

北海道大学  
遺伝子病制御研究所概要

2016  
2017




# 目 次

●目的と使命	1
●沿革	2
●歴代所長・施設長及び名誉教授	4
●機構	6
●教職員等一覧	8
●研究活動	
<b>病因研究部門</b>	
RNA 生体機能分野	10
幹細胞生物学分野	12
分子生体防御分野	14
分子神経免疫学分野	16
<b>病態研究部門</b>	
癌生物分野	18
感染病態分野	20
分子腫瘍分野	22
免疫生物分野	24
<b>疾患制御研究部門</b>	
疾患モデル創成分野	26
免疫機能学分野	28
分子間情報分野	30
<b>フロンティア研究ユニット</b>	
動物機能医科学研究室	32
血管生物学研究室	34
<b>寄附研究部門</b>	
プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門	36
<b>附属施設</b>	
動物実験施設	38
感染癌研究センター	39
<b>共同利用・共同研究推進室</b>	40
<b>融合プログラム連携室</b>	42
●教育活動	44
●北海道大学配置図	45







遺伝子病制御研究所 (IGM) は、60 年を超える歴史を持つ附置研究所、北海道大学免疫科学研究所 (結核研究所を前身) と 40 数年の歴史を有する医学部附属癌研究施設が統合して 2000 年 4 月に発足しました。現在、総数 16 の研究室・施設があり、また、北海道大学の医学部・医学研究科、理学部化学専攻、総合化学院、生命科学院、獣医学研究科などと連携して主に医学研究を行っています。常時 50 名を超える学部学生、大学院生、および様々な国からの留学生を受け入れて、総勢 100 数十名の構成メンバーから成る東日本最大級の基礎医学、橋渡し研究 (基礎医学研究を臨床の現場に届ける研究) の拠点の 1 つです。また当研究所は文部科学省の全国共同利用・共同研究拠点の 1 つとして、「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」に平成 22 年から継続して認定されて国内外の関連研究者が常時訪問し、研究を行っています。

IGM では、特に、「感染、癌、免疫、炎症」という 4 つの分野を重点研究領域としており、これらの領域に関連する疾患に個々の遺伝子の機能がどう影響するのかを分子レベルか



北海道大学遺伝子病制御研究所 所長  
村上 正晃

## 遺伝子病制御研究所 目的と使命

ら個体レベルまで調べ、その遺伝子が関係する病気の発症原因に対する新たな知見を得ることや新しい治療法を開発することを目指しています。とくに既存の考え方、ドグマに囚われず、自由な発想を基に仮説を立て、それを実験で証明していくスタンスを大事にしています。これによってこれまでに知られていなかった病気の発症機構、病気の予防法、治療法の開発が可能となります。また、研究を行うことに加えて、世界の第一線で活躍する若手研究者を教育、育成すること、研究成果を社会に積極的に発信すること、および近隣の小中高生に基礎医学を中心とする科学により興味をもってもらうことも IGM の使命であると考えています。そのため、若手研究者の海外渡航支援助成である東一郎基金の設立、ホームページの充実および研究所一般公開なども積極的に行っています。

このように研究、教育、社会貢献活動を基盤に、IGM メンバーが一丸となり、国際的な視野をもって独創的な基礎医学研究を推進させ、生命医科学に新しいコンセプトを確立することを目指し、それを継続、発展させることで臨床医学への橋渡しを行って社会に貢献して参ります。

平成 28 年 12 月



## 沿革

### 免疫科学研究所

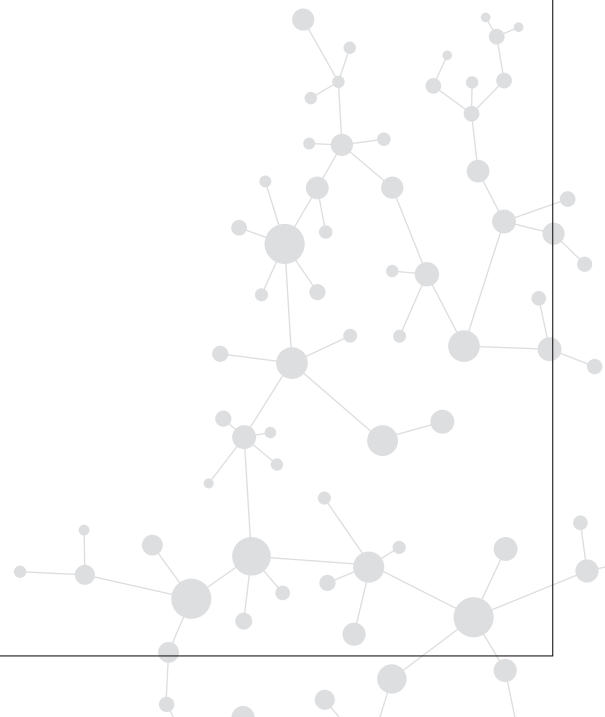
- 昭和 16. 2. 財団法人北方結核研究会が設置された。
- 昭和 20. 8. 1 北方結核研究会に北方結核研究所が設置された。
- 昭和 25. 4. 1 北方結核研究会北方結核研究所は文部省に移管され、北海道大学結核研究所が設置された。研究部門として予防部門、細菌部門が設置された。
- 昭和 26. 3.15 結核研究所に北方結核研究会から北方結核研究所建物（1,935m<sup>2</sup>）の寄付を受けた。
- 昭和 26. 4. 1 結核研究所に化学部門、病理部門が設置された。
- 昭和 28. 4. 1 結核研究所に診療部門（内部措置）が設置された。
- 昭和 29. 2.20 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。
- 昭和 54. 4. 1 癌研究施設に遺伝部門が設置された。
- 昭和 61. 3.31 癌研究施設の遺伝部門が廃止された。
- 昭和 61. 4. 1 癌研究施設の分子遺伝部門が設置された。
- 平成 4. 4.10 癌研究施設に細胞制御部門が設置された。
- 平成 8. 3.31 癌研究施設の分子遺伝部門が廃止された。
- 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。

## 遺伝子病制御研究所

- 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。
- 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。
- 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。
- 平成 20. 7. 1 附属疾患モデル動物実験施設は、附属動物実験施設に改称された。  
附属ウイルスベクター開発センターが廃止された。  
附属感染癌研究センターが設置された。
- 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。  
共同利用・共同研究推進室が設置された。  
融合プログラム連携室が設置された。
- 平成 23. 9. 1 寄附研究部門「プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門」が設置された。
- 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。
- 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。
- 平成 25.10.31 ROYCE' 健康バイオ研究部門が終了した。
- 平成 26. 2. 1 フロンティア研究ユニット「動物機能医科学研究室」が設置された。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。



## 歴代所長・施設長及び名誉教授

### ●結核研究所歴代所長

- 初代 安田 守雄 昭和 25. 4. 1～昭和 28. 3.31
- 2代 高橋 義夫 昭和 28. 4. 1～昭和 43. 3.31
- 3代 柿本 七郎 昭和 43. 4. 1～昭和 46. 3.31
- 4代 高橋 義夫 昭和 46. 4. 1～昭和 49. 3.31

### ●免疫科学研究所歴代所長

- 初代 大原 達 昭和 49. 4. 1～昭和 54. 4. 1
- 2代 森川 和雄 昭和 54. 4. 2～昭和 60. 3.31
- 3代 山本 健一 昭和 60. 4. 1～昭和 63. 3.31
- 4代 東 市郎 昭和 63. 4. 1～平成 6. 3.31
- 5代 柿沼 光明 平成 6. 4. 1～平成 8. 3.31
- 6代 小野江和則 平成 8. 4. 1～平成 12. 3.31

### ●医学部附属免疫病理研究施設長

- 初代 武田 勝男 昭和 37. 4. 1～昭和 40. 3.31
- 2代 安倍 三史 昭和 40. 4. 1～昭和 42.12.27
- 3代 小林 博 昭和 42.12.28～昭和 44. 3.31

### ●医学部附属癌研究施設歴代施設長

- 初代 小林 博 昭和 44. 4. 1～昭和 48. 3.31
- 2代 大里外誉郎 昭和 48. 4. 1～昭和 50. 3.31
- 3代 牧田 章 昭和 50. 4. 1～昭和 52. 3.31
- 4代 小林 博 昭和 52. 4. 1～昭和 56. 3.31
- 5代 大里外誉郎 昭和 56. 4. 1～昭和 60. 3.31
- 6代 牧田 章 昭和 60. 4. 1～平成 元. 3.31
- 7代 大里外誉郎 平成 元. 4. 1～平成 5. 3.31
- 8代 葛巻 暹 平成 5. 4. 1～平成 9. 3.31
- 9代 斉藤 政樹 平成 9. 4. 1～平成 9.10.31
- 10代 細川眞澄男 平成 9.11. 1～平成 12. 3.31

### ●遺伝子病制御研究所歴代所長

- 初代 小野江和則 平成 12. 4. 1～平成 14. 3.31
- 2代 高田 賢藏 平成 14. 4. 1～平成 18. 3.31
- 3代 上出 利光 平成 18. 4. 1～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～平成 28. 3.31
- 6代 村上 正晃 平成 28. 4. 1～



### ●免疫科学研究所附属免疫動物実験施設歴代施設長

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

### ●遺伝子病制御研究所附属動物実験施設歴代施設長

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

### ●遺伝子病制御研究所附属ウイルスベクター開発センター歴代センター長

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

### ●遺伝子病制御研究所附属感染癌研究センター歴代センター長

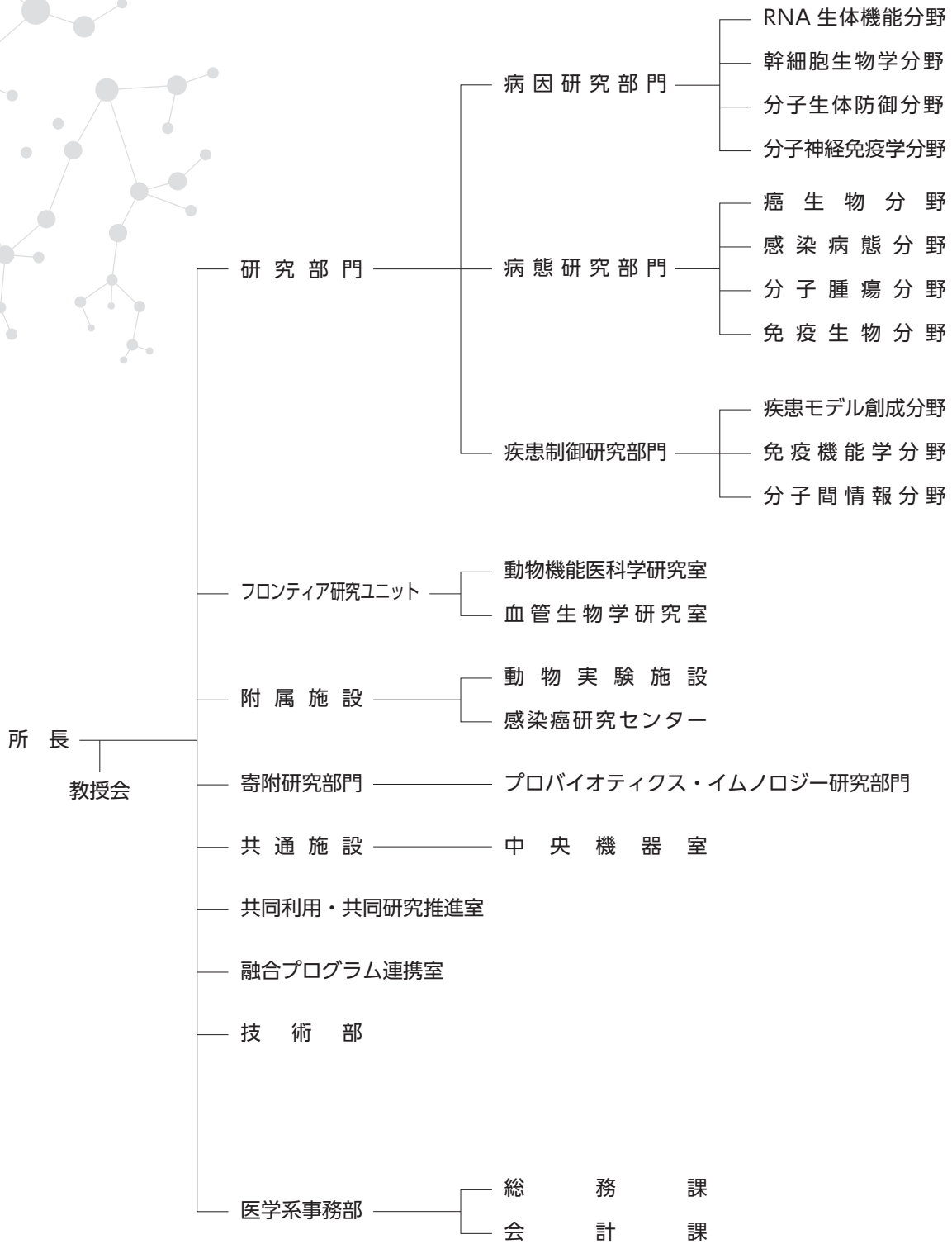
初代	畠山 昌則	平成 20. 7. 1~平成 21. 6.30
2代	高岡 晃教	平成 21. 7. 1~平成 24. 3.31
3代	田中 一馬	平成 24. 4. 1~平成 26. 3.31
4代	近藤 亨	平成 26. 4. 1~

### ●名誉教授 (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



# 機 構



## 職員数

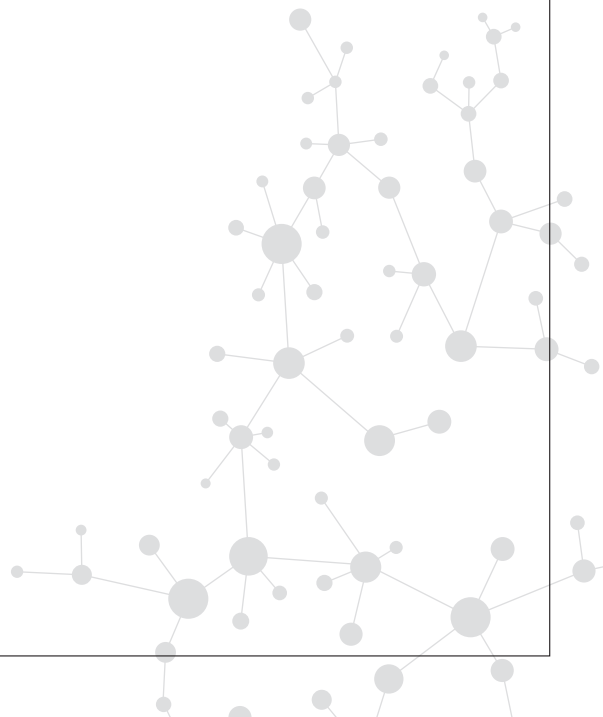
平成 29 年 1 月 1 日付け

教授	9
准教授	6
講師	2
助教	24
事務職員 (医学系事務部)	47
技術職員	7
博士研究員	3
学術研究員	9
客員研究員	4
非常勤研究員	3
外国人研究員	1
研究支援推進員	6
非常勤職員	34
ビジティングフェロー	4
計	159

## 学生数

平成 29 年 1 月 1 日付け

医学研究科博士課程	14
医学研究科修士課程	11
理学院博士課程	0
理学院修士課程	0
総合化学院博士課程	8
総合化学院修士課程	7
生命科学院博士課程	0
生命科学院修士課程	4
理学部学生	3
特別研究学生	1
ビジティングスチューデント	33
計	81



# 教職員等一覧

## 病因研究部門

### ● RNA 生体機能分野

教授	廣瀬 哲郎
助教	山崎 智弘
助教	二宮 賢介
特任助教	萬年 太郎
特別研究員	中條 岳志
研究支援推進員	藤川千佳子
派遣職員	久保田絢香
事務補助員	田畑亜矢子
事務補助員	高橋公美子

### ● 幹細胞生物学分野

教授	近藤 亨
助教	森口 徹生
助教	大津 直樹
研究支援推進員	梅澤 沙織
派遣職員	四戸由美子
派遣職員	大山佳奈子

### ● 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
助教	山田 大翔
技術職員	櫻井 希
技術補助員	名越友里恵

### ● 分子神経免疫学分野

教授	村上 正晃
講師	上村 大輔
助教	有馬 康伸
特任助教	熱海 徹
博士研究員	蔣 菁菁
特別研究員	Andrea Stofkova
非常勤研究員	田中 勇希
技術専門職員	中山千恵美
研究支援推進員	江沢 光江
事務補助員	福本里登美

## 病態研究部門

### ● 癌生物分野

教授	野口 昌幸
准教授	水津 太
助教	平田 徳幸
技術職員	石垣 聡子
非常勤研究員	Thoria Ebrahim Khalifa Donia

### ● 感染病態分野

教授 (兼)	高岡 晃教
准教授	澤 新一郎
助教	住谷瑛里子

### ● 分子腫瘍分野

教授	藤田 恭之
助教	昆 俊亮
助教	丸山 剛
特任助教	釜崎とも子
特任助教	大庭 賢二
特任助教	掛布 真愛
特別研究員	竹内 康人
学術研究員	森田 智子
学術研究員	西川 敦子
技術専門職員	石川 晋
技術補助員	亀田 育美
技術補助員	宮崎 裕美
技術補助員	菅沼 瞳

### ● 免疫生物分野

教授	清野研一郎
助教	和田はるか
助教	ムハンマド・バグダーディー
非常勤研究員	デリヌル・アニワル
学術研究員	石川 浩三
学術研究員	草間 千枝
学術研究員	山内 綾乃
学術研究員	江澤永倫子
研究支援推進員	岡部 レイ
事務補助員	工藤 聖那

## 疾患制御研究部門

### ●疾患モデル創成分野

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

### ●分子間情報分野

教授 田中 一馬  
助教 山本 隆晴  
助教 三岡 哲生  
研究支援推進員 伊藤絵里子  
事務補助員 栗林 朋子

## フロンティア研究ユニット

### ●動物機能医科学研究室

准教授 三浦 恭子  
助教 河村 佳見  
博士研究員 岡 香織  
学術研究員 藤村 由希  
事務補助員 田辺 裕

### ●血管生物学研究室

特任准教授 樋田 京子  
助教 間石 奈湖  
学術研究員 鈴木 裕子

## 寄附研究部門

### ●プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門

特任教授 宮崎 忠昭  
特任助教 中川 久子  
博士研究員 馬場 一信  
学術研究員 猪村 帝  
事務補助員 倉谷理映子  
技術補助員 松原 由美  
派遣職員 田中くみ子

## 附属施設

### ●動物実験施設

施設長（教授） 清野研一郎  
助教（兼） 森岡 裕香  
技術専門職員 室田 宏之  
技術職員 尾関 祐一  
事務補助員 美馬 紀子  
事務補助員 渡辺 幸子  
事務補助員 細谷 直美

