<br>基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>医学総論 | 幹細胞生物学分野<br>幹細胞生物学分野<br>幹細胞生物学<br>幹細胞生物学分野<br>幹細胞生物学                | 教 授 近藤 亨<br>准教授 濱田 淳一<br>助 教 森口 徹生               |
| 基本医学総論<br>医学総論  | 分子神経免疫学<br>分子神経免疫学  | 教 授 村上 正晃<br>助 教 上村 大輔<br>助 教 小椋 英樹<br>助 教 有馬 康伸 |
| 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>専門医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>基本医学総論<br>基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>医学総論 | 癌生物学分野<br>癌生物学分野<br>分子生物学の基礎<br>癌生物学分野<br>分子腫瘍学総論                   | 教 授 野口 昌幸<br>講 師 水津 太                            |
| 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>専門医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>基本医学総論<br>基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>医学総論 | 感染病態学分野<br>感染病態学分野<br>ヒトウイルス感染学<br>感染病態学分野<br>ヒトウイルス感染学             | 教 授 志田 壽利<br>准教授 大橋 貴                            |
| 基本医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>専門医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>基本医学総論<br>基盤医学研究Ⅰ・Ⅱ<br>医学総論 | 免疫生物学分野<br>免疫生物学分野<br>免疫生物学<br>免疫生物学分野<br>免疫生物学                     | 教 授 清野研一郎<br>講 師 和田はるか<br>助 教 ムハンマド・<br>バグダーディー  |
| 基本医学総論<br>医学総論  | Type1/Type2 サイトカインによる免疫制御<br>Type1/Type2 サイトカインによる免疫制御と疾患の克服        | 准教授 北村 秀光  |

### 大学院総合化学院

| 科 目 名                                     |  | 担 当 教 員                |
|---|--|------------------------|
| 生物化学A (Ⅱ)<br>Biochemistry A(Ⅱ)<br>基礎生物学特論 |  | 教 授 高岡 晃教              |
| 生物化学A (Ⅱ)<br>Biochemistry A(Ⅱ)<br>基礎生物学特論 |  | 教 授 藤田 恭之<br>助 教 梶田美穂子 |

### 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

## ○RNA 生体機能分野

Alternative 3'-end processing of long noncoding RNA initiates construction of nuclear paraspeckles.  
Naganuma T, Nakagawa S, Tanigawa A, Sasaki YF, Goshima N, Hirose T.  
EMBO J. 2012 Oct 17; 31(20): 4020-4034.

NEAT1 long noncoding RNA regulates transcription via protein sequestration within subnuclear bodies.  
Hirose T, Virnicchi G, Tanigawa A, Naganuma T, Li R, Kimura H, Yokoi T, Nakagawa S, Bénard M, Fox AH, Pierron G.  
Mol Biol Cell. 2014 Jan; 25(1): 169-183.

Elements and machinery of non-coding RNAs: toward their taxonomy.  
Hirose T, Mishima Y, Tomari Y.  
EMBO Rep. 2014 May; 15(5): 489-507.

## ○幹細胞生物学分野

Isolation and characterization of human breast cancer cells with SOX2 promoter activity.  
Liang S, Furuhashi M, Nakane R, Nakazawa S, Goudarzi H, Hamada J, Iizasa H.  
Biochem Biophys Res Commun. 2013 Jul 26; 437(2): 205-211.

Enhancement of in vitro cell motility and invasiveness of human malignant pleural mesothelioma cells through the HIF-1 $\alpha$ -MUC1 pathway.  
Goudarzi H, Iizasa H, Furuhashi M, Nakazawa S, Nakane R, Liang S, Hida Y, Yanagihara K, Kubo T, Nakagawa K, Kobayashi M, Irimura T, Hamada J.  
Cancer Lett. 2013 Oct 1; 339(1): 82-92.

A regenerative approach to the treatment of multiple sclerosis.  
Deshmukh VA, Tardif V, Lyssiotis CA, Green CC, Kerman B, Kim HJ, Padmanabhan K, Swoboda JG, Ahmad I, Kondo T, Gage FH, Theofilopoulos AN, Lawson BR, Schultz PG, Lairson LL.  
Nature. 2013 Oct 17; 502(7471): 327-332.