### ●感染癌研究センター

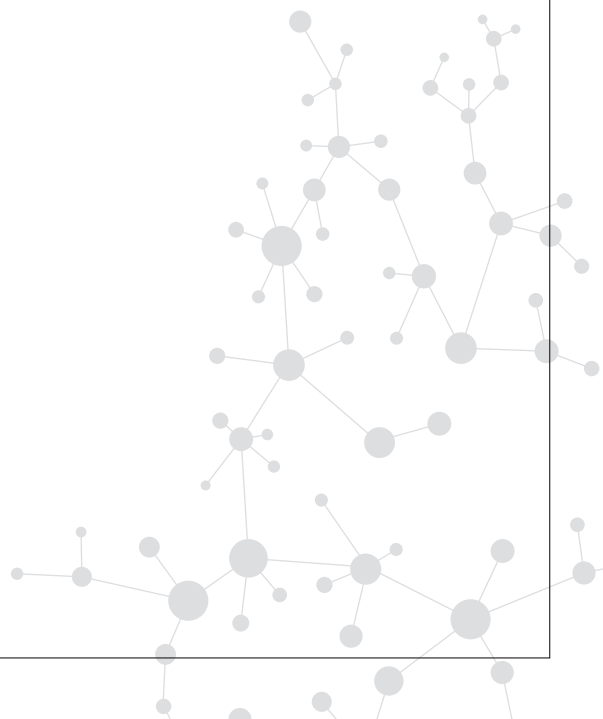
センター長（教授・兼） 近藤 亨  
准教授（兼） 澤 新一郎  
准教授（兼） 北村 秀光

### ●共同利用・共同研究推進室

室長（教授・兼） 近藤 亨  
准教授（兼） 澤 新一郎  
准教授（兼） 北村 秀光  
研究支援推進員 池内 奈緒

### ●融合プログラム連携室

准教授 瀧本 将人



## RNA 生体機能分野

教授・理学博士

廣瀬 哲郎

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/rna/index.html>

### ● キーワード

RNA、エピゲノム、タンパク質凝集、癌、神経疾患



### 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

### ● 研究概要

ヒトゲノム中でタンパク質コード情報を含む領域は、たった2%にすぎず、残りの広大な領域は意味のないジャンク領域であると考えられてきた。しかし21世紀のポストゲノム時代に入り、これらの領域から多数のノンコーディング RNA (ncRNA) が生み出されていることが明らかにされた。そこで当分野では、これらの ncRNA の全く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 (= 新規遺伝暗号) を解読する。さらに様々な疾患と ncRNA との新しい関係性を見出すことによって、これまで未知の病因解明や ncRNA を標的とした新しい治療法や診断法に結びつく基盤技術の確立を目指す。

### ● 研究内容及び成果

#### ノンコーディング RNA の新規暗号解読

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アーキテクチャ RNA (arcRNA) を世界に先駆けて発見し (Sasaki *et al.*, PNAS 2009)、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。これまでに核内構造体パラスペックルの arcRNA 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を網羅的に同定し、それらの機能解析を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パラスペックルの構築機構の概要を明らかにすることに成功している (Naganuma *et al.* EMBO J 2012)。本研究期間では、こうしたパラスペックルタンパク質の中で、凝集しやすい性質をもつ RNA 結合タンパク質のプリオン様ドメインが、パラスペックル構造形成に必須であることを、西オーストラリア大学の共同研究によって明らかにした (Hennig *et al.*, J Cell Biol 2015) (図 1)。一方で、そのクロマチン再構築機能によって様々な癌に関わる複合体として知られている SWI/SNF 複合体が、パラスペックル形成に必須であることを発見した。興味深いことにこの過程は、通常クロマチン再構築に必要な ATPase 活性は必要なく、SWI/SNF 複合体の新機能によってなされていることが明らかになった (図 1) (Kawaguchi *et al.*, PNAS 2015)。こうしたタンパク質因子は、NEAT1 arcRNA 配列中の特定の領域を足場として集約され、液体相転移が起こり、その結果パラスペックル構造形成に至ると考えられる。そこで NEAT1 配列中の機能的な作動エレメントを同定するために、CRISPR/CAS9 ゲノム編集技術を駆使した解析系を立ち上げ、複数の NEAT1 作動エレメント領域の存在を明らかにした (図 1)。

#### 新しい機能性ノンコーディング RNA の探索

細胞内構造の骨格として働く arcRNA は、ヒトゲノム中にどれほど普遍的に存在するのかを探索するために、新規 arcRNA の探索を2つの独自の手法によって実施した。まず RNA を骨格として構築される細胞内構造体のスクリーニング

#### 分野所属教員

教	授	.....	廣	瀬	哲	郎		
助	教	.....	山	崎	智	弘		
助	教	.....	二	宮	賢	介		
特	任	助	教	.....	萬	年	太	郎

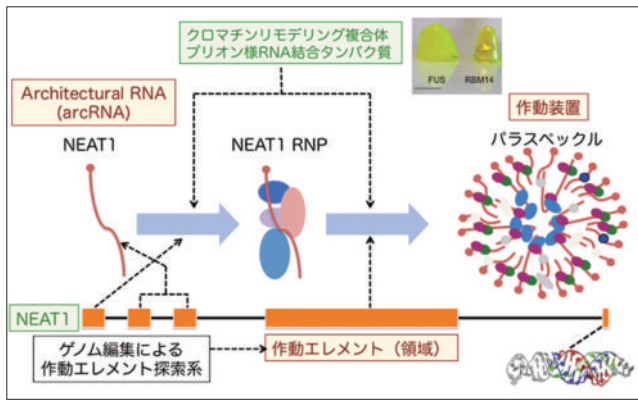


図 1. NEAT1 arcRNA によるパラスペックル形成機構

である。この手法は、ヒト完全長 cDNA 発現ライブラリー (32651 クローン) を用いて、核内構造体に局在するタンパク質を産生する 571 種類の cDNA クローンを選別し、さらにそれらが局在する構造体の中で RNase 処理によって崩壊するものをスクリーニングすることによって、arcRNA 依存的な核内構造体を複数見出すことに成功した。このうち SNB (Sam68 nuclear body) と呼ばれる核内構造体形成に関わる複数のタンパク質因子を同定し、その機能阻害-レスキュー解析、機能ドメイン解析などを集中的に行い、SNB は Sam68 サブ構造体と DBC1 サブ構造体という 2 つの異なる arcRNA 依存的なサブ構造体からなっており、この 2 つのサブ構造体は、癌細胞種特異的、または温度条件などのストレスによって融合と分離をダイナミックに繰り返すことを明らかにした (図 2) (Mannen *et al.*, *J Cell Biol* 2016)。SNB の arcRNA は未だ同定されておらず、現在その同定を目指している。一方で、NEAT1 が、RNA 抽出時に著しい難溶性を示すことを明らかにし、この難溶性が arcRNA の共通の性質なのではないかと考えられた。そこでこの難溶性を指標にして、次世代シーケンサーを用いた難溶性 RNA-seq 解析を実施したところ、数多くの難溶性 RNA がヒト細胞中に存在していることが明らかになった。またこれらのいくつかの RNA の細胞内局在を調べたところ、細胞核内において顆粒状構造体に局在していることが検出された。このことから、これらの難溶性 RNA が新しい核内構造体の arcRNA として機能している可能性が浮上してきた。今後これらの構造体の構成因子を同定し、新たに見出された RNA が arcRNA としての機能を有するかどうかを検証していく予定である。

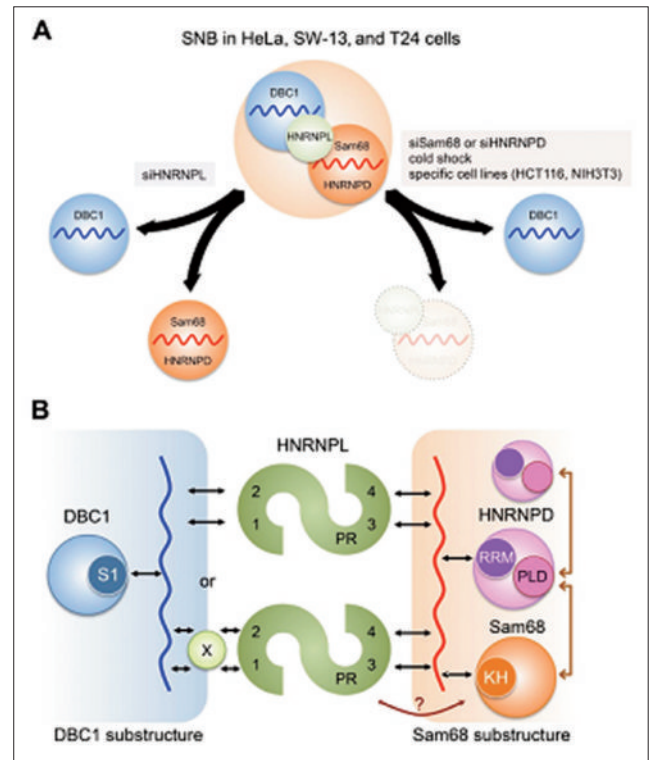


図 2. arcRNA 依存的構造体 SNB のダイナミクス (A) と構造 (B)

### ノンコーディング RNA の生理機能や疾患への関わりについての研究

arcRNA の生理機能や疾患との関わりを明らかにするため国内外の研究者との共同研究を実施した。その成果として、マウス *Neat1* が卵巣内の黄体形成に関わり、それ故に *Neat1* ノックアウト雌個体では妊孕性が著しく低下することが明らかになった (Nakagawa *et al.* *Development* 2014)。さらに癌との関わりについても、NEAT1 がエピジェネティックな遺伝子発現プロファイルを制御することによって前立腺癌の腫瘍成長に関わっていること (Chakravarty *et al.* *Nat Commun* 2014)、さらに乳癌細胞のケモセンシティブリティに関わり、抗癌剤と NEAT1 機能阻害を併用することによって、癌細胞の選択的な細胞死誘導を引き起こせることが明らかになった (Adriaens *et al.* *Nat Med* 2016)。

#### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. Mannen T, Yamashita S, Tomita K, Goshima N, Hirose T. The Sam68 nuclear body is composed of two RNase-sensitive substructures joined by the adaptor HNRNPL. *J Cell Biol*. 2016 Jul 4; 214(1): 45-59. doi: 10.1083/jcb.201601024.
2. Kawaguchi T, Tanigawa A, Naganuma T, Ohkawa Y, Souquere S, Pierron G, Hirose T. SWI/SNF chromatin-remodeling complexes function in noncoding RNA-dependent assembly of nuclear bodies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Apr 7; 112(14): 4304-9. doi: 10.1073/pnas.1423819112.
3. Hennig S, Kong G, Mannen T, Sadowska A, Kobelke S, Blythe A, Knott GJ, Iyer KS, Ho D, Newcombe EA, Hosoki K, Goshima N, Kawaguchi T, Hatters D, Trinkle-Mulcahy L, Hirose T\*, Bond CS\*, Fox AH\*. Prion-like domains in RNA binding proteins are essential for building subnuclear paraspeckles. *J Cell Biol*. 2015 Aug 17; 210(4): 529-39. doi: 10.1083/jcb.201504117. (\* equally contributed)

#### Teaching Staff



助教・生命科学博士  
山崎 智弘



助教・理学博士  
二宮 賢介



特任助教・理学博士  
萬年 太郎

## 幹細胞生物学分野

教授・医学博士

近藤 亨

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

### ● 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



### 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。

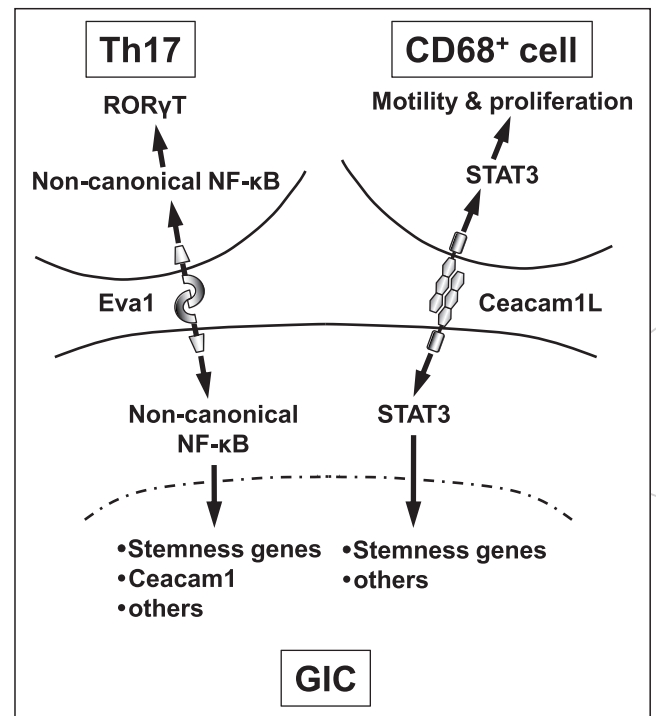
### ● 研究概要

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

#### グリオーマ幹細胞特異的因子群の機能解析と新規癌治療法の開発

悪性腫瘍に存在するがん幹細胞は、自己複製能、腫瘍形成能および抗癌剤・放射線療法に耐性能を有し、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）。昨年度は、GICで発現亢進している2つの細胞表面膜タンパク質Ceacam1とEva1が、STAT3とnon-canonical NF- $\kappa$ Bシグナル伝達系を活性化する分子メカニズムを解明し、論文報告した。加えて、GICで発現消失しているマイクロRNAの1



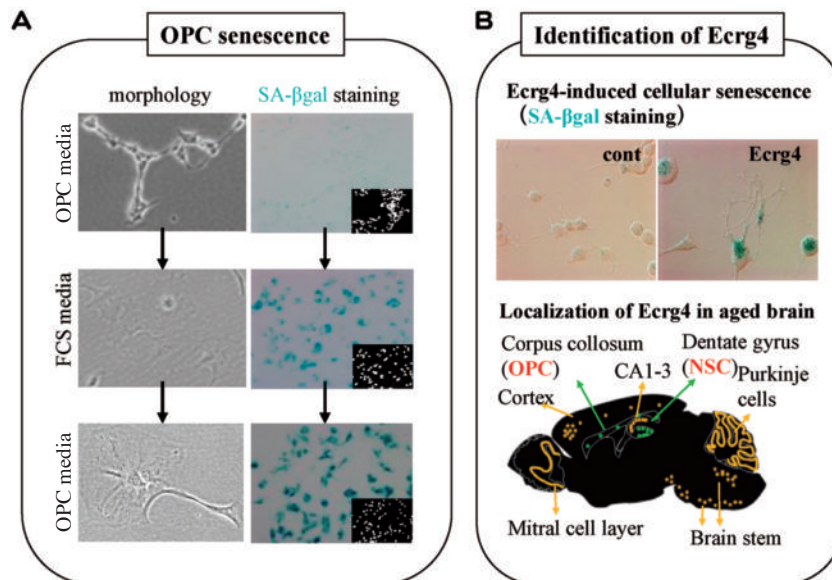
Ceacam1LとEva1を介したGICと周辺細胞の互恵関係。Ceacam1LとEva1を介したGIC-腫瘍周辺細胞（CD68陽性細胞とTh17）間のホモフィリック結合は、STAT3とnon-canonical NF- $\kappa$ Bシグナル伝達系の活性化を介して、GICの増殖促進・幹細胞性の維持と周辺細胞の性状維持に働く。

つmiR340が tissue-type plasminogen activator の発現を抑制することによりGICの増殖と腫瘍形成を阻害することを解明し、論文報告した。更に、GICを用いた化合物スクリーニング系を樹立し、GICに特異性の高い抗がん剤候補薬の同定とその分子メカニズムの一端を解明して論文報告した。現在これまでの研究成果を基にした新規グリオーマ治療法の開発を進めている。

### 分野所属教員

教	授	.....	近 藤	亨
助	教	.....	森 口	徹 生
助	教	.....	大 津	直 樹





EcrG4 は、NSC/OPC 老化に関与している可能性がある。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：EcrG4 の強制発現は細胞老化を誘導し、加齢脳 NSC、OPC 等にその発現が観られる。

### 老化とがん化に関わるペプチドホルモン様分子 EcrG4 の機能解析

EcrG4 (esophageal cancer related gene 4) は、OPC や 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、様々ながん組織でその発現が低下していることが海外のグループから報告され、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 EcrG4 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、EcrG4 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。EcrG4 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、EcrG4 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 EcrG4-EcrG4 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。

#### Teaching Staff



助教・理学博士  
森口 徹生



助教・医学博士  
大津 直樹

#### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. Kaneko, S., Nakatani, Y., Takezaki, T., Hide, T., Yamashita, D., Ohtsu, N., Ohnishi, T., Terasaka, S., Houkin, K., & Kondo, T. (2015). Ceacam1L modulates STAT3 signaling to control the proliferation of glioblastoma-initiating cells. *Cancer Res.* 75, 4224-4234.
2. Ohtsu, N., Nakatani, Y., Yamashita, D., Ohue, S., Ohnishi, T., & Kondo, T. (2016). Eval maintains the stem-like character of glioblastoma-initiating cells by activating the non-canonical NF-κB signaling pathway. *Cancer Res.* 76, 171-181.
3. Katayama, S., Moriguchi, T., Ohtsu, N., & Kondo, T. (2016). A powerful CRISPER/Cas9-based method for targeted transcriptional activation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 55, 6452-6456.

## 分子生体防御分野

教授 医学博士

高岡 晃教

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

### ● キーワード

自然免疫、感染、癌、インターフェロン



### 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

### ● 研究概要

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年ほど前のことでもあります。現在においても、人と微生物との攻防戦は未だに収束を迎えておりません。実際、近年にみられる麻疹/インフルエンザの流行や、SARSなどの新興ウイルスの出現が報告されているなど、病原微生物をコントロールするには至っていません。そのため感染症制御の問題は、社会的に必要性の高い重要な研究課題であると認識しております。当研究室では、このような問題に対して分子レベルでアプローチすることを進めております。

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。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。

### ● 研究内容及び成果

#### 病原体認識機構の解明

免疫システムは、病原微生物の侵入から生体を守り、生体の恒常性を維持する上で必須のシステムであり、大きく自然免疫と獲得免疫とに分けられる。このなかでも病原微生物を最初に『認識』する自然免疫システムは、免疫システムの活性化をスタートさせるといって非常に重要である。多くの研究成果によりこの病原体認識過程は、パターン認識受容体 (pattern recognition receptors; PRRs) が、病原体関連分子パターン (pathogen-associated molecular patterns; PAMPs) と呼ばれる宿主とは異なる微生物特有の核酸や脂質などの構成分子を認識することで生じることが明らかになった。ウイルス感染においてはウイルス由来の核酸 (RNA/DNA) が PAMPs となることが多い。これまで様々なウイルス感染において、図1で示すような核酸認識センサー分子やそのシグナル伝達経路が明らかにされつつある。当教室においては新規の核酸認識センサー分子の同定やそのシグナル伝達経路の制御機構について解析を進めている。

#### RIG-IはB型肝炎ウイルスに対しセンサータンパク質および直接的な抗ウイルスタンパク質としての2つの機能をもつ

ウイルスを排除するのに重要な宿主の免疫応答のうち、ウイルスの認識は重要な過程である。DNAウイルスであるB型肝炎ウイルスに対する認識機構や、その下流のシグナル伝達経路については、いまだ不明な点が多い。この研究において、我々はB型肝炎ウイルスに感染したヒトの肝細胞において、RIG-IがB型肝炎ウイルスのプレゲノムRNAにあるε構造を認識することにより、I型インターフェロンではなくIII型インターフェロンの発現を優先的に誘導するこ

### 分野所属教員

教	授	.....	高岡	晃教
助	教	.....	佐藤	精一
助	教	.....	亀山	武志
助	教	.....	山田	大翔

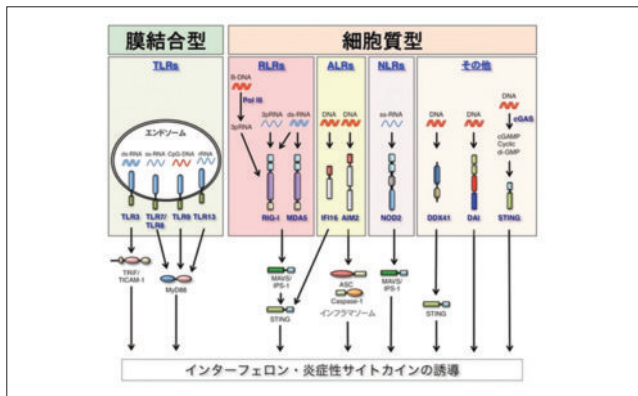


図1. インターフェロンや炎症性サイトカイン産生に関する主な核酸センサー：核酸認識に関与するパターン認識受容体は、大きく膜結合型と細胞質型の2つに大別される。細菌・ウイルス由来の核酸がセンサー分子認識されると、TRIF/TICAM-1、MyD88、MAVS/IPS-1、あるいはSTINGといった下流のアダプター分子を介して、I型・III型IFNやIL-6やTNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインが誘導される。TLRs: Toll-like receptors, RLRs: RIG-I-like receptors, NLRs: NOD-like receptors, ALRs: AIM2-like receptors, ds-RNA: double-stranded RNA, ss-RNA: single-stranded RNA, rRNA: ribosomal RNA, Pol III: RNA polymerase III, 3pRNA: 5'-triphosphate RNA, cGAMP: cyclic GMP-AMP。

とを見出した。さらに、RIG-IはB型肝炎ウイルスのポリメラーゼとプレゲノムRNAとの結合を阻害するという、直接的な抗ウイルスタンパク質としての機能をもつことも見出した。これらの結果にもとづき、ヒトの肝臓を移植したキメラマウスを用いたin vivoのB型肝炎ウイルス感染モデルにおいて、 $\epsilon$ 構造をもつRNAを肝臓に選択的に輸送させたところ、B型肝炎ウイルスの複製の抑制が認められ、 $\epsilon$ 構造をもつRNAの治療への応用の可能性が示唆された。今回の研究により、RIG-IはB型肝炎ウイルスに対し、センサータンパク質としてのみならず、直接的な抗ウイルスタンパク質としてもはたらくという2つの機能により、感染防御に機能していることが明らかにされた(図2)。

### ウイルス感染に対するインターフェロン(IFN)応答における芳香族炭化水素受容体(AHR)の新たな生理学的役割を同定

AHRはリガンドに依存して活性化する転写因子として機能し、ダイオキシンなどの毒性に関与します。しかしながら、ウイルスに感染したときの自然免疫応答におけるAHRの役割については不明な点が多くあります。私たちは、AHRの生理学的役割の新しい局面として、様々な種類のウイルスの感染時に誘導されるI型IFN応答を抑制することを見出しました。ウイルスの感染によるI型IFNsの産生の誘導はAHRを欠損させた細胞やマウスにおいて増強し、ウイルスの複製は抑制されました。この点においてAHRの下流で誘導されるADPリボシル化酵素であるTIPARP(TCDD-inducible poly(ADP-ribose) polymerase)がI型IFN応答の抑制に関与していることを見出しました。さらにメカニズムを追及したところ、各種自然免疫センサーを介するIFN産生経路において重要なリン酸化酵素であるTBK1にTIPARPが会合し、ADPリボシル化修飾を引き起

### Teaching Staff



助教 博士(生命科学) 佐藤 精一 | 助教 博士(歯学) 亀山 武志 | 助教 博士(医学) 山田 大樹

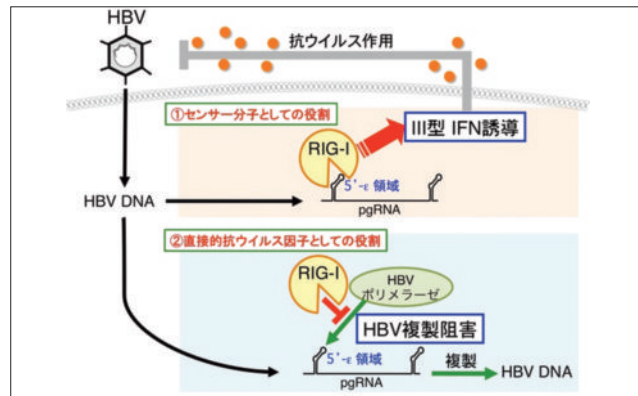


図2. B型肝炎ウイルスに対するRIG-Iの2つの機能 1) B型肝炎ウイルスのセンサータンパク質として、ウイルスの複製の過程においてB型肝炎ウイルスのDNAから転写されるプレゲノムRNAを認識し、III型インターフェロンの発現の誘導をつうじ抗ウイルス作用を發揮する。2) B型肝炎ウイルスに対する直接的な抗ウイルスタンパク質として、ウイルスの複製にかかわるB型肝炎ウイルスのポリメラーゼとプレゲノムRNAとの結合を直接的に阻害する。この2つの機能により、RIG-IはB型肝炎ウイルスに対する自然免疫による感染防御においてはたらく。

こすことでTBK1の活性が阻害されることを明らかにしました。このように今回の研究により、キヌレニンなどのトリプトファン代謝物がAHRを介してシグナルを細胞内へ伝達することにより、ウイルス感染時に、ウイルス由来のRNAやDNAといった核酸によって活性化されるRIG-IなどのRLRs(RIG-I-like receptors)やcGASなどの自然免疫系の核酸センサーを介するI型IFN産生誘導レベルを制御することを見出しました(図3)。本研究の重要な点は、AHRシグナルと自然免疫核酸センサーシグナルとの新しい関連性を見出し、その作用点であるTIPARPによるTBK1の活性制御は、これまでに報告のないADPリボシル化というタンパク質修飾を介していることを見出した点であり、このことは、定常状態(ウイルス感染前)から、ウイルス感染による過剰なIFN応答を抑え、有害な応答を引き起こさないための仕組みを備えていることを示唆しています。

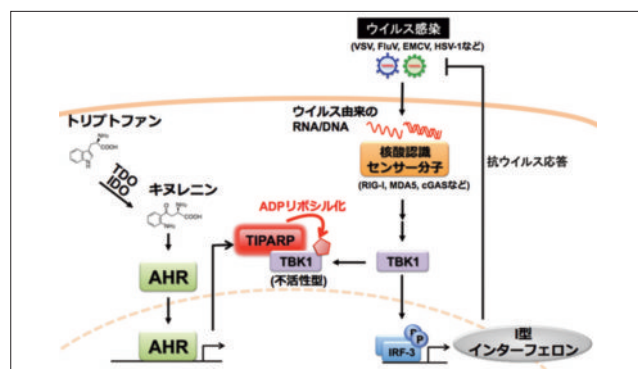


図3. 細胞がウイルス感染を受けると、細胞内の核酸認識センサーがウイルスの核酸(RNAやDNA)を認識し、TBK1を介してI型IFNsを産生することで、抗ウイルス応答を發揮します。トリプトファンの代謝産物(キヌレニンなど)によって活性化されるAHRは、TIPARPを発現誘導します。TIPARPはTBK1をADPリボシル化修飾することで阻害し、自然免疫応答が抑制されます。

### 平成26年7月~平成28年9月までの代表論文

- Constitutive aryl hydrocarbon receptor signaling constrains type-I-interferon-mediated antiviral innate defense. Yamada T., Horimoto H., Kameyama T., Hayakawa S., Yamato H., Dazai M., Takada A., Kida H., Bott D., Zhou AC., Hutin D., Watts TH., Asaka M., Matthews J., Takaoka A. Nat Immunol, 17, 687-694, 2016.
- The RNA Sensor RIG-I Dually Functions as an Innate Sensor and Direct Antiviral Factor for Hepatitis B Virus. Sato S, Li K, Kameyama T, Hayashi T, Ishida Y, Murakami S, Watanabe T, Iijima S, Sakurai Y, Watashi K, Tsutsumi S, Sato Y, Akita H, Wakita T, Rice CM, Harashima H, Kohara M, Tanaka Y, Takaoka A. Immunity, 42, 123-132, 2015.

## 分子神経免疫学分野

教授・医学博士

村上 正晃

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/neuroimmune/index.html>

### ● キーワード

炎症、臓器連関、NF- $\kappa$ B、STAT、神経、非免疫細胞、サイトカイン



### 研究課題

## 慢性炎症の分子機構と神経活性化による臓器機能連関の解析

### ● 研究概要

生体内の臓器はお互いに連携を取り合って機能しています。この臓器機能連関について、全身を走る神経の活性化による制御（ゲートウェイ反射）という切り口から研究を進め、正常時および病態形成時の臓器間相互作用の解明に取り組んでいます。また私たちは、多くの病気の根底にある慢性炎症の分子機構について、とくに非免疫細胞の役割に着目して研究を行っています。具体的には、下記の3項目について研究を行っています。これらを解明することで、「病は気から」の詳細な分子機構を解き明かしていきます。

1. 心理状態と病態の増悪・抑制機構の解明
2. 神経活性化による臓器機能連関（ゲートウェイ反射）の分子機構の解明
3. 組織特異的な新規炎症増強機構の解明

### ● 研究内容及び成果

#### ①心理状態と病態の増悪・抑制機構の解明

「病は気から」と古くから良く言われるように、心理状態や精神状態が健康と深く関連することは、例えばストレスが溜まると持病が悪くなる、風邪をひきやすいといったことから経験的にも知

られています。反対に、前向きな思考やストレス解消が、健康維持にプラスに働くことも知られています。しかしこれらのメカニズムはあまり理解されていません。私たちは、マウスの実験系を用いて、ストレス状態や快適な状態などがどのように慢性炎症疾患の病態に影響を与えるかを分子レベルで研究しています。実際に、過度のストレスが慢性炎症疾患の病態を悪化させるメカニズムを解明しつつあります（論文準備中）。この心理状態や精神状態の変化は、各種臓器の機能調節にも関与していて、次の項目と並行して、神経の活性化という視点から「病は気から」を解明していきます。

#### ②神経活性化による臓器機能連関（ゲートウェイ反射）の分子機構の解明

生体内の臓器はお互いに連携を取り合って機能しています。この臓器機能連関について、神経の活性化による制御という切り口から研究を進め、正常時および病態形成時の臓器間相互作用の解明に取り組んでいます。ホルモンを介した全身的な臓器制御は古くから研究されている一方で、神経活性化による局所的な制御はあまり知られていません。私たちは以前に、局所神経の活性化が特定の血管の状態を変化させる分子機構を発見し、これを「ゲートウェイ反射」と命名しました。現在3つのゲートウェイ反射を報告しています。重力ゲートウェイ反射は、重力からの感覚神経-交感神経の活性化にて第5腰髄背側血管の内皮細胞周囲にてノルアドレナリン産生が促進され、それにより炎症回路が増強し、局所で血液脳関門が破壊されて免疫細胞の中枢神経系へのゲートが形成されるようになります（図1）。この作用は人為的な電気刺激によって再現可能であり、筋肉への電気刺激がその部位に相当する特定の血管に免疫細胞ゲートを形成させます（電気ゲートウェイ反射）。さらに、痛みによる神経活性化が、第5腰

#### 分野所属教員

教	授	.....	村	上	正	晃
講	師	.....	上	村	大	輔
助	教	.....	有	馬	康	伸
特	任	助	熱	海		徹

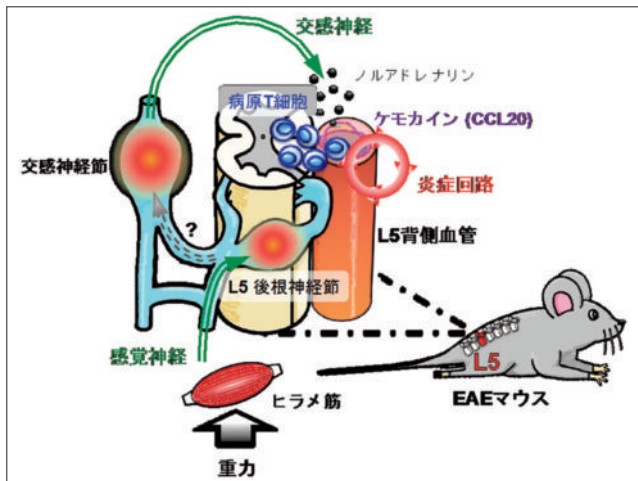


図1. 重力ゲートウェイ反射

重力刺激によるヒラメ筋の活動性の上昇は、感覚神経の緊張を誘導して第5腰椎 (L5) 横の後根神経節を活性化し、その後、近傍の交感神経節の活性化が誘導されます。L5 背側血管にて活性化された交感神経末端からノルアドレナリンが分泌されて NF-κB が過剰に活性化、CCL20 などのケモカインが相乗的に発現するようになります (炎症回路、サブタイトル④参照)。血中に過剰量の中枢神経系抗原を認識する病原 T 細胞が存在する場合、この部位から中枢神経系に侵入し、炎症を介して病態 (EAE) を誘導することが明らかになりました。

髄腹側血管への免疫細胞ゲートを作り出し、中枢神経系の病態を再発させる痛みゲートウェイ反射を報告しています。神経は全身をくまなく走っているので、ゲートウェイ反射研究は、現代社会の精神ストレスなどが種々の疾患に関与する分子機構や臓器間の機能調節の伝達機構を説明できる可能性があり、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ます。

### ③ 組織特異的な新規炎症増強機構の解明

近年、慢性炎症が自己免疫疾患やアレルギーばかりではなく、神経変性疾患やメタボリック症候群など様々な病気に関与することが明らかになっています。このことは、慢性炎症の分子機構を解明することによって多くの病気の克服に貢献できることを意味します。炎症反応は、免疫細胞と標的の臓器を構成する非免疫細胞との相互作用の結果生じるものですが、多くの研究が免疫細胞に着目しています。私たちは独自の視点として、血管内皮細胞や線維芽細胞といった非免疫細胞に注目し、その機能解析から組織特異的な炎症増強機構の解明に取り組んでいます。非免疫細胞において、IL-17、IL-6 や TNFα などの炎症性サイトカイン刺激によって転写因子 NF-κB と STAT が同時活性化すると、ケモカイン

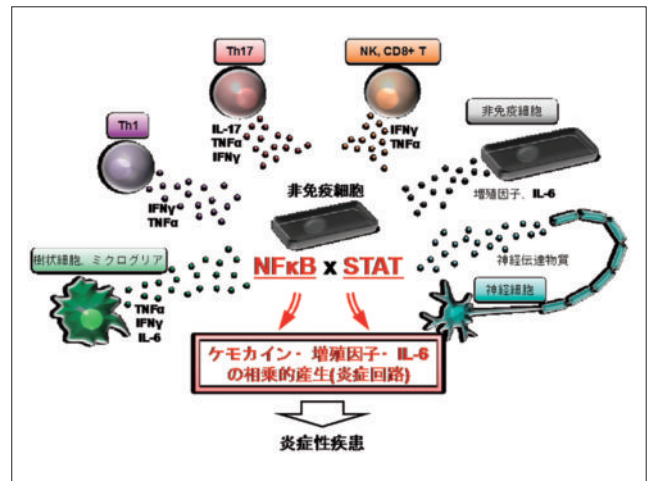


図2. 非免疫細胞でのケモカイン、増殖因子の相乗的産生機構

非免疫細胞において、NF-κB と STAT の同時活性化により、種々のケモカイン、増殖因子や IL-6 といった炎症性因子の産生が相乗的に上昇する現象 (炎症回路) を見出しました。IL-17、IL-6、TNFα などのサイトカインだけでなく、増殖因子、神経伝達物質の刺激によってもケモカイン、増殖因子や IL-6 の相乗的産生が増強されます。

ンや増殖因子などの炎症性因子の産生が相乗的に増強される現象 (炎症回路) を私たちは発見しました (図 2)。NF-κB 刺激が主信号として、STAT 信号は炎症回路を維持するための副信号 (燃料) のように機能します。現在までの解析から、NF-κB 活性化増強による炎症性因子の相乗的産生は、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ます。また様々なヒトの臨床検体においても NF-κB と STAT の同時活性化の証拠が得られています。この炎症性因子の相乗的産生を分子的に理解するために、RNA 干渉法を用いたゲノムワイドスクリーニングを行いました。これにより、1000 を超える遺伝子が、相乗的産生に必要であることが分かりました。また、DNA アレイ実験を行い、NF-κB と STAT の同時活性化によって相乗的産生される 500 以上の分子群を同定しました。これらの分子群がどのように機能するかを詳細に分子レベルで研究することで、慢性炎症の分子機構が明らかになることが期待されます。また、腎臓、関節、皮膚など、組織によって構成される細胞群が異なるように、相乗的に産生される炎症性因子の種類も組織の種類によって異なることが分かってきました。この分子機構を解明することで、標的組織に特異的な治療法やバイオマーカーの開発に結びつくことが期待されます。

### Teaching Staff



講師・医学博士  
上村 大輔



助教・理学博士  
有馬 康伸



特任助教・医学博士  
熱海 徹

### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. Meng, J., et al. BCR-mediated inflammation is dependent on casein kinase II. *J. Immunol.* 197(8), 3111-3119, 2016
2. Arima, Y., et al. A pain-mediated neural signal induces relapse in multiple sclerosis models. *eLife* 4: e08733, 2015
3. Kamimura, D., et al. KDEL receptor 1 regulates T-cell homeostasis via PP1 that is a key phosphatase for ISR. *Nat. Commun.* 6, 7474, 2015

## 癌生物分野

教授・医学博士

野口 昌幸

[http://www.igm.hokudai.ac.jp/hu\\_ifgm\\_cb/index.html](http://www.igm.hokudai.ac.jp/hu_ifgm_cb/index.html)

### ● キーワード

癌、細胞死、アポトーシス、AKT



### 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

### ● 研究概要

私たちの研究室では、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の解明に向けて研究を進めています。特にセリンスレオニンキナーゼ AKT 分子を中心とした細胞内シグナル伝達に注目し、その制御の破綻ががんや免疫不全症などのヒトの疾病の病態にの背景となっているか。セリンスレオニンキナーゼ AKT は悪性腫瘍をはじめ糖代謝異常、自己免疫疾患など様々な疾病の原因となっていることが知られています。