## ○分子生体防御分野

Characterization of innate immune signalings stimulated by ligands for pattern recognition receptors.  
Kameyama T, Takaoka A.  
Methods Mol Biol. 2014; 1142: 19-32.

Targeted induction of interferon- $\lambda$  in humanized chimeric mouse liver abrogates hepatotropic virus infection.  
Nakagawa S, Hirata Y, Kameyama T, Tokunaga Y, Nishito Y, Hirabayashi K, Yano J, Ochiya T, Tateno C, Tanaka Y, Mizokami M, Tsukiyama-Kohara K, Inoue K, Yoshida M, Takaoka A, Kohara M.  
PLoS One. 2013; 8(3): e59611.

Integrin  $\alpha 9$  on lymphatic endothelial cells regulates

lymphocyte egress.

Ito K, Morimoto J, Kihara A, Matsui Y, Kurotaki D, Kanayama M, Simmons S, Ishii M, Sheppard D, Takaoka A, Uede T.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Feb 25; 111(8): 3080-3085.

## ○分子神経免疫学分野

Regional neural activation defines a gateway for autoreactive T cells to cross the blood-brain barrier.  
Arima Y, Harada M, Kamimura D, Park JH, Kawano F, Yull FE, Kawamoto T, Iwakura Y, Betz UA, Márquez G, Blackwell TS, Ohira Y, Hirano T, Murakami M.  
Cell. 2012 Feb 3; 148(3): 447-457.

Disease-association analysis of an inflammation-related feedback loop.  
Murakami M, Harada M, Kamimura D, Ogura H, Okuyama Y, Kumai N, Okuyama A, Singh R, Jiang JJ, Atsumi T, Shiraya S, Nakatsuji Y, Kinoshita M, Kohsaka H, Nishida M, Sakoda S, Miyasaka N, Yamauchi-Takahara K, Hirano T.  
Cell Rep. 2013 Mar 28; 3(3): 946-959.

Inflammation amplifier, a new paradigm in cancer biology.  
Atsumi T, Singh R, Sabharwal L, Bando H, Meng J, Arima Y, Yamada M, Harada M, Jiang JJ, Kamimura D, Ogura H, Hirano T, Murakami M.  
Cancer Res. 2014 Jan 1; 74(1): 8-14.

## ○癌生物分野

Protooncogene TCL1b functions as an Akt kinase co-activator that exhibits oncogenic potency in vivo.  
Hashimoto M, Suizu F, Tokuyama W, Noguchi H, Hirata N, Matsuda-Lennikov M, Edamura T, Masuzawa M, Gotoh N, Tanaka S, Noguchi M.  
Oncogenesis. 2013 Sep 16; 2: e70.

Lysosomal interaction of Akt with Phafin2: a critical step in the induction of autophagy.  
Matsuda-Lennikov M, Suizu F, Hirata N, Hashimoto M, Kimura K, Nagamine T, Fujioka Y, Ohba Y, Iwanaga T, Noguchi M.  
PLoS One. 2014 Jan 8; 9(1): e79795.

## ○感染病態分野

Combined cytolytic effects of a vaccinia virus encoding a single chain trimer of MHC-I with a Tax-epitope and Tax-specific CTLs on HTLV-I-infected cells in a rat model.  
Ohashi T, Nakamura T, Kidokoro M, Zhang X, Shida H.  
Biomed Res Int. 2014; 2014: 902478.

Immunogenicity and safety of the vaccinia virus LC16m8 $\Delta$  vector expressing SIV Gag under a strong or moderate promoter in a recombinant BCG prime-recombinant vaccinia virus boost protocol.

Sato H, Jing C, Isshiki M, Matsuo K, Kidokoro M, Takamura S, Zhang X, Ohashi T, Shida H. *Vaccine*. 2013 Aug 2; 31(35): 3549-3557.

Elicitation of both anti HIV-1 Env humoral and cellular immunities by replicating vaccinia prime Sendai virus boost regimen and boosting by CD40Lm. Zhang X, Sobue T, Isshiki M, Makino S, Inoue M, Kato K, Shioda T, Ohashi T, Sato H, Komano J, Hanabusa H, Shida H. *PLoS One*. 2012; 7(12): e51633.