私たちは、これまでにプロトオンコジンは T cell leukemia/lymphoma 1) が AKT と結合「AKT 活性化補助因子」であることを解明、ヒトリンパ芽球性 T 細胞白血病の発症の分子機構を明らかにしました (Laine et al, *Mol Cell* 2000)。また、AKT-TCL1 の構造と機能の解析に基づいて開発された AKT 阻害剤「Akt-in」は新規抗がん治療薬さらにインフルエンザ治療薬として期待されています (Hashimoto et al., *Oncogenesis* 2013; Hirata et al, *BBRC* 2013; Matsuda et al., *BBRC* 2011, Hiro-mura et al., *JBC* 2004; 国際特許 2004-134583; United States Patent Application 20120034651)。

私たちは新規 AKT 特異的 E3 ユビキチンリガーゼ TTC3 (tetra-ricopeptide repeat domain 3) を同定、TTC3 が活性型 AKT のプロテアソームによる分解を促進し、人類最多の遺伝子異常であるダウン症の多彩な病態発現における重要な役割を明ら

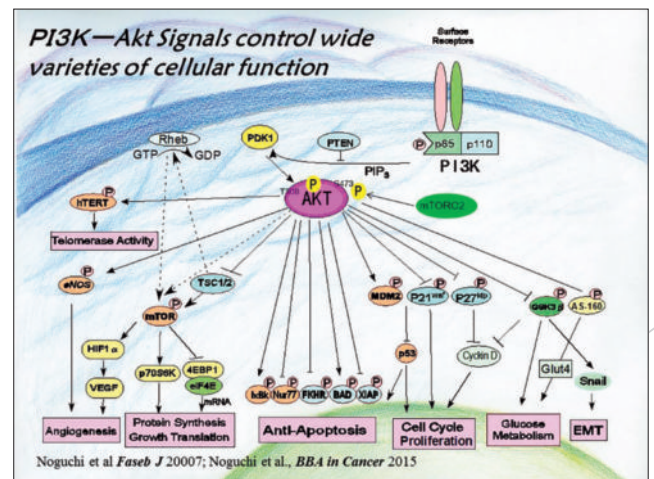


図 1. AKT シグナル伝達系による多彩な細胞反応の制御機構

AKT シグナル伝達系は PI3K による膜リン脂質のリン酸化を介して活性化され細胞死 (アポトーシス) 制御の要として知られる。活性化された 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。

かにした (Suizu et al. *Dev Cell* 2009)。

またリゾソームでのタンパク分解系であるオートファジー研究を進め、Phafin2-AKT 複合体が膜リン脂質 PI(3)P 依存的にリゾソームへの移行がオートファジー誘導に必須であることを明らかにした (Matsuda et al., *Plos one* 2014; Noguchi et al., *Biochim Biophys Acta Cancer* 2014; Noguchi et al., *Austin Med J* 2015)。

最近、我々は AKT と Inversin の結合が一次繊毛 (primary cilia) の正常な伸長、細胞分裂、ひいては腎臓の正常な発達に重要な役割を担っていることを解明し、重症小児腎不全の一つである常染色体劣性多発性腎のう胞症の病態発現の分子機構として関与していることを示し、新しい治療方針開発への布石を得た (Suizu et al., *EMBO J* 2016)。

### 分野所属教員

教 授	野 口 昌 幸
准 教 授	水 津 太
助 教	平 田 徳 幸

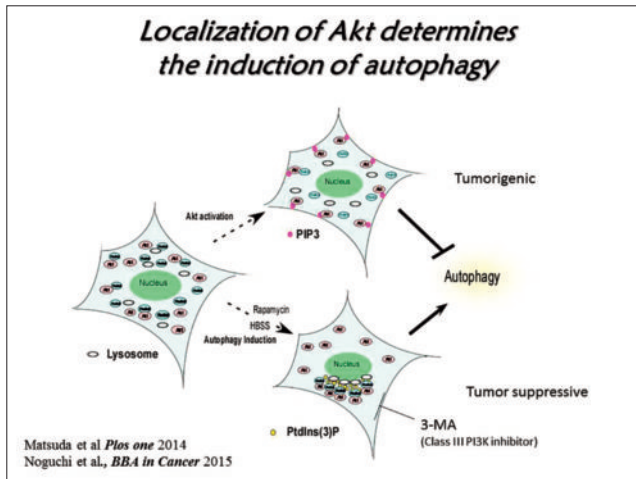


図 2. Phafin2-AKT 複合体によるオートファジーの制御

私たちは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上の膜リン脂質 PI(3)P 依存的にリソソームに移行、細胞内での AKT の lysosome への局在がオートファジーの誘導を制御している可能性を示唆している。

このように我々は AKT を介して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ち、さらに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さらに治療法を開拓に向けて研究を進めています。

## ● 研究内容及び成果

### プロトオンコジン TCL1、TCL1B による AKT 活性化

我々がその機能を解明した「AKT 活性化補助因子」であるプロトオンコジン TCL1 にはアミノ酸レベルで高い相同性を持つ同属の TCL1B が存在することが知られている。しかし TCL1B の生物学的な機能は明らかではなかった。これまでに我々はプロトオンコジン TCL1 が AKT キナーゼを活性化する「AKT 活性化補助因子」であることを示し、ヒトリンパ性白血病の分子機構を明らかにした (Laine et al., *Mol. Cell* 2000; Noguchi et al., *FASEB J* 2007)。また TCL1B の誘導遺伝子を網羅的に解析、その発現過剰発現のマウスモデルを作製、Akt を活性化による血管肉腫を発症すること、我々の国際特許である AKT 活性阻害剤 Akt-in により抗腫瘍効果があることを示した (Hiromura et al., *JBC* 204; Hashimoto et al., *Oncogenesis*, 2013)。

### Teaching Staff



准教授・理学博士  
水津 太



助教・博士 (医学)  
平田 徳幸

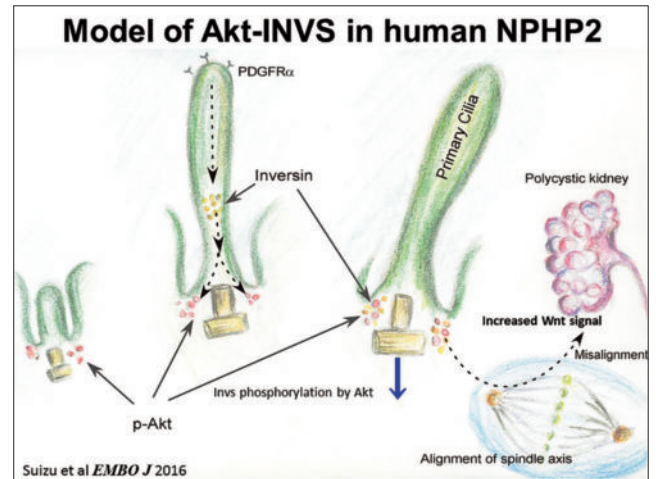


図 3. 1 次繊毛は細胞の多彩な細胞反応を制御すること知られ、その機能異常が様々な疾病 (繊毛病) の原因となっている。我々はヒト家族性腎嚢胞症 (NPHP2) における変異遺伝子である Inversin が AKT と結合、その発症の分子機構として重要な働きをしている可能性を掴んだ。

### AKT によるオートファジーの制御の仕組みの解明

オートファジーは細胞が持っている自食とも呼ばれる細胞内のタンパク質を分解するための仕組みである。これまで AKT シグナルを介したオートファジーの制御機構の詳細は不明でした。我々はオートファジー誘導時に新規 AKT 結合因子としてリソソーム蛋白 Phafin2 を同定した。Phafin2 は AKT を膜リン脂質 PI(3)P 依存的にリソソームに誘導、オートファジーによるタンパク分解系の誘導に必須であることを証明しました。本研究成果は発がんに関わるウイルス感染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ると考えている (Matsuda-Lennikov et al., *PLOS ONE*, 2014; Noguchi et al., *Biochim Biophys Acta Cancer* 2014; Noguchi et al., *Austin Med J* 2015)。

1 次繊毛 (primary cilia) は哺乳動物細胞の細胞周期の G0 期に同期して細胞外に伸長する毛状の構造物で、オートファジー、細胞周期などを含めた細胞外のシグナルのセンサーとして機能している。我々は AKT が重症小児腎不全の原因である常染色体劣性性多発性腎のう胞症の原因遺伝子であるシリアに存在する Inversin を一次繊毛基部において結合、リン酸化、その結果、一次繊毛の正常な伸長、細胞分裂、ひいては腎臓の正常な発達に重要な役割を担っていることを解明、新たな治療方針開発への布石を得た (Suizu et al., *EMBO J* 2016; Suizu et al. *Cell Communication Insights* 2016)。

### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. F. Suizu, N. Hirata, K. Kimura, T. Edamura, T. Tanaka, S. Ishigaki, H. Noguchi, T. Iwanaga and M. Noguchi, Phosphorylation dependent Akt-Inversin interaction at the ciliary pocket of primary cilia. *EMBO J.*, 35, 12, 1346-1363, 2016
2. F. Suizu, N. Hirata, S. Ishigaki, T. Edamura, K. Kimura, T. Tanaka and M. Noguchi, Primary cilium-mediated crosstalk of signaling cascades in ciliogenesis: Implications for tumorigenesis and senescence. *Cell Communication Insights*, 2016: 8 13-24
3. M. Noguchi, N. Hirata, T. Edamura, S. Ishigaki, F. Suizu, Intersection of Apoptosis and Autophagy Cell Death Pathways. *Austin Journal of Molecular and Cellular Biology*, 1004, 2, 2015

## 感染症態分野

准教授・医学博士

澤 新一郎



### ● キーワード

粘膜免疫、リンパ組織形成、自然リンパ球、ストローマ細胞

### 研究課題

①免疫現象における3型自然リンパ球機能の解明②リンパ組織構築に関する分子機構の解明③新生仔細菌叢形成メカニズムの解明

### ● 研究概要

①近年新規に同定されたリンパ球（3型自然リンパ球=ILC3）の生体内可視化や特異的遺伝子欠損モデルを用い、3型自然リンパ球の生体内機能や動態制御に関わる分子基盤の解明と、細胞間ネットワークを解明する。さらに、炎症性腸疾患等の腸管免疫異常でILC3が果たす役割について解明する。

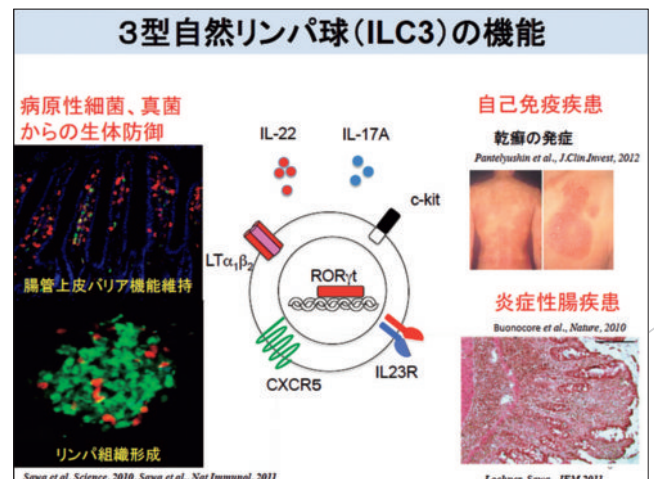
②粘膜関連リンパ組織（GALT）やリンパ節、骨髄の初期形成機構や、外来抗原取込み機構を解明し、新規ワクチン開発、人工リンパ組織の開発、造血組織の効果的な再構築を目指す。

③哺乳類の新生仔腸管に存在する初期免疫細胞と腸内細菌叢の関連性をマウスモデルで証明し、哺乳類の腸内細菌叢が選択的に形成されるメカニズムを解明する。

### ● 研究内容及び成果

#### 免疫現象における3型自然リンパ球機能の解明

ROR $\gamma$ tはRORファミリーに属する核内受容体であり、IL-17やIL-22、GM-CSF等のTh17型炎症性サイトカイン産生に必須の転写因子として機能する。これまで私はROR $\gamma$ tのレポーターマウスを作出し（Lochner, Sawa, *JEM*, 2008）、マウスの腸管粘膜固有層にはROR $\gamma$ t陽性の新規自然免疫系リンパ球（3型自然リンパ球=ILC3）が存在し、粘膜上皮バリア機構の維持に重要な役割を果たすことを世界に先駆けて発見してきた（Sa-



toh-Takayama, Sawa, *Immunity*, 2008, Sawa et al., *Science*, 2010)。これら ROR $\gamma$ t 陽性非 T 細胞性リンパ球は国際的なコンセンサスを得て、ROR $\gamma$ t 陽性自然リンパ球（後に3型自然リンパ球=ILC3）と命名された。ILC3は健康人の腸管粘膜のみならず、クローン病、潰瘍性大腸炎患者の病変部で Th17 型サイトカインを強く発現することも明らかになっており、腸管慢性炎症との関連性が注目されている（Germina, *JEM*, 2011）。しかし、ILC3が炎症性腸疾患に予防的または促進的に作用するかこれまでの研究では明らかになっていない。本研究では、(i) ILC3 特異的に細胞死を誘導する新規遺伝子改変マウスを作成し、生体内における ILC3 特異的な機能の解明を行う。(ii) 生体内における ILC3 と樹状細胞や間葉系ストローマ細胞との時空間的位置関係を解明し、ILC3 細胞ネットワークを対象とした新規 Th17 型免疫制御法の開発を目指す。

#### リンパ組織構築に関する分子機構の解明

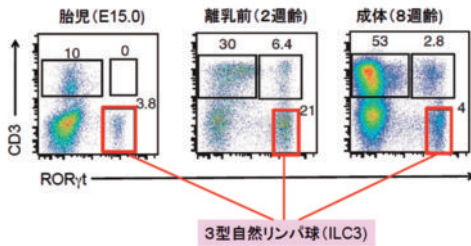
リンパ節は哺乳類特有の免疫器官であり、抗原流入路となるリンパ管や高内皮静脈（HEV）と呼ばれる脈管系、集簇するリンパ球毎に分

#### 分野所属教員

教授（兼任）……………高岡 晃 教  
准 教 授……………澤 新 一 郎  
助 教……………住 谷 瑛 理 子



## 新生仔腸管には3型自然リンパ球が多数存在



仮説:3型自然リンパ球が新生児の様々な疾患に関わっているのではないかな?

Sawa et al., Nat Immunol, 2011

画化された領域から構成される高次構造物である。マウスでは胎生13.5日以降にオーガナイザー細胞とよばれる間葉系細胞 (Lymphoid Tissue organizer=LTo 細胞) がリンパ節予定領域に出現し、リンパ節発生が開始されることが知られている。LTo 細胞はケモカイン CXCL13 や TNF ファミリーサイトカイン RANKL を発現し、成体リンパ節における間葉系ストローマ細胞の一種、Marginal Reticular Cell (MRC) との機能的相同性を持つことから MRC の前駆細胞ではないかと考えられてきた (Katakai, J.Immunol, 2008)。

リンパ節分画内の間葉系細胞に対する基礎的知見の蓄積、特に真の LTo 細胞の同定に基づいたリンパ節形成機構の解明は、免疫応答の足場に関する空間的理解を深め、人工リンパ節の構築技術開発や癌細胞のリンパ節転移メカニズムの解明という、医療上の重要課題の解決に繋がると期待されている (Suematsu, Nat Biotechnology, 2006)。しかし、「LTo 細胞が成体リンパ節 MRC の前駆細胞である」との仮説に対する生体レベルでの検証や LTo 細胞の機能的な不均一性、分化ヒエラルキーの存在は十分に行われておらず、生体リンパ節の高次構造を再現した人工リンパ節の開発や、リンパ節の構造変化を目的とした免疫応答の制御はこれまでの研究で実現していない。

本研究では、哺乳動物特有の免疫器官であるリンパ節の初期形成に関わる LTo 細胞を 1 細胞レベルで同定し、リンパ節形成に関わる分子基盤や細胞間ネットワークの解明をマウス生体レベルで試みる。具体的には、生体内位置情報や遺伝子情報を保持したままリンパ節ストローマ細胞の性状や機能をトランスクリプトームレベルで解析し、極限の分解能でストローマ細胞の欠失または遺伝子機能の欠損を目的とした動物モデルを作成することで、特定のストローマ細胞機能を個体表現型と結びつける新規研究手法の開発に挑戦する。申請者自身がこれまでの研究で実績を積み上げてきた CRISPR/Cas9 システムは短期

## Teaching Staff



教授 (兼任)・医学博士  
高岡 晃教



助教・医学博士  
住谷 瑛理子

間かつ低予算によるノックインマウスの作成の可能であり、本研究所への技術導入を検討している。

## 新生仔細菌叢形成メカニズムの解明

近年の腸内細菌ゲノムの網羅的解析から、関節リウマチ、多発性硬化症等の自己免疫疾患や糖尿病等の代謝性疾患発症に果たす腸内細菌の役割がクローズアップされてきた。新生児期は腸内細菌叢形成と宿主免疫系の開始点を理解するうえで極めて重要な時期と考えられるが、哺乳類の腸内細菌叢形成メカニズムはこれまでほとんど明らかになっていない。また、新生児期の腸内細菌叢異常が思春期以降に発症する炎症性腸疾患の発症要因になる可能性についてもこれまでの研究で明らかになっていない。

申請者らを含む複数の研究グループによってヒトおよびマウス粘膜組織内に抗原受容体を持たないリンパ球群が同定され、自然リンパ球と命名された。自然リンパ球のうち、核内受容体 ROR $\gamma$ t を発現する自然リンパ球は 3 型自然リンパ球 (ILC3) とよばれ、腸管上皮細胞の生存や抗菌ペプチド産生に重要なインターロイキン 22 (Interleukin=IL-22) を強力に産生する。興味深いことに、マウス新生仔腸管においては、獲得免疫系の細胞に先立ち、ILC3 が腸管粘膜固有層に出現する。生直後の新生仔腸管において ILC3 は主要なリンパ球であり、IL-22 を恒常的に産生している。以上から、ILC3 こそが腸管上皮機能の維持や細菌叢の選択に重要な役割を果たす細胞群であるとの仮説を立てるに至った。

本研究では、ILC3 や ILC3 に対する機能制御作用を持つ IL-23 産生樹状細胞がマウス新生仔腸内細菌叢の形成に果たす役割を明らかにし、腸内細菌叢の錯乱が免疫異常の原因となり得るか、ILC3 特異的に細胞死を誘導する遺伝子改変マウスを用いて検証する。具体的には ILC3 を除去後のマウス新生仔腸管において以下の 5 項目の研究を計画している。

- 腸内細菌叢の検討
- ILC3 が腸管獲得免疫系に与える影響の検討
- 新生児期腸内細菌が腸炎発症に与える影響の検討
- 新生児期腸内細菌が成体マウス実験的脳脊髄炎に与える影響
- 変容した新生仔腸内細菌叢における病原性の検討

本研究の成果を足がかりとし、ヒトの新生仔腸内細菌叢が形成されるメカニズムが解明できれば、腸内細菌を標的とした免疫系のデザインが可能となり、炎症性腸疾患や自己免疫疾患、代謝異常等、思春期以降に発症する様々な免疫関連疾患の発症予防が期待できる。本研究課題は日本医療研究開発機構の革新的先端研究開発支援事業「宿主と微生物叢間クロストーク・共生の解明と健康・医療への応用」の課題として採択されている。

## 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

- Lynett Danks, Noriko Komatsu, Matteo M Guerrini, **Shinichiro Sawa**, Marietta Armaka, George Kollias, Tomoki Nakashima and Hiroshi Takayanagi. RANKL expressed on synovial fibroblasts is primarily responsible for bone erosions during joint inflammation. *Ann Rheum Dis*. 75(6): 1187-95.(2016)
- Matteo M. Guerrini M., Kazuo Okamoto, Noriko Komatsu, **Shinichiro Sawa**, Lynett Danks, Josef M. Penninger, Tomoki Nakashima, Hiroshi Takayanagi, Inhibition of the TNF family cytokine RANKL prevents autoimmune inflammation in the central nervous system. *Immunity*, 43, 6: 1174-1185 (2015)
- Noriko Komatsu, Kazuo Okamoto, **Shinichiro Sawa**, Tomoki Nakashima, Masatsugu Oh-Hora, Tatsuhiko Kodama, Sakae Tanaka, J.A. Bluestone and Hiroshi Takayanagi, Pathogenic conversion of Foxp3<sup>+</sup> T cells into T<sub>H</sub>17 cells in autoimmune arthritis. *Nat. Med.* 20: 62-68 (2014)

## 分子腫瘍分野

教授・医学博士

藤田 恭之

[http:// www.igm.hokudai.ac.jp/oncology/](http://www.igm.hokudai.ac.jp/oncology/)

### ● キーワード

癌、細胞競合、上皮細胞



### 研究課題

## 癌細胞と正常上皮細胞との相互作用

### ● 研究概要

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

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

影響を与えていることを示しています。これらの研究は非常に新奇なものであり、現在多くの研究者たちの注目を集めつつあります (*Nature*, Research Highlight, 2010, vol 463 など)。

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

### ● 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なりました。filamin の *Src* 変異細胞への

### 分野所属教員

教 授	.....	藤 田 恭 之
助 教	.....	昆 俊 亮
助 教	.....	丸 山 剛
特 任 助 教	.....	釜 崎 と も 子
特 任 助 教	.....	大 庭 賢 二
特 任 助 教	.....	掛 布 真 愛

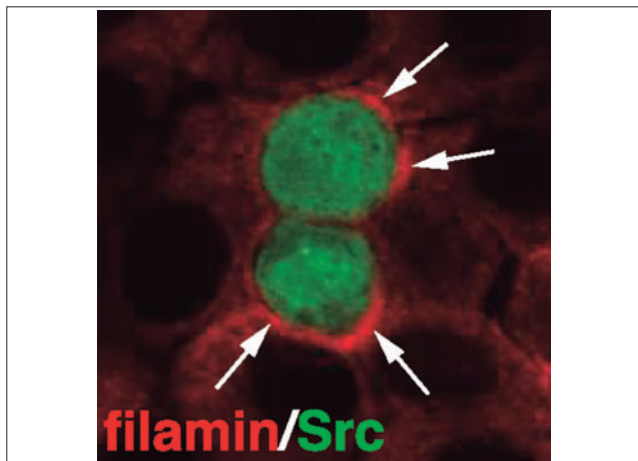


図 1. Src 変異細胞に隣接する正常上皮細胞内での filamin 集積 (矢印)  
(赤: filamin 染色、緑: Src 変異細胞)

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。

### 細胞競合モデルマウスの開発

これまでに述べてきたような細胞競合現象が、実際に哺乳動物の生体内で起こっているかは今まで明らかになっていませんでした。このような背景より私たちは、細胞競合モデルマウスの開発に取り組みました。タモキシフェン誘導性の Cre-loxP システムを採用し、マウス腸管上皮細胞特異的に活性化型 K-Ras 遺伝子を発現する Villin/Cre<sup>ERT</sup>; LSL/K-Ras V12-eGFP マウスを作成いたしました。このマウスに投与するタモキシフェンの量を調節することにより、腸管上皮細胞層でモザイク状に変異細胞を発生させることが出来る *in vivo* 細胞競合

### Teaching Staff



助教・生命科学博士  
昆 俊亮



助教・理学博士  
丸山 剛



特任助教・理学博士  
釜崎ともし



特任助教・医学博士  
大庭 賢二



特任助教・医学博士  
掛布 真愛

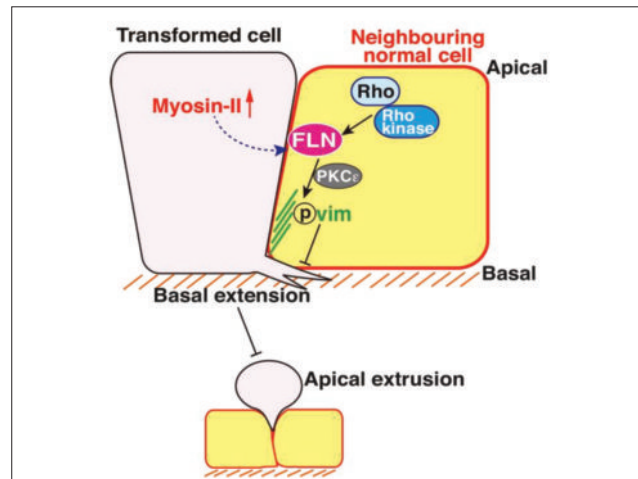


図 2. EDAC の分子メカニズム

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。

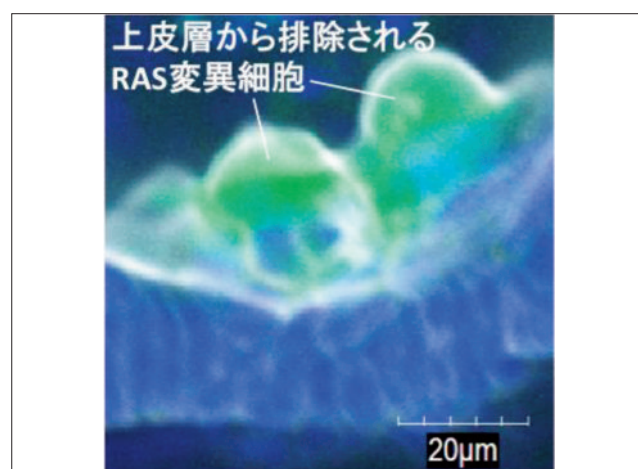


図 3. 腸陰窩での細胞競合

Ras 変異が誘導された腸管上皮細胞は管腔側へ逸脱する

モデル、さらには器官培養法を用いて試験管培養にて作製した腸陰窩 (腸管オルガノイド) に同様の方法でモザイク変異を導入するという *ex vivo* 細胞競合モデルの開発に成功いたしました。これらの実験系において、K-Ras 変異が誘導された変異細胞は細胞非自律的に管腔側へと逸脱する様子が観察されました。これらのことから、我々は世界初となる細胞競合マウスモデルの開発に成功し、発がんに対する生理的防御機構である細胞競合が哺乳動物の生体内でも起こることを明らかにしました。今後、この細胞競合モデルマウスを最大限活用することにより、超初期の発がん機構の解明や従来とは異なる新規がん予防・診断・治療法の開発に向けて重要なツールとなることが期待されます。

### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. Kajita M., Sugimura, K., Ohoka, A., Burden, J., Sukanuma, 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., and **Fujita, Y.** (2014) Filamin acts as a key regulator in epithelial defence against transformed cells. *Nature Communications*, 5: 4428
2. Ohoka, A., Kajita, M., Ikenouchi, J., Yako, Y., Kitamoto, S., Kon, S., Ikegawa, M., Shimada, T., Ishikawa, S., and **Fujita, Y.** (2015) EPLIN is a crucial regulator for extrusion of RasV12-transformed cells. *Journal of Cell Science*, 128, 781-789.
3. Yamauchi, H., Matsumaru, T., Morita, T., Ishikawa, S., Maenaka, K., Takigawa, I., Semba, K., Kon, S. & **Fujita, Y.** (2015) The cell competition-based high-throughput screening identifies small compounds that promote the elimination of RasV12-transformed cells from epithelia. *Scientific Reports*, 5: 15336. doi: 10.1038/srep15336.

## 免疫生物分野

教授・医学博士

清野 研一郎

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/Immunobiology-Web/Home.html>

### ● キーワード

がん、移植、再生、多能性幹細胞



### 研究課題

## がんと移植・再生に関する基礎医学的研究

### ● 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、がん幹細胞と免疫反応の関連、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。

### ● 研究内容及び成果

#### 多能性幹細胞を用いた新しい免疫制御法の開発

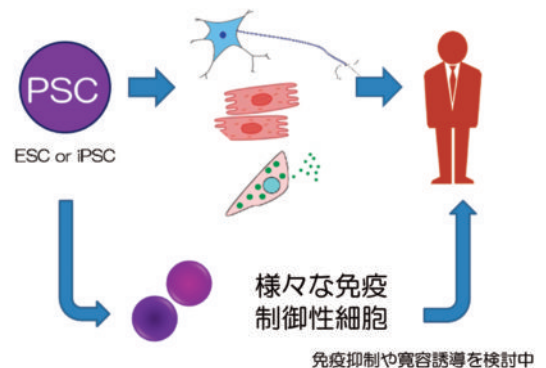
近年、ES細胞やiPS細胞といった多能性幹細胞を用いた細胞移植医療の開発が期待されている。一方、その際に起こる免疫反応（拒絶反応）についてはあまり大きな関心は払われてい

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、さらに有効な細胞の誘導を目指し、研究を続けている。

#### がん細胞が産生するIL-34の重要性

我々は最近、抗がん剤耐性になったがん細胞がIL-34を産生し、周囲に免疫抑制性M2マクロファージを呼び寄せる事を発見した。また、それだけでなく、自分自身もCSF-1Rを発現し自分自身に働き、AKTシグナルを活性化する事で生存

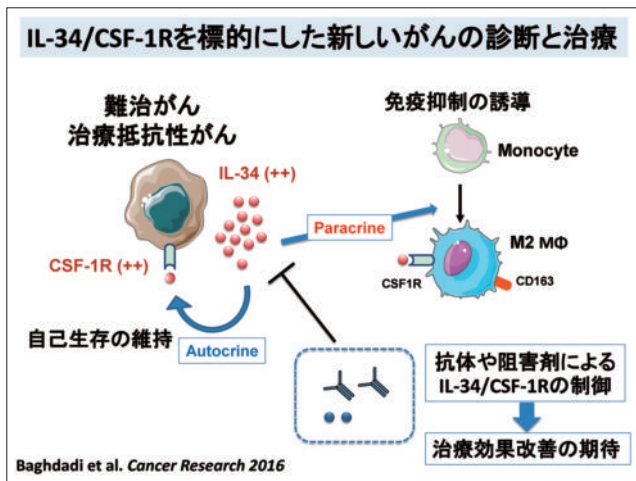
#### 他人由来の多能性幹細胞から分化した細胞の移植に伴う免疫抑制



多能性幹細胞からのめん絵制御性細胞の誘導と応用

#### 分野所属教員

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



がんにおける IL-34 の役割

を助けている事を見出した。実際、マウスにおける実験で IL-34 の働きを阻害すると腫瘍の生着を抑制した。今後、様々ながん腫で同様の現象が見られるかどうか検証する。

**Teaching Staff**



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

**平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編**

1. Baghdadi M, Wada H, Nakanishi S, Abe H, Han N, Putra WE, Endo D, Watari H, Sakuragi N, Hida Y, Kaga K, Miyagi Y, Yokose T, Takano A, Daigo Y, Seino K. Chemotherapy-induced IL-34 enhances immunosuppression by tumor-associated macrophages and mediates survival of chemoresistant lung cancer cells. *Cancer Research* (2016) 15, 76 (20): 6030-6042.
2. Kanda M, Yamanaka H, Kojo S, Usui Y, Honda H, Sotomaru Y, Harada M, Taniguchi M, Suzuki N, Atsumi T, Wada H, Baghdadi M, Seino K. Transcriptional regulator Bhlhe40 works as a cofactor of T-bet in the regulation of IFN- $\gamma$  production in iNKT cell. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America (PNAS)* 2016 May 25. pii: 201604178. [Epub ahead of print]
3. Miyawaki S, Kawamura Y, Oiwa Y, Shimizu A, Hachiya T, Bono H, Koya I, Okada Y, Kimura T, Tsuchiya Y, Suzuki S, Onishi N, Kuzumaki N, Matsuzaki Y, Narita M, Ikeda E, Okanoya K, Seino K, Saya H, Okano H, and Miura K. Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats. *Nat Commun* 2016 May 10; 7: 11471. doi: 10.1038/ncomms11471.

## 疾患モデル創成分野

助教・薬学博士

森岡 裕香

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/dmi/top.html>

### ●キーワード

遺伝子改変動物、遺伝子工学、発生工学、胎盤、周産期障害



### 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

### ●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・治療法の実現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

#### 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 システムを利用して、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。

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

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

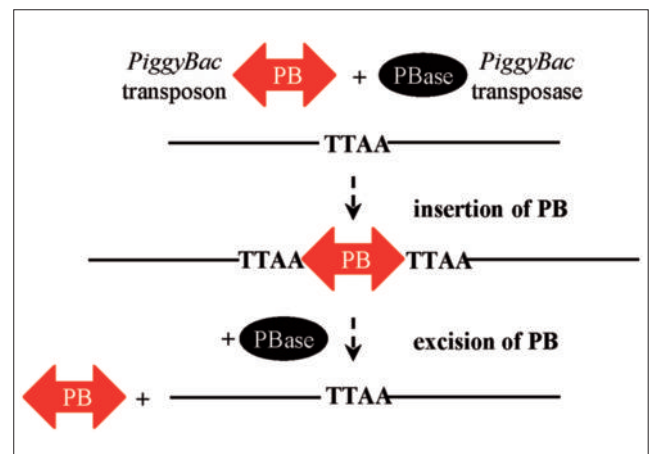


図1. PBは転移酵素の存在下、TTAAT配列を認識してゲノム中に挿入される。ゲノム中のPBは転移酵素の働きで再び切り出され、別の部位へ転移する。PBが切り出された後のゲノム配列は完全に元通りになり、痕跡が一切残らない。

分野所属教員

助教・薬学博士……………森岡 裕香

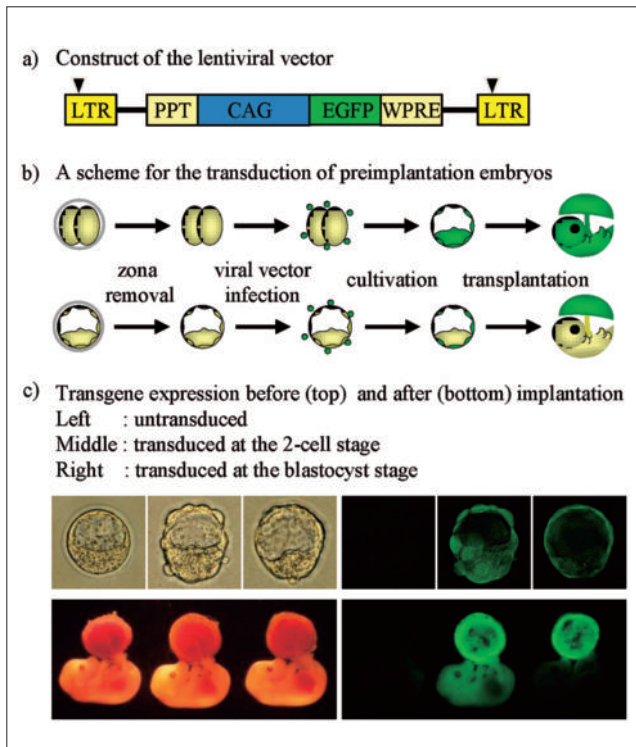


図2. レンチウイルスベクターを2細胞期胚に感染させると胎児と胎盤の両方に遺伝子が導入されるが、胚盤胞期胚に感染させると外側の栄養外胚葉層のみにウイルスが感染し、結果として胎盤特異的に遺伝子が発現する。

### 周産期障害モデルマウスの開発と解析

妊娠時や分娩前後の周産期には母児ともに劇的な変化に直面し、様々な障害が起こりやすい。その病因病態は多岐にわたるが、適当なモデル動物が存在しないことも一因となって分子メカニズムの解明は進んでいない。本分野では、独自のスクリーニングで見出した胎盤機能関連遺伝子をノックアウトすることで、周産期母仔に複数の異常を呈する疾患モデルマウスの開発に成功している。このマウスを詳細に解析することで、周産期障害の原因究明や予防・診断・治療法開発に向けた研究を遂行している。

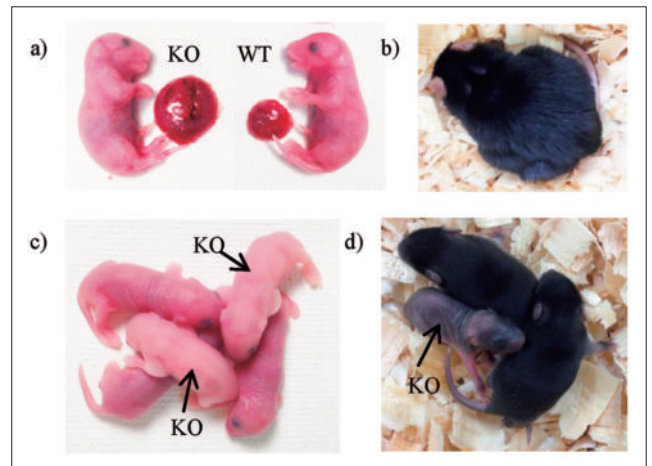


図3. 遺伝子Xを欠損したマウスは複数の周産期障害を呈する。a) 胎盤肥大、b) 分娩異常、c) 新生仔貧血、d) 発達遅延と新生仔期致死

### 平成26年7月～平成28年9月までの代表論文3編

1. INAM Plays a Critical Role in IFN- $\gamma$  Production by NK Cells Interacting with Polyinosinic-Polycytidylic Acid-Stimulated Accessory Cells  
Kasamatsu J, Azuma M, Oshiumi H, Morioka Y, Okabe M, Ebihara T, Matsumoto M, Seya T.  
J. Immunol. 2014 Nov; 193 (10): 5199-5207.
2. DDX60 is involved in RIG-I-dependent and -independent antiviral responses and its function is attenuated by virus-induced EGF receptor activation  
Oshiumi H, Miyashita M, Okamoto M, Morioka Y, Okabe M, Matsumoto M, Seya T.  
Cell Rep. 2015 May; 11 (8): 1193-1207.
3. Raftlin controls Lipopolysaccharide-induced TLR4 internalization and TICAM-1 signaling in a cell type-specific manner  
Tatematsu M, Yoshida R, Morioka Y, Ishii N, Funami K, Watanabe A, Saeki K, Seya T, Matsumoto M.  
J. Immunol. 2016 May; 196 (9): 3865-3876

## 免疫機能学分野

准教授・博士  
(地球環境科学)