#### ○分子腫瘍分野

Filamin acts as a key regulator in epithelial defence against transformed cells.

Kajita M, Sugimura K, Ohoka A, Burden J, Suganuma H, Ikegawa M, Shimada T, Kitamura T, Shindoh M, Ishikawa S, Yamamoto S, Saitoh S, Yako Y, Takahashi R, Okajima T, Kikuta J, Maijima Y, Ishii M, Tada M, Fujita Y.

*Nat Commun*. 2014 Jul 31; 5: 4428.

PKA-regulated VASP phosphorylation promotes extrusion of transformed cells from the epithelium. Anton KA, Sinclair J, Ohoka A, Kajita M, Ishikawa S, Benz PM, Renne T, Balda M, Jorgensen C, Matter K, Fujita Y.

*J Cell Sci*. 2014 Aug 15; 127(Pt 16): 3425-3433.

Epithelial homeostasis: elimination by live cell extrusion.

Katoh H, Fujita Y.

*Curr Biol*. 2012 Jun 5; 22(11): R453-455.

#### ○免疫生物分野

Treg-enriched CD4<sup>+</sup> T cells attenuate collagen synthesis in keloid fibroblasts.

Murao N, Seino K, Hayashi T, Ikeda M, Funayama E, Furukawa H, Yamamoto Y, Oyama A.

*Exp Dermatol*. 2014 Apr; 23(4): 266-271.

Mouse models of human INAD by Pla2g6 deficiency. Wada H, Kojo S, Seino K.

*Histol Histopathol*. 2013 Aug; 28(8): 965-969.

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.

#### ○疾患モデル創成分野 (附属動物実験施設)

Generation of precise point mutation mice by footprintless genome modification.

Morioka Y, Fujihara Y, Okabe M.

*Genesis*. 2014 Jan; 52(1): 68-77.

Abnormal spermatogenesis and reduced fertility in transgenic mice expressing the immediate-early protein IE180 of pseudorabies virus.

Tomioka Y, Morimatsu M, Taharaguchi S, Yamamoto S, Suyama H, Ozaki K, Iwamori N, Ono E.

*Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Nov 1; 440(4): 683-688.

Effects of the missense mutations in canine BRCA2 on BRC repeat 3 functions and comparative analyses between canine and human BRC repeat 3.

Yoshikawa Y, Ochiai K, Morimatsu M, Suzuki Y, Wada S, Taoda T, Iwai S, Chikazawa S, Orino K, Watanabe K.

*PLoS One*. 2012; 7(10): e45833.

#### ○免疫機能学分野

Identification of novel helper epitope peptides of Survivin cancer-associated antigen applicable to developing helper/killer-hybrid epitope long peptide cancer vaccine.

Ohtake J, Ohkuri T, Togashi Y, Kitamura H, Okuno K, Nishimura T.

*Immunol Lett*. 2014 Sep; 161(1): 20-30.

The key role of IL-6-arginase cascade for inducing dendritic cell-dependent CD4(+) T cell dysfunction in tumor-bearing mice.

Narita Y, Kitamura H, Wakita D, Sumida K, Masuko K, Terada S, Nakano K, Nishimura T.

*J Immunol*. 2013 Jan 15; 190(2): 812-820.

Anti-IL-6 receptor mAb eliminates myeloid-derived suppressor cells and inhibits tumor growth by enhancing T-cell responses.

Sumida K, Wakita D, Narita Y, Masuko K, Terada S, Watanabe K, Satoh T, Kitamura H, Nishimura T.

*Eur J Immunol*. 2012 Aug; 42(8): 2060-2072.

#### ○分子間情報分野

Role of phosphatidylserine in phospholipid flippase-mediated vesicle transport in *Saccharomyces cerevisiae*.

Takeda M, Yamagami K, Tanaka K.

*Eukaryot Cell*. 2014 Mar; 13(3): 363-375.

Interaction of the phospholipid flippase Drs2p with the F-box protein Rcy1p plays an important role in early endosome to trans-Golgi network vesicle transport in yeast.

Hanamatsu H, Fujimura-Kamada K, Yamamoto T, Furuta N, Tanaka K.

*J Biochem*. 2014 Jan; 155(1): 51-62.

Phospholipid flippases Lem3p-Dnf1p and Lem3p-Dnf2p are involved in the sorting of the tryptophan permease Tat2p in yeast.

Hachiro T, Yamamoto T, Nakano K, Tanaka K.

*J Biol Chem*. 2013 Feb 1; 288(5): 3594-3608.

#### ○動物機能医科学研究室

Multidimensional MRI-CT atlas of the naked mole-rat brain (*Heterocephalus glaber*).

Seki F, Hikishima K, Nambu S, Okanoya K, Okano HJ, Sasaki E, Miura K, Okano H.

*Front Neuroanat*. 2013 Dec 20; 7: 45.

「ハダカデバネズミ なぜそんなに長生きでがんになら

ない？」

河村 佳見、宮脇慎吾、岡野栄之、三浦恭子  
化学と生物、Vol.52、No.3、189-192。(2014)

Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells.

Okano H, Nakamura M, Yoshida K, Okada Y, Tsuji O, Nori S, Ikeda E, Yamanaka S, Miura K.  
Circ Res. 2013 Feb 1; 112(3): 523-533.

#### ○血管生物学研究室

Hypoxia-induced reactive oxygen species cause chromosomal abnormalities in endothelial cells in the tumor microenvironment.

Kondoh M, Ohga N, Akiyama K, Hida Y, Maishi N, Towfik AM, Inoue N, Shindoh M, Hida K.  
PLoS One. 2013 Nov 15; 8(11): e80349.

RNAi-mediated gene knockdown and anti-angiogenic therapy of RCCs using a cyclic RGD-modified liposomal-siRNA system.

Sakurai Y, Hatakeyama H, Sato Y, Hyodo M, Akita H, Ohga N, Hida K, Harashima H.  
J Control Release. 2014 Jan 10; 173: 110-118.

Lysyl oxidase secreted by tumour endothelial cells promotes angiogenesis and metastasis.

Osawa T, Ohga N, Akiyama K, Hida Y, Kitayama K, Kawamoto T, Yamamoto K, Maishi N, Kondoh M, Onodera Y, Fujie M, Shinohara N, Nonomura K, Shindoh M, Hida K.  
Br J Cancer. 2013 Oct 15; 109(8): 2237-47.

#### ○感染癌研究センター

Tumor-infiltrating DCs suppress nucleic acid-mediated innate immune responses through interactions between the receptor TIM-3 and the alarmin HMGB1.

Chiba S, Baghdadi M, Akiba H, Yoshiyama H, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Fujioka Y, Ohba Y, Gorman JV, Colgan JD, Hirashima M, Uede T, Takaoka A, Yagita H, Jinushi M.  
Nat Immunol. 2012 Sep; 13(9): 832-842.

TIM-4 glycoprotein-mediated degradation of dying tumor cells by autophagy leads to reduced antigen presentation and increased immune tolerance.

Baghdadi M, Yoneda A, Yamashina T, Nagao H, Komohara Y, Nagai S, Akiba H, Foretz M, Yoshiyama H, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Takeya M, Viollet B, Yagita H, Jinushi M.  
Immunity. 2013 Dec 12; 39(6): 1070-1081.

Cancer stem-like cells derived from chemoresistant tumors have a unique capacity to prime tumorigenic myeloid cells.

Yamashina T, Baghdadi M, Yoneda A, Kinoshita I, Suzu S, Dosaka-Akita H, Jinushi M.  
Cancer Res. 2014 May 15; 74(10): 2698-2709.

#### ○プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門

Oral administration of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 is effective for preventing influenza in mice.

Nakayama Y, Moriya T, Sakai F, Ikeda N, Shiozaki T, Hosoya T, Nakagawa H, Miyazaki T.  
Sci Rep. 2014 Apr 10; 4: 4638.