北村 秀光

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

### ● 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

### ● 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、免疫調節の中核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、北海道大学病院・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

#### 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核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、北海道大学病院および大学院医学研究科と連携して臨床検体をを用いた解析・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。

#### 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

#### 分野所属教員

教授（兼任）……………近藤 亨  
准教授……………北村 秀光



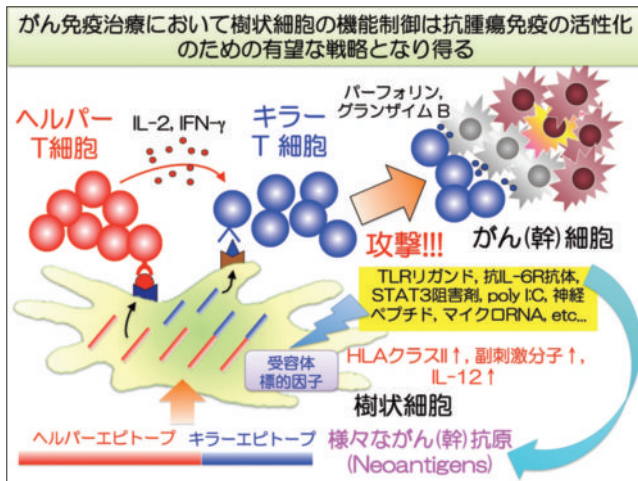


図 1. 樹状細胞の機能制御を介した効果の高いがん免疫治療の開発  
TLRリガンド・IL-6/STAT3シグナル阻害・神経ペプチドシグナルの調節あるいはマイクロRNAを導入することで樹状細胞のがん抗原提示機能を増強する次世代型のがん免疫治療を構築する。さらに北海道大学病院および大学院医学研究科と連携し、被験者の免疫モニタリングおよび、臨床効果と副作用の発生を予測する新規バイオマーカーの探索と同歩も行い、安心・安全で効果の高い免疫治療に繋ぐ研究を展開している。

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。

### 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、我々はマウスおよびヒト樹状細胞において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、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

#### Teaching Staff



教授 (兼任)・医学博士  
近藤 亨

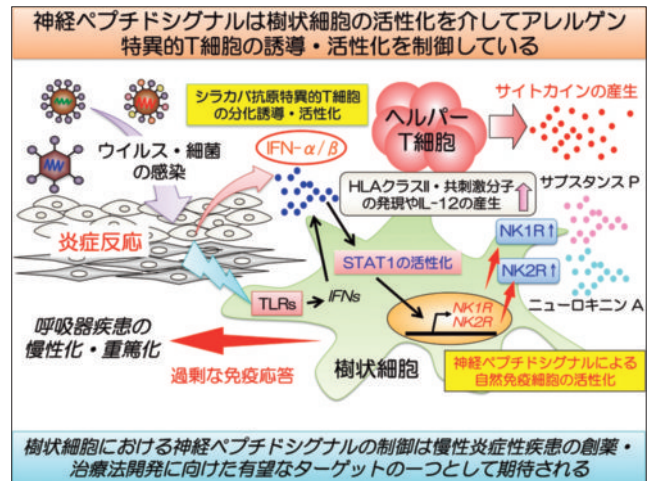


図 2. 神経ペプチド (サブスタンス P・ニューロキニン A) 受容体の発現による樹状細胞の活性化を介した抗原特異的 T 細胞の活性化メカニズム  
神経ペプチドシグナル伝達経路を阻害剤などで遮断すると、ウイルス・細菌感染による喘息や過敏性肺臓炎など呼吸器疾患の慢性化・重篤化が予防・改善されることが期待できる。また神経ペプチドシグナルによる免疫機能の制御メカニズムを解明することにより、過剰な炎症反応や免疫応答によって発症する他の難治性炎症性疾患治療への応用も期待される。

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。

#### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

- Ohno Y, Kitamura H, Takahashi N, Ohtake J, Kaneumi S, Sumida K, Homma S, Kawamura H, Minagawa N, Shibasaki S, Taketomi A. IL-6 down-regulates HLA class II expression and IL-12 production of human dendritic cells to impair activation of antigen-specific CD4(+) T cells. *Cancer Immunol Immunother.* 2016 Feb; 65(2): 193-204.
- Ohtake J, Kaneumi S, Tanino M, Kishikawa T, Terada S, Sumida K, Masuko K, Ohno Y, Kita T, Iwabuchi S, Shinohara T, Tanino Y, Takemura T, Tanaka S, Kobayashi H, Kitamura H. Neuropeptide signaling through neurokinin-1 and 2 receptors augments antigen presentation by human dendritic cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Dec; 136(6): 1690-1694
- Sumida K, Ohno Y, Ohtake J, Kaneumi S, Kishikawa T, Takahashi N, Taketomi A, Kitamura H. IL-11 induces differentiation of myeloid-derived suppressor cells through activation of STAT3 signalling pathway. *Sci Rep.* 2015 Sep; 5, e13650.

## 分子間情報分野

教授・工学博士

田中 一馬

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/molint/index.html>

### ● キーワード

生体膜、脂質非対称性、脂質輸送体



### 研究課題

## 膜リン脂質非対称性の生理的意義の解明

### ● 研究概要

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（フリッパーズ）が見出されており、その機能解明は脂質非対称性の生理機能を知る上で重要である。

当分野では、真核単細胞生物である出芽酵母をモデル生物として用い、細胞生物学的、遺伝学的、生化学的アプローチにより、フリッパーズ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

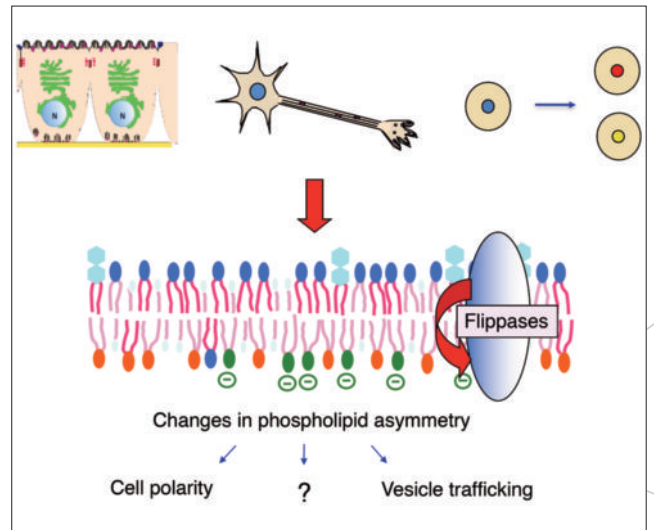


図1. 生体膜リン脂質の非対称性とその機能

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ズの働きにより形成、維持されていると考えられており、また、フリッパーズ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。

る。主として以下のプロジェクトを進めている。

### ● 研究内容及び成果

#### 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

これまでに、細胞極性形成や小胞輸送において、フリッパーズ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ズ

#### 分野所属教員

教	授	.....	田	中	一	馬
助	教	.....	山	本	隆	晴
助	教	.....	三	岡	哲	生

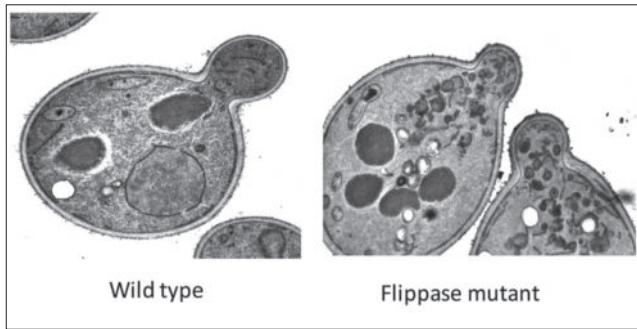


図 2. フリッペース変異細胞で見られる異常な膜構造 (電子顕微鏡像)  
 フリッペース欠損変異株では、野生型細胞 (左) では見られない異常な膜構造が多数観察される。小胞形成が正常に行われず、蓄積した初期エンドソームであると考えられる。

が必須であることを明らかにしている (図 2)。このフリッペースによる小胞形成の分子機構を解明する。

### 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。

### 細胞膜のバリア機能における脂質非対称性の 役割の解明

細胞膜は外界のストレスや有害物質から細胞を守るバリアとしての機能を有しており、細胞膜タンパク質のみならず、脂質も重要な役割を果たしていると考えられるが、その機構について明らかになっていることは少ない。細胞膜のフリッペースが欠損すると、脂質非対称性が崩壊して膜透過性が上昇することが明らかとなっている。脂質非対称性の制御を中心として、細胞膜のバリア機能における脂質の役割を明らかにする。

#### Teaching Staff



助教・博士 (バイオサイエンス)  
 山本 隆晴



助教・博士 (生命科学)  
 三岡 哲生

#### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文

1. Asymmetric distribution of phosphatidylserine is generated in the absence of phospholipid flippases in *Saccharomyces cerevisiae*. Mioka T, Fujimura-Kamada K, Tanaka K. *MicrobiologyOpen*. 2014 Oct; 3(5): 803-821.
2. Inositol depletion restores vesicle transport in yeast phospholipid flippase mutants. Yamagami K, Yamamoto T, Sakai S, Mioka T, Sano T, Igarashi Y, Tanaka K. *PLoS One*. 2015 Mar; 10(3): e0120108.

## 動物機能医科学研究室

准教授・医学博士

三浦 恭子

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

### ● キーワード

ハダカデバネズミ、癌、老化、真社会性



### 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

### ● 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、図 1A）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ほとんど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

#### ハダカデバネズミ由来 iPS 細胞の腫瘍化耐性機構の解明

正常な体細胞は、がん遺伝子の活性化やがん抑制遺伝子の不活性化の異常が起ると、腫瘍を形成するようになる。iPS 細胞とがん細胞は、半永久的に増殖をする能力があるなど、さまざまな共通点があり、近年、体細胞から iPS 細胞への初期化過

程とがん化過程にも、共通したメカニズムが存在することが明らかになってきている。そこで本研究では、ハダカデバネズミのようながん化耐性動物から、iPS 細胞を作製できるのか、また作製できた場合に iPS 細胞は腫瘍形成能（奇形腫形成能）を持つのかを検証した。ハダカデバネズミの皮膚から線維芽細胞を樹立し、マウスやヒトなど他の動物と同等の方法で、初期化に必要な Oct4、Sox2、Klf4、cMyc の 4 因子を遺伝子導入したところ、ハダカデバネズミ iPS 細胞の作製に成功した（図 1B）。ハダカデバネズミ iPS 細胞は培養下での多分化能を持つにもかかわらず、未分化な状態で生体に移植しても、他の動物の iPS 細胞のように腫瘍を形成せず、腫瘍化耐性を持つことが判明した。そこで、ハダカデバネズミ iPS 細胞の腫瘍化耐性メカニズムを解析した。その結果、腫瘍形成能を持つマウスやヒトの iPS 細胞では強く発現抑制されているがん抑制遺伝子 ARF が、ハダカデバネズミ iPS 細胞では活性化していた。次に、マウス ES 細胞の腫瘍形成能に重要であるがん遺伝子 ERAS の配列を解析したところ、ハダカデバネズミの ERAS には他の動物では認められない 4 塩基の挿入が存在し、ERAS タンパクの機能不全をもたらすフレームシフト変異が生じていた。ハダカデバネズミ iPS 細胞で、活性化している ARF をノックダウンし、機能不全のハダカデバネズミ ERAS の代わりにマウスの ERAs を導入したところ、ハダカデバネズミ iPS 細胞は腫瘍形成能を獲得し、免疫不全マウスへ移植すると奇形腫を形成した。さらに、マウス iPS 細胞でハダカデバネズミと同様に ARF を発現させると、免疫不全マウスに移植した際の腫瘍形成能が強く抑制されることが明らかとなった。以上の結果から、ハダカデバネズミ iPS 細胞は、ARF の活性化と ERAS の機能欠失により腫瘍化耐性を持っていると考えられる。

さらに我々はハダカデバネズミ iPS 細胞でなぜ ARF が活性化しているのかについて解析を進めた。初期化やがん化を誘導

#### 分野所属教員

准 教 授 ..... 三 浦 恭 子  
助 教 員 ..... 河 村 佳 見

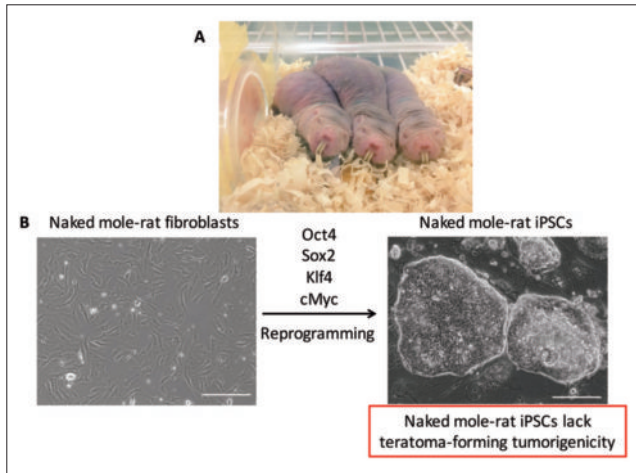


図 1. ハダカデバネズミ iPSC 細胞の樹立。

(A) ハダカデバネズミ。(B) 線維芽細胞を初期化して作製したハダカデバネズミ iPSC 細胞。

することは正常な細胞にとってストレスとして働き、ARF はこれらのストレスにตอบสนองして活性化することで、細胞を初期化やがん化から守る機能を持っている。この ARF による防御機構を乗り越えた細胞が、iPS 細胞やがん細胞になると考えられている。実際に、iPS 細胞や多くのがん細胞では ARF が抑制または欠失している。また、これまでの実験で、マウス iPS 細胞の樹立中に Arf を抑制すると、マウス細胞の増殖速度は上昇し、より多くの細胞が iPS 細胞になることが報告されている。我々はハダカデバネズミ線維芽細胞に初期化因子を導入して初期化ストレスを与えたところ、マウスやヒトと同様に ARF が活性化した。次に、初期化ストレス下で活性化した ARF をノックダウンしたところ、マウスとは対照的に、ハダカデバネズミ細胞の増殖が止まり、iPS 細胞が出現しなくなった。解析の結果、ARF が抑制されたハダカデバネズミ細胞は、がん抑制機構の 1 つである「細胞老化」の状態になることが判明した。我々はこの現象を ASIS : ARF suppression-induced senescence (ARF 抑制時細胞老化) と命名した。ハダカデバネズミでは、初期化ストレス下で ARF が抑制されると、細胞老化によって細胞が増殖を停止するため、対照的に増殖する細胞である ARF の活性化した腫瘍化耐性 iPS 細胞が選択されたと考えられる。

次に、ASIS が初期化過程のみならず、がん化過程でも生じるのかを検証した。ハダカデバネズミ細胞にがん化ストレスとして、がん遺伝子 cMYC の過剰発現や、細胞培養による増殖ストレスを加え、同時に ARF をノックダウンした結果、がん

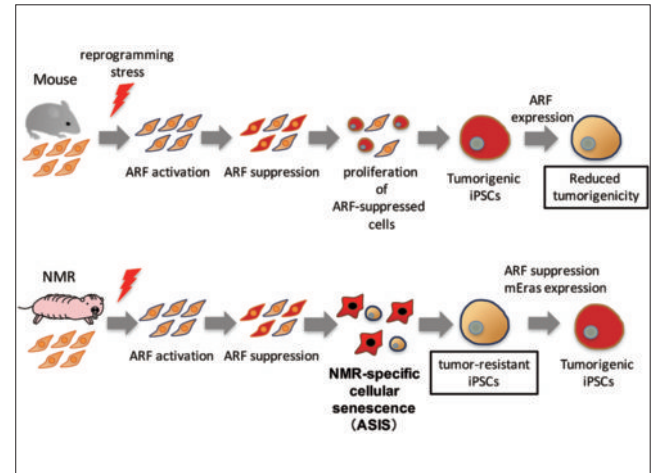


図 2. ハダカデバネズミ iPSC 細胞の腫瘍化耐性機構。

マウスでは初期化因子を導入した際、防御機構として ARF が活性化するが、その中で ARF が抑制された細胞の増殖が亢進する。その結果、生じた iPS 細胞は ARF が抑制されており、造腫瘍性を持つ。人為的に ARF を発現させると造腫瘍性が著しく減弱する。一方ハダカデバネズミでは、初期化因子を導入した際、防御機構として ARF が活性化するが、ARF が抑制された場合でもハダカデバネズミ特異的細胞老化 (ASIS) が起こり、増殖が停止する。その結果、ARF が発現している細胞が iPS 細胞となり、腫瘍化耐性を持つ。この iPS 細胞の ARF を抑制し、機能的なマウス ERAS を導入すると造腫瘍性を持つようになる。

化ストレス下でも、ASIS が生じることが判明した。

マウスやヒトなどの哺乳類の細胞では、初期化やがん化のストレスを受けると、防御機構として ARF が活性化される。一方で、ハダカデバネズミでは、ARF の活性化だけでなく、ARF が抑制されてしまう状況でも ASIS が機能し、二重の防御機構で初期化やがん化を抑制すると考えられ、このことがハダカデバネズミの顕著ながん化耐性に寄与している可能性がある (図 2)。

## Teaching Staff



助教・理学博士  
河村 佳見

## 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. Miyawaki S, Kawamura Y, Oiwa Y, Shimizu A, Hachiya T, Bono H, Koya I, Okada Y, Kimura T, Tsuchiya Y, Suzuki S, Onishi N, Kuzumaki N, Matsuzaki Y, Narita M, Ikeda E, Okanoya K, Seino K, Saya H, Okano H & Miura K. Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats. *Nature Communications*, 7: 11471 (2016)
2. Miyawaki S, Kawamura Y, Hachiya T Shimizu A, Miura K. Molecular cloning and characterization of the INK4a and ARF genes in naked mole-rat. *Inflammation and Regeneration*, 35(1): 42-50 (2015)
3. 河村佳見, 三浦恭子「ハダカデバネズミを用いた老化研究」実験医学増刊, Vol.34, No.7, 181-186. (2016)

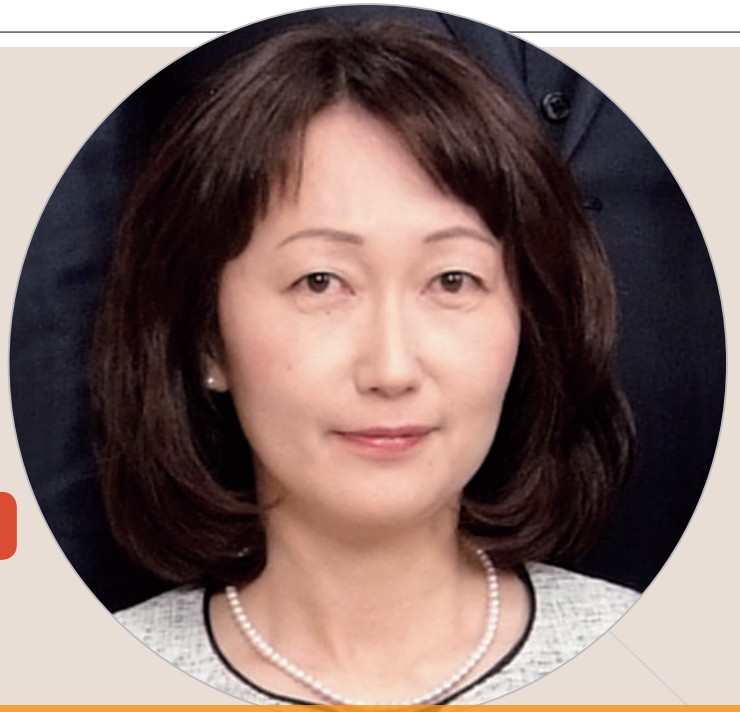
## 血管生物学研究室

特任准教授・博士（歯学）  
**樋田 京子**

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/vascular-biology/>

### ● 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～**

### ● 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。日本人の死因第1位のがんの進展にも血管は重要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、Folkman博士によって初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、この治療法にも高血圧や血栓症、消化管穿孔といった副作用の報告があります。正常血管内皮の生存、維持に必須である VEGF シグナルが遮断されるため、正常血管に対する傷害からおこるのだと考えられています。当初は、がんの血管が正常組織の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「がんの血管を構成する血管内皮細胞」：腫瘍血管内皮細胞（Tumor endothelial cell：TEC）の分離培養を行い、その特異性を明らかにしました。「全身の血管内皮細胞はすべて同じ性質をもつ」という当時の概念に反し、様々な異常、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世界で初めて示しました（図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、腫瘍血管内皮細胞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。腫瘍血管内皮細胞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（図2）。

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

#### 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：BGN、PTGIR、COX-2、CXCR7、PTGFR、LOX、DEF6、TMEM176B、SBSN）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様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と考えています。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 DDS（ドラッグデリバリーシステム）による血管新生阻害剤としての核酸医薬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 ABC トランスポーター P-glycoprotein（P-gp）の発現が高く幹細胞性をもち、薬剤耐性を獲得

### 分野所属教員

特任准教授…………… 樋田 京子  
助 教…………… 間石 奈湖

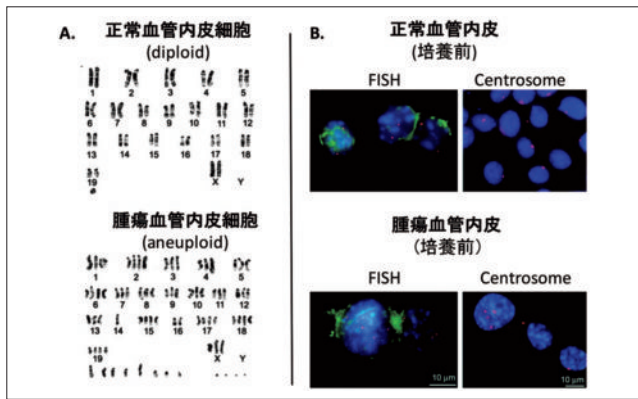


図 1. 腫瘍血管内皮には染色体異常がある。A. 培養血管内皮の核型。B. 分離直後の腫瘍血管内皮における aneuploidy とセントロソームの数異常 (FISH による)。

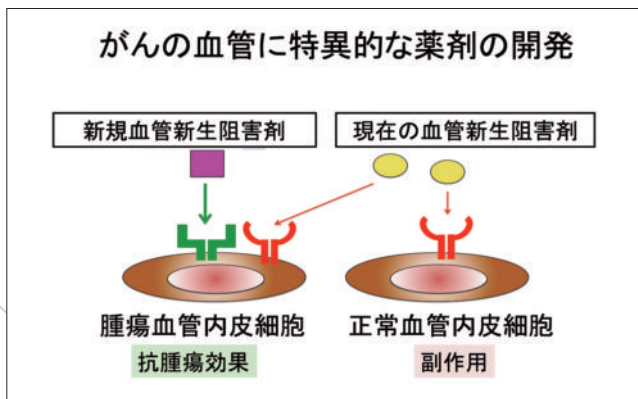


図 2. 腫瘍血管内皮に特異的な分子を同定することができれば、その分子を標的とした薬剤の開発につながり。がんの血管に特異的で副作用の少ない抗がん剤の開発につながる。

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。

### 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 (低酸素環境、がん細胞由来サイトカインなど) 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) に関して私達は異常性を示す 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。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 を誘導することで 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 (遺伝子発現、染色体異常の程度など) 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。

### 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、がん細胞の遺伝子異常のみで決定されるのではなく、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。私達は最近、TEC が分泌する biglycan によりがん細胞の転移が促進されることを報告しました (図 3)。現在、がんの浸潤転移における 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とした研究を展開しています。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。

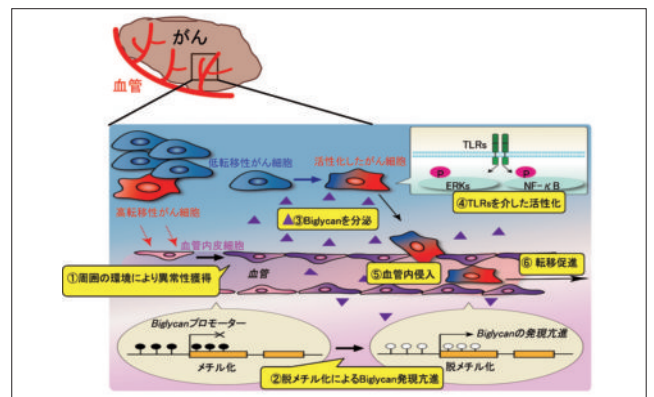


図 3. 腫瘍血管内皮細胞由来因子によるがんの転移促進

### Teaching Staff



助教・博士 (歯学)  
間石 奈湖

### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. Maishi N., Ohba Y., Akiyama K., Ohga N., Hamada J., Nagao-Kitamoto H., Mohammad Towfik Alam, Yamamoto K., Kawamoto T., Inoue N., Taketomi A., Shindoh M., Hida Y., Hida K.: Tumour endothelial cells in high metastatic tumours promote metastasis via epigenetic dysregulation of biglycan, *Sci Rep*, 6, 28039
2. Hida K., Maishi N., Sakurai Y., Hida Y., Harashima H.: Heterogeneity of tumor endothelial cells and drug delivery, *Adv Drug Deliv Rev*, 99(Pt B), 140-147, 2016
3. Yamada K., Maishi N., Akiyama K., Alam Mohammad Towfik, Ohga N., Kawamoto T., Shindoh M. Takahashi N., Kamiyama T., Hida Y., Taketomi A. and Hida K.: CXCL 12-CXCR7 axis is important for tumor endothelial cell angiogenic property, *Int J Cancer*, 137(12), 2825-2836, 2015 (selected as a cover)

## プロバイオティクス・ 免疫ロジー研究部門

特任教授・医学博士  
**宮崎 忠昭**

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

### ● キーワード

プロバイオティクス、ウイルス、アポトーシス、自己免疫疾患、癌、老化、寿命



### 研究課題

感染症・免疫疾患・癌の予防と治療を目指したプロバイオティクスによる生体調節作用・機構の解明

### ● 研究概要

本研究分野では、乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクス（図1）とそれらの菌体成分・産生物によるインフルエンザ等の感染症、および癌や炎症性疾患の予防・治療効果を評価しています。さらに、その作用機序を解明するため、これらに応答する細胞や受容体と刺激因子を同定し、細胞増殖やアポトーシスを誘導するシグナル分子の制御機構を解析しています。

また、生活習慣病や老化関連疾患の予防と健康寿命延長に有効な乳酸菌およびその成分や産生物質を探索し、その作用機序を分子生物学的に解明します。

### ● 研究内容及び成果

#### インフルエンザウイルス感染によるアポトーシス誘導

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

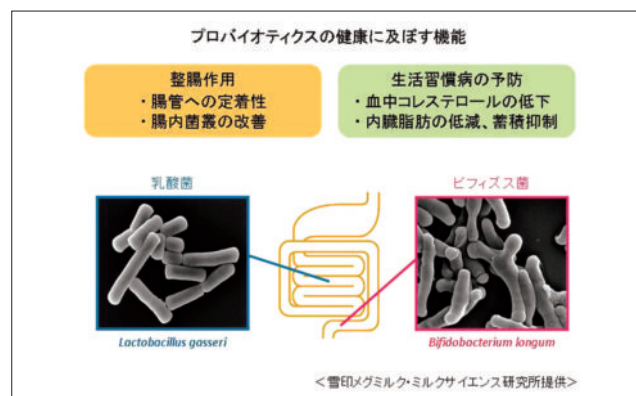


図1. プロバイオティクスの健康増進作用

を誘導するため、病態が重篤化すると考えられています。

私たちはこれまでに、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マウスの生存率が上昇することを明らかにしました。また、ガセリ菌SP株 *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (LG2055) の経口投与がインフルエンザウイルス感染後のマウス肺中のウイルス量と炎症性サイトカイン量を減少させ、生存率を上昇させることを示しました。最近、その作用機序として、LG2055はマクロファージに作用し、インターフェロンのシグナル伝達経路を活性化しウイルスの増殖を抑制することを見出しました。

#### JNK シグナル阻害による関節リウマチの発症抑制

現在、T細胞とB細胞の異常増殖と自己抗体の過剰産生が関節リウマチの発症原因であることが報告されています。私たちはヘルペティカス菌 *Lactobacillus helveticus* SBT2171 (LH2171) がLPS刺激後のマウスプライマリーT細胞とB細胞の増殖を強く抑制することを見出しました。

#### 分野所属教員

特任教授……………宮崎 忠昭  
特任助教……………中川 久子



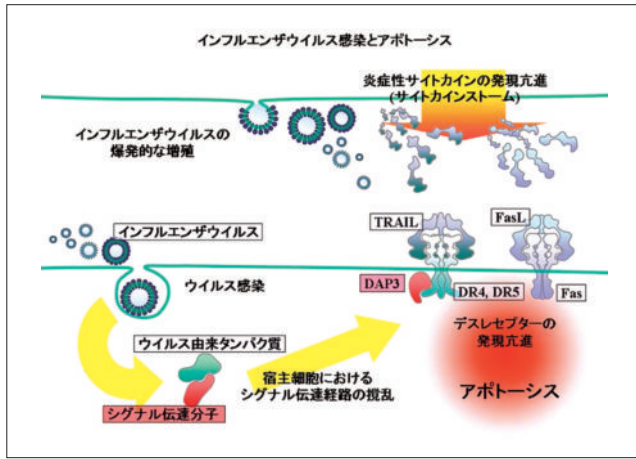


図2. インフルエンザウイルスによるアポトーシス誘導機構  
病原性の高いウイルスの感染は、感染細胞のデスレセプター発現を亢進させアポトーシスを誘導し病態の重篤化を起こす。

そこで、マウスのコラーゲン誘発性関節炎（CIA）モデルを用いて、LH2171 による発症抑制効果进行评估したところ、炎症の惹起と症状の重篤化を強く抑制しました。また、後肢の所属リンパ節である鼠径リンパ節細胞の FACS 解析を行った結果、LH2171 投与により炎症惹起に伴う B 細胞と T 細胞の増加が有意に抑制されました。次に LH2171 による増殖抑制機構を解析した結果、JNK シグナルの抑制が重要であることを見出しました。さらに、JNK 下流の c-Jun のリン酸化と細胞周期を制御する CDC2 の発現を抑制することが示されました。

これらの結果より、ヘルペティカス菌 LH2171 は、JNK シグナル阻害により過剰な T 細胞と B 細胞の増殖を抑制し、関節リウマチの発症と症状の重篤化を顕著に抑制することが明らかになりました。

### 老化防止・寿命延長効果を示す乳酸菌の作用機序

ガセリ菌 SP 株（LG2055）による寿命延長効果を線虫で評価した結果、通常食の対照群に対し LG2055 摂取群では 37% 程度の平均寿命の延長が認められました。運動能や老化の指標についても LG2055 摂取により低下抑制が認められたことから、LG2055 は抗老化作用を有し、線虫の寿命を延長させる事が明らかになりました。作用機序としては、寿命関連遺伝子 *skn-1* が LG2055 の寿命延長作用に重要であることが示されたため、上流の MAPK 経路の関与を調べた結果、*nsy-1*（MAPKKK ASK1 のオルソログ）、*sek-1*（MAPKK）の遺伝子発現が亢進していました。さらに MAPK 関連遺伝子変

### Teaching Staff



特任助教・博士（医学）  
中川 久子

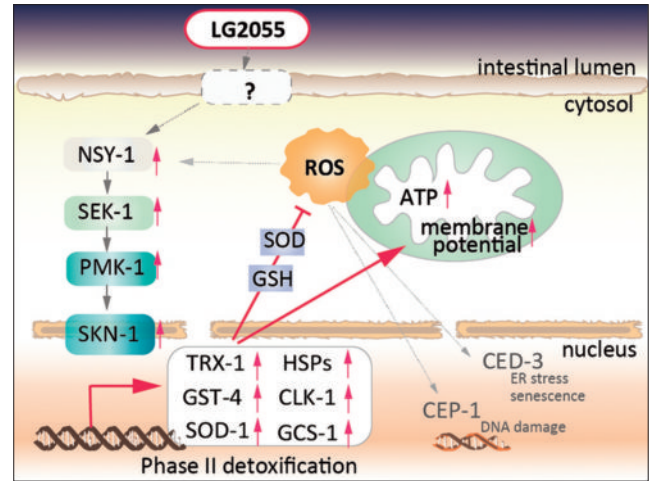


図3. LG2055 による線虫の寿命延長・抗老化作用メカニズム

異株の生存率を解析した結果、LG2055 摂取による *nsy-1*、*sek-1*、*skn-1* 変異株の平均寿命の延長は認められなかったことから、LG2055 は p38MAPK シグナル経路を介して SKN-1 を活性化することにより、寿命延長・抗老化作用を示すと考えられます。

また SKN-1 の下流の活性酸素消去系について検討した結果、LG2055 摂取により SOD やチオレドキシン（TRX-1）、グルタチオン S 転フェラーゼ（GST-4）、ミトコンドリアポリペプチド CLK-1、 $\gamma$  グルタミルシステインシターゼ（GCS-1）などの ROS 消去系分子の活性や HSP（heat shock protein）遺伝子群の遺伝子発現が亢進していました。加えて LG2055 摂取により加齢に伴う SOD 活性や GSH/GSSG 比の低下が抑制されていました。また、加齢に伴うミトコンドリアの量と膜電位の低下が抑制されていました。以上の結果から LG2055 は p38MAPK シグナルを介して SKN-1 を活性化し抗酸化関連遺伝子の発現を誘導することにより、ROS 消去系活性とミトコンドリア機能の低下を抑制し寿命延長・抗老化作用を示すことが明らかになりました（図3）。

### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文 3 編

1. Nakagawa H, Shiozaki T, Kobatake E, Hosoya T, Moriya T, Sakai F, Taru H, Miyazaki T, Effects and mechanism of prolongevity induced by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell*, Volume 15, Issue 2, pages 227-236, April 2016
2. Hosoya T, Sakai F, Yamashita M, Shiozaki T, Endo T, Ukibe K, Uenishi H, Kadooka Y, Moriya T, Nakagawa H, Nakayama Y, Miyazaki T, *Lactobacillus helveticus* SBT2171 Inhibits Lymphocyte Proliferation by Regulation of the JNK Signaling Pathway. *PLoS One*, Sep 30; 9(9): e108360. doi: 10.1371/journal.pone.0108360. 2014
3. Sakai F, Hosoya T, Ono-Ohmachi A, Ukibe K, Ogawa A, Moriya T, Kadooka Y, Shiozaki T, Nakagawa H, Nakayama Y, Miyazaki T, *Lactobacillus gasseri* SBT2055 induces TGF- $\beta$  expression in dendritic cells and activates TLR2 signal to produce IgA in the small intestine. *PLoS One*, Aug 21; 9(8): e105370. doi: 10.1371/journal.pone.0105370. 2014

## 附属動物実験施設

施設長（兼任）教授・  
医学博士  
**清野 研一郎**

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/lae/index-j.html>

● キーワード  
遺伝子操作動物、疾患モデル動物、発生工学



### 研究課題

## 質の高い人道的な動物実験の推進

### ● 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、検疫室などが整備され、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。

### Teaching Staff



助教・薬学博士（兼任）  
**森岡 裕香**



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

### 分野所属教員

施設長・教授（兼任）…………… 清野 研一郎  
助教（兼任）…………… 森岡 裕香

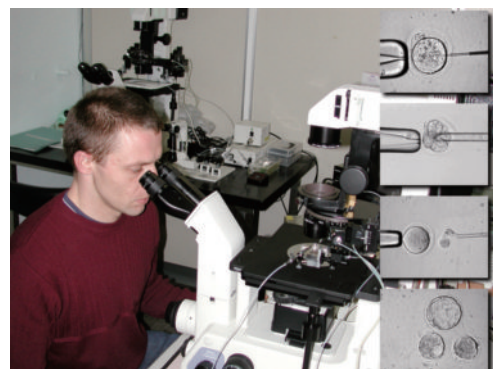


図2. 遺伝子組換えマウスを作製するための胚操作

# 附属感染癌 研究センター

センター長（兼任）  
教授

近藤 亨

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

● キーワード

細菌、ウイルス、感染、癌、免疫、炎症



研究課題

細菌・ウイルス等の感染に起因する腫瘍発生の多角的な研究

● 研究概要

本センターは遺伝子病制御研究所の附属施設として、細菌・ウイルス等の感染に起因する腫瘍発生に関する研究を行うとともに、国内外の研究者との交流及び連携の促進を図ることにより、世界最高水準の研究拠点を形成することを目的として平成20年7月に設置された。

平成26年12月まで本センター専任教員による研究が行われていたが、現在は専任教員不在であり、本センターの再活性化を目的として、平成29年度より本センター内に「病態解析リエゾンラボ」を設置することとした。その設立概要は、「感染」、「癌」、「免疫」、「炎症」及び「基盤技術創成」をプラットフォームとして異分野研究の融合を促進・発展させると共に、国内外の学術機関・企業等との共同研究促進、研究成果の知財化促進やシンポジウムの開催等を通して、新たな研究者コミュニティのハブ形成と研究成果の社会還元・情報発信を遂行することである。