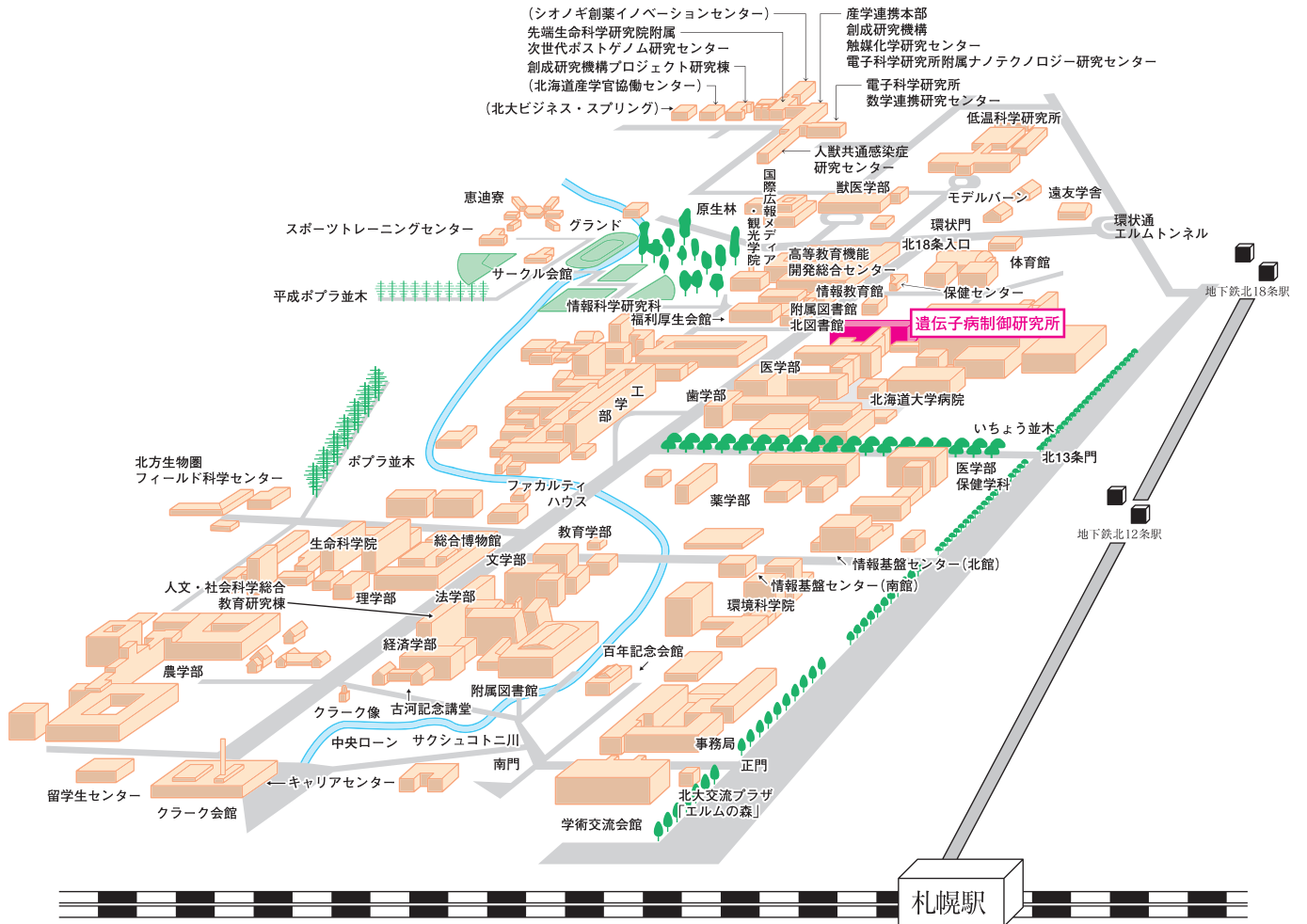
A Ca<sup>2+</sup>-dependent signalling circuit regulates influenza A virus internalization and infection.

Fujioka Y, Tsuda M, Nanbo A, Hattori T, Sasaki J, Sasaki T, Miyazaki T, Ohba Y.  
Nat Commun. 2013; 4: 2763.

Type-I interferon is critical for FasL expression on lung cells to determine the severity of influenza.

Fujikura D, Chiba S, Muramatsu D, Kazumata M, Nakayama Y, Kawai T, Akira S, Kida H, Miyazaki T.  
PLoS One. 2013; 8(2): e55321.

# 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26年12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**

2014.12

N15 W7, Kita-ku, Sapporo

060-0815 Japan

Tel(011)716-2111

Fax(011)717-5286

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

---

---