Teaching Staff



准教授・医学博士（兼任）  
澤 新一郎



准教授・博士（地球環境科学）（兼任）  
北村 秀光

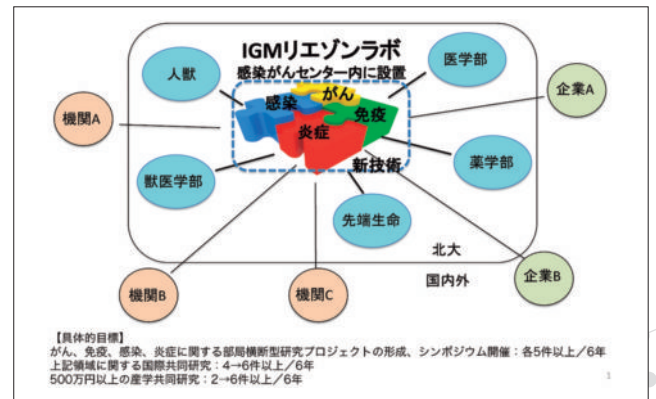


図1. リエゾンラボイメージ図①

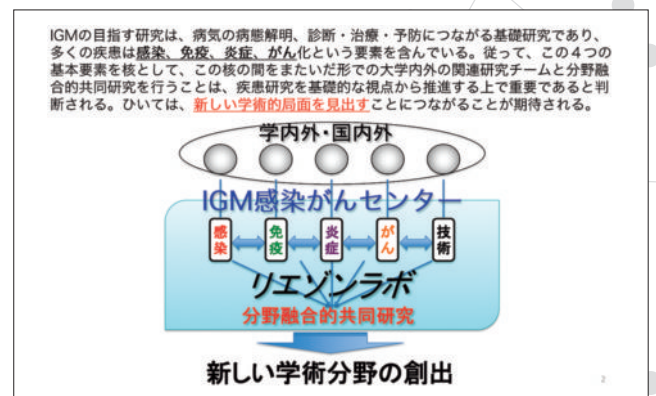


図2. リエゾンラボイメージ図②

分野所属教員

- センター長・教授（兼任）…………… 近藤 亨
- 准教授（兼任）…………… 澤 新一郎
- 准教授（兼任）…………… 北村 秀光

## 共同利用・共同研究推進室

推進室長

近藤 亨

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/about/joint-research/index.php>



北海道大学遺伝子病制御研究所は、平成 28 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」に認定更新されました。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 研究代表者廣瀬哲郎）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押し進めるものです。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、ロ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。

### 分野所属教員

推進室長……………近藤 亨  
室員（兼任）……………澤 新一郎  
室員（兼任）……………北村 秀光

プロジェクト 年度	特別共同研究 (件数)	一般共同研究 (件数)	研究集会 (件数)
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
平成 27 年度 (2015)	4	23	3

### ● 主な研究機器

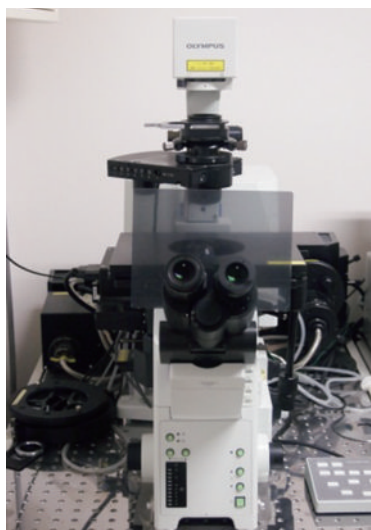
#### 小動物用 X 線 CT 装置 Latheta LCT-200 (日立アロカメディカル)

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。



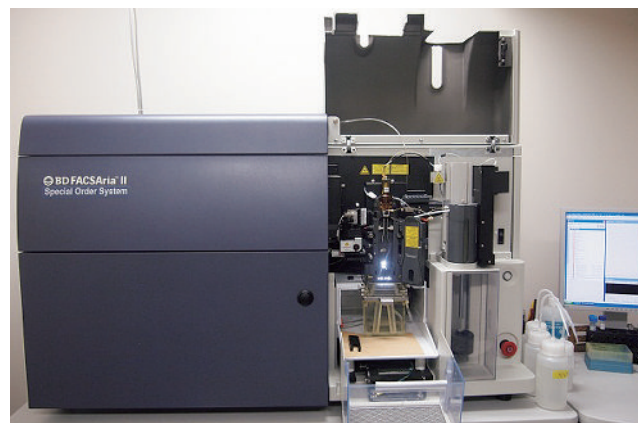
**共焦点レーザー走査型顕微鏡**  
**FLUOVIEW FV1000-D (Olympus)**

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。



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

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ウエルプレートまで使用することができます。



**2013 研究集会**



**2014 研究集会**



**2015 研究集会**



**Teaching Staff**



准教授・医学博士(兼任)  
 澤 新一郎



准教授・博士(地球環境科学)(兼任)  
 北村 秀光

## 融合プログラム連携室

准教授・医学博士

瀧本 将人



### ● キーワード

がん、D40、がん・精巣抗原、先体、細胞分裂、動原体

### 研究課題

## D40 遺伝子・蛋白の基礎と臨床応用に関する研究

### ● 研究概要

ヒト D40 (別名 Knl-1、CASC5、CT29 他) は、「がん・精巣抗原」をコードする遺伝子である。また、D40 は細胞分裂に重要な役割を担う動原体を構成する蛋白である。D40 遺伝子と蛋白についての基礎的研究と臨床への応用に関する研究を行なっている。

### ● 研究内容及び成果

#### D40 遺伝子・蛋白の基礎

D40 遺伝子は、転写抑制因子として報告された GCF 蛋白に特異的に結合する蛋白をコードする遺伝子としてクローニングされた。(後に、GCF cDNA は人工的な産物であることが判明)。その後、この遺伝子は正常臓器では精巣にのみ高い発現が認められる一方で、種々の臓器・組織由来の多くのがん細胞にその発現が認められること、即ち D40 は「がん・精巣抗原」をコードする遺伝子の一つであることを明らかにした。

D40 蛋白は、精巣において精細管内の減数分裂中の精母細胞、減数分裂後の精子細胞内のプレアクロゾーム (将来、精子の先体となる小器官) に著明な発現が認められ、受精に必須な役割を担う先体の形成と維持に機能していることが予想される (図 1)。また、男性不妊症患者の精巣における生殖細胞の分化成熟度と D40 の発現との間に有意な関係があることが示さ

れ、D40 蛋白が精巣において精子の成熟において重要な役割を担っていることが示唆されている。

最近、D40 は有糸分裂の際に、染色体と紡錘糸とを結びつける動原体を構成する蛋白の一つであることが示された。D40 蛋白は Mis12、Ndc80 蛋白と共に動原体の重要な構成成分となっているのみならず、分裂期 checkpoint 蛋白である Bub1、BubR1 や checkpoint 抑制蛋白の Protein Phosphatase 1 とも結合することで、Spindle Assembly Checkpoint (SAC) の制御にも重要な役割を担っていることが明らかになってきた (図 2)。

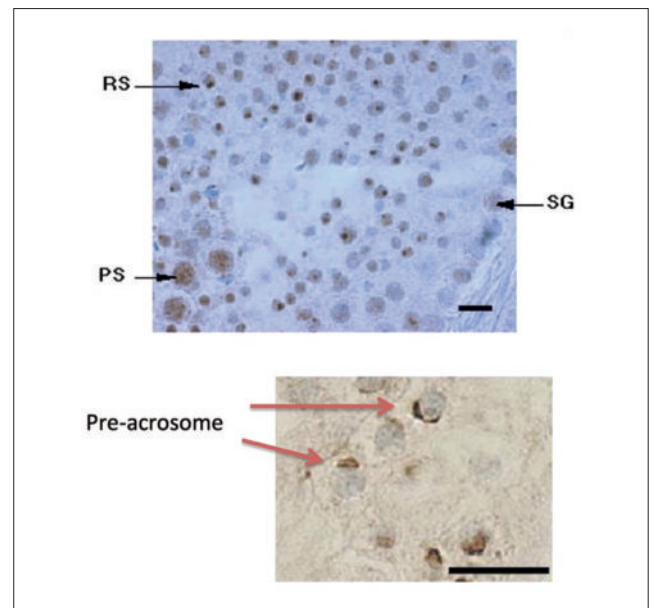


図 1. D40 蛋白のヒト精巣内での発現

上：精細管内の精母細胞と精子細胞において D40 蛋白の高い発現が認められる。

SG：精粗細胞、PS：精母細胞、RS：円形精子細胞、

下：円形精子細胞内の Pre-acrosome における D40 蛋白の高い発現

Scale bars ; 20 $\mu$ m

分野所属教員

准 教 授 …………… 瀧 本 将 人

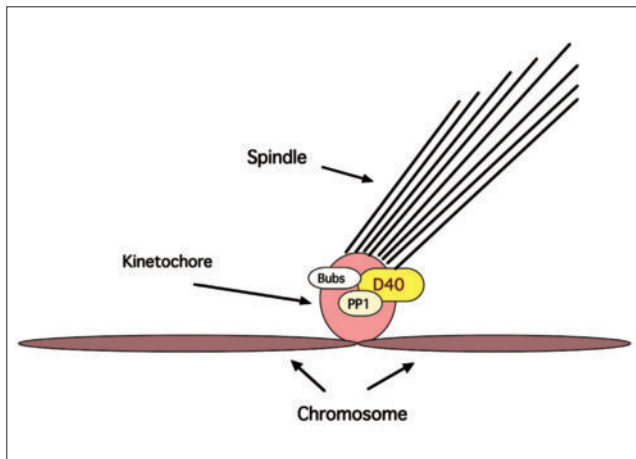


図 2. 有糸分裂と動原体蛋白 D40

動原体 (Kinetochore) は多くの蛋白から成り、有糸分裂細胞内で染色体 (Chromosome) と紡錘糸 (Spindle) とを結びつける役割を担っている。D40 は動原体蛋白の一つである。D40 蛋白は紡錘糸と結合するほか、分裂期チェックポイント蛋白である Bub1、BubR1 (Bubs)、Protein Phosphatase 1 (PP1) とも結合することで、分裂期の制御に関わっている。

### D40 遺伝子・蛋白の臨床への応用に関する研究

がんにおいては、培養細胞株のみならず、肺がんをはじめとする多くの原発肺癌において D40 遺伝子の発現が認められる。特に肺がんにおいては、低分化度の腫瘍において D40 遺伝子の発現頻度が高いこと、また非喫煙者の肺癌に比べ喫煙者由来の肺癌で有意に D40 遺伝子の発現頻度が高いことが明らかになり、腫瘍の臨床病理学的特徴と D40 の発現との間に有意な関係があることが示されている。また、白血病では、ヒト第 11 染色体に存在する MLL (Mixed Lineage Leukemia) 遺伝子とヒト第 15 染色体に存在する D40 遺伝子とが相互転座を起こした白血病の症例が報告されている。

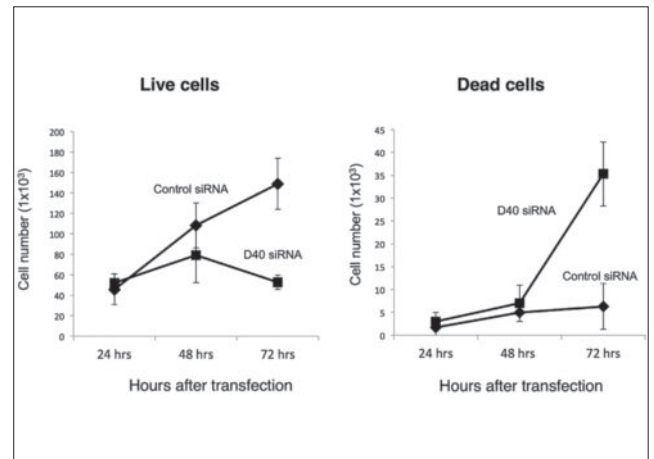


図 3. D40 遺伝子特異的 RNA 干渉によるがん細胞の増殖抑制と細胞死の誘導

がん細胞に D40 遺伝子特異的 short inhibitory RNA (D40 siRNA) をトランスフェクションすることにより、コントロール (control siRNA) に比べ、生細胞 (Live cell) 数の減少 (左) と死細胞 (Dead cell) 数の増加 (右) が認められる。

D40 は動原体を構成する蛋白であることから、D40 蛋白の発現を抑制することによりがん細胞の増殖を抑制することが可能である期待される。複数のヒト培養細胞株に対し D40 遺伝子に特異的な short inhibitory RNA (D40 siRNA) を用いた RNA 干渉法により D40 蛋白の発現を著明に抑制すると、がん細胞に細胞死が誘導されることでがん細胞の増殖が抑制される (図 3)。また、動物実験において、DDS (Drug Delivery System) として atelocollagen を用いることで、D40 siRNA/atelocollagen が個体内で増殖しているがんに対しても増殖抑制効果を示すことを明らかにした。

### 平成 26 年 7 月～平成 28 年 9 月までの代表論文

1. Yuri N. Urata, Fumitaka Takeshita, Hiroki Tanaka, Takahiro Ochiya, Masato Takimoto Targeted Knockdown of the Kinetochore Protein D40/Knl-1 Inhibits Human Cancer in a p53 Status-Independent Manner. *Scientific Reports* 5 Article No.13676 2015 Do:10.1038/srep136676

## 教育活動

本研究科教員は、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。

### 大学院医学研究科

分野名	科目名	担当教員
RNA 生体機能分野	基本医学研究 I・II (RNA 生体機能学分野) 専門医学研究 I・II (RNA 生体機能学分野) 基本医学総論 (RNA 生体機能学) 基盤医学研究 I・II (RNA 生体機能学分野) 医学総論 (RNA 生体機能学)	廣瀬 哲郎 山崎 智弘
幹細胞生物学分野	基本医学研究 I・II (幹細胞生物学分野) 専門医学研究 I・II (幹細胞生物学分野) 基本医学総論 (幹細胞生物学) 基盤医学研究 I・II (幹細胞生物学分野) 医学総論 (幹細胞生物学)	近藤 亨 大津 直樹 森口 徹生
分子神経免疫学分野	基本医学研究 I・II (分子神経免疫学分野) 専門医学研究 I・II (分子神経免疫学分野) 基本医学総論 (分子神経免疫学) 基盤医学研究 I・II (分子神経免疫学分野) 医学総論 (分子神経免疫学)	村上 正晃 有馬 康伸 上村 大輔 熱海 徹
癌生物分野	基本医学研究 I・II (癌生物学分野) 専門医学研究 I・II (癌生物学分野) 基本医学総論 (分子生物学の基礎) 基盤医学研究 I・II (癌生物学分野) 医学総論 (分子腫瘍学総論)	野口 昌幸 水津 太
免疫生物分野	基本医学研究 I・II (免疫生物学分野) 専門医学研究 I・II (免疫生物学分野) 基本医学総論 (免疫生物学) 基盤医学研究 I・II (免疫生物学分野) 医学総論 (免疫生物学)	清野研一郎 和田はるか ムハンマド・バグダーディー
免疫機能学分野	基本医学研究 I・II (免疫機能学分野) 専門医学研究 I・II (免疫機能学分野) 基本医学総論 (Type1/Type2 サイトカインによる免疫制御) 基盤医学研究 I・II (免疫機能学分野) 医学総論 (Type1/Type2 サイトカインによる免疫制御と疾患の克服)	北村 秀光

### 大学院総合化学院

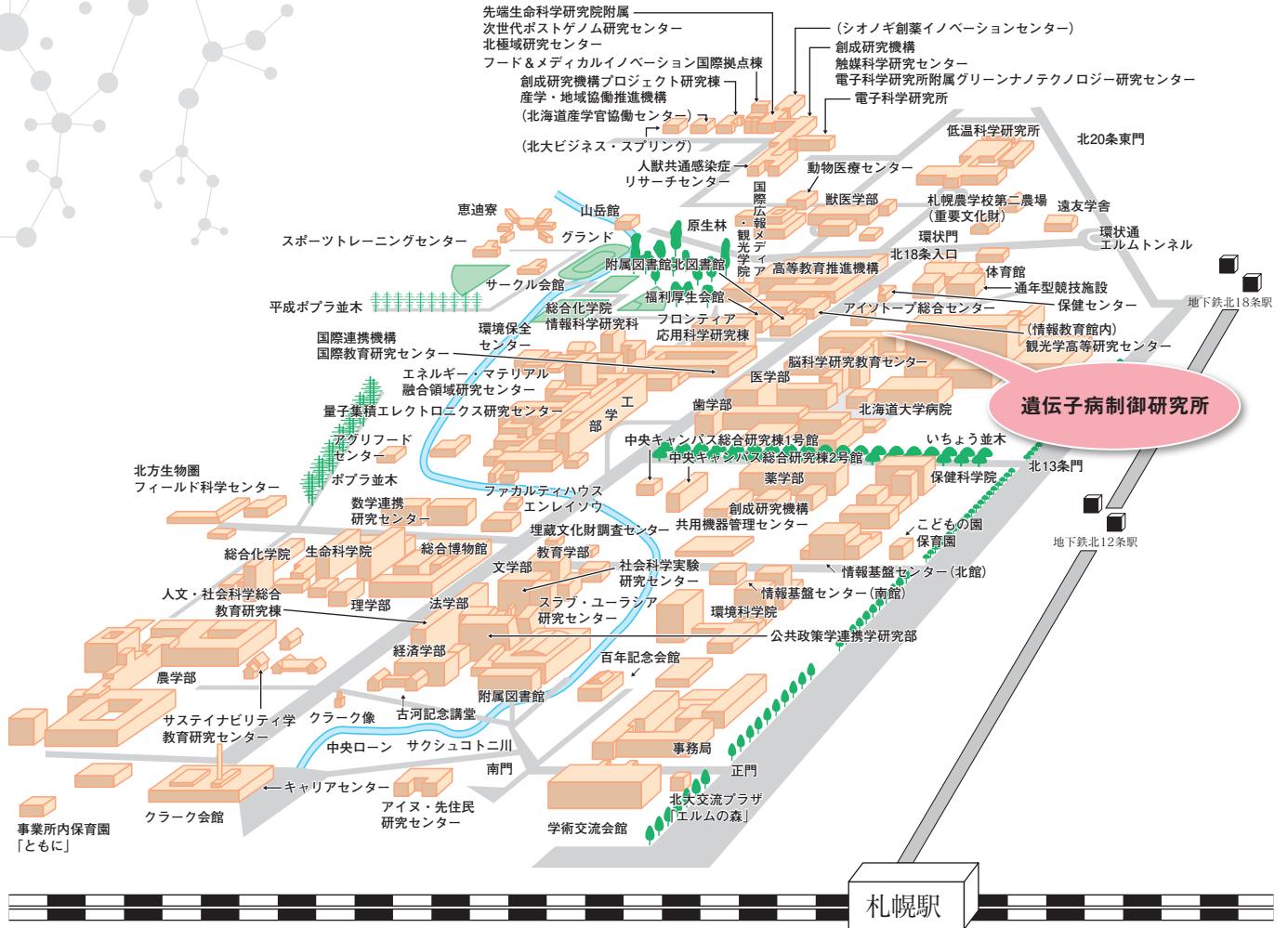
分野名	科目名	担当教員
分子生体防御分野	生物化学 A (II) 基礎生物化学特論	高岡 晃教
分子腫瘍分野	生物化学 A (II) 基礎生物化学特論	藤田 恭之 昆 俊亮

### 大学院生命科学学院

分野名	科目名	担当教員
分子間情報分野	細胞高次機能学特論 (脂質生物学) 生命システム科学概論 (細胞極性形成の分子機構)	田中 一馬



# 北海道大学配置図



# 北海道大学遺伝子病制御研究所概要

## 2016-2017

平成29年2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 FAX(011)717-5286

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





北海道大学  
遺伝子病制御研究所概要