

東京大学医科学研究所概要

THE INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCE THE UNIVERSITY OF TOKYO



昭和初期の伝染病研究所（医科学研究所前身）



2004

2004年4月、東京大学は国立大学としての130年近くの歴史を踏み台に、法人化しました。国立大学法人東京大学が誕生し、それとともに、医科学研究所は東京大学法人の一員として新しいスタートを切りました。必ずしも周到に準備された法人化とは言い難い側面もありましたが、それを補うべく急速に制度や体制の整備が進んでいます。医科学研究所は東京大学法人の中に留まりながらも、国からの交付金のみならず、外部資金を有効に活用し、自由と独創性を基盤とする研究所設立以来の産学官連携の精神に依拠した研究所像を追及しています。医科学研究所は、1892年に設立された私立衛生会付属伝染病研究所を前身としています。創立時より病院を擁し、ワクチン、血清を作り出して診療に当たっていました。すでにトランスレーショナルリサーチの原型がそこにあったといえます。現在国立大学法人が有する生命系の研究所において、病院を附置しているのは医科学研究所だけであり、基礎生命科学の成果を臨床応用研究に展開することが研究所の使命となっています。

現在医科学研究所では約350名の教職員、約100名のポスドクトラルフェロー、約250名の大学院学生が研究・教育・医療に従事しています。大学院学生は、医、薬、理、農、工、情報理工から生命科学・物質科学の領域を横断して参画しています。また今年度からは、新領域創成科学研究科に大学院メディカルゲノム専攻を創出する上で協力し、メディカルゲノム専攻でのトランスレーショナルリサーチを志向する研究教育に大きな努力を注いでいます。医科学研究所の理念を追求したその使命を果たすために、研究所は個々人の自由な発想に基づいた研究を展開する3つの基幹研究部門、目的指向型の研究を展開する3つの基盤研究センター、そして研究医療、探索医療を展開する付属病院から構成されています。ゲノム情報に基づいた医療や再生医療にむけてのプロジェクト研究が力強く進められるとともに、近年社会的な問題ともなっている新興・再興感染症についても、わが国の感染症研究のレベルを高めるとともに、新たな診断法や治療法を開発するために第一線での研究を展開しています。医科学研究所は、情報科学から生命科学、生化学、獣医学、医学にわたる広範な分野を統合しながら医科学研究を推進し、さらにゲノム科学、プロテオーム、再生医学、ナノ科学を新たに取り込みながら“システム医科学”分野を切り開いています。

所 長 山 本 雅

Having spent the preceding 130 years of its illustrious history as a national University, the University of Tokyo became a corporation as of April 2004. Accordingly, the Institute of Medical Science, University of Tokyo (IMSUT) is now one of the branches of the University of Tokyo Corp. From scientific and financial viewpoints, the new system offers more flexibility in building a strong IMSUT. However, we need to recognize that the transition from a national to a semi-private system was performed a little hastily. Therefore, appreciating the advantages of the new over the old system requires creative and persevering efforts that are yet to be made. Fortunately, successful navigation of the corporate system is part of our heritage; IMSUT is the successor to the private Institute for Infectious Diseases that was established in 1892. From the beginning, the Institute was dedicated to basic microbiology and clinical research, producing vaccines and antisera for infectious diseases such as dysentery. Those medicines were utilized for treating patients at the Institute's affiliated hospital. Therefore, the spirit of creative research, translational research and financial independence flows in our veins.

The mission of IMSUT is to advance our basic understanding of infectious diseases, cancer, and other intractable diseases, and ultimately, to control them. Currently IMSUT consists of about 150 faculty members, 100 postdoctoral fellows, and 250 graduate students who bring with them backgrounds from various disciplines such as medicine, chemistry, physics, pharmaceutical science, agriculture, engineering, mathematics and information science. Belonging either to one of the three core research departments, or to one of the three research centers, faculty members, postdocs and students of IMSUT carry out interdisciplinary studies. In the core departments, researchers harness their curiosity, creativity and ingenuity to pursue individual research initiatives aimed at deepening our knowledge of the life sciences and shedding light on the causes of diseases. Researchers in the centers contribute to society primarily through mission-oriented investigations, focusing their research activities toward translational research. Through collaborations, the synergistic work of the departments and centers merge and feed into the advanced clinics of the research hospital. Current research activities at IMSUT include genome-based studies for personalized medicine, stem cell biology for reproductive medicine, translational research for cancer diagnosis and treatment, and basic studies for emerging and reemerging infectious diseases. Research programs at IMSUT cover a wide-range of life sciences, including information sciences, molecular biology, biochemistry, neurobiology, veterinary science, medicine, etc. Further expansions into nano-sciences and material sciences will assure IMSUT a central position in the emerging field of systems medical science.

Tadashi Yamamoto, PhD, Dean



目次 CONTENTS

沿革

HISTORY	1
---------------	---

機構

ORGANIZATION	3
--------------------	---

研究活動

RESEARCH ACTIVITIES

感染・免疫部門

- 細菌感染分野
- 免疫調節分野
- 宿主寄生体学分野
- ウイルス感染分野
- 感染遺伝学分野
- 炎症免疫学分野

Department of Microbiology and Immunology	9
Division of Bacterial Infection	10
Division of Immunology	11
Division of Host-Parasite Interaction	12
Division of Virology	13
Division of Infectious Genetics	14
Division of Mucosal Immunology	15

癌・細胞増殖部門

- 癌細胞シグナル分野
- 腫瘍細胞社会学分野
- 癌遺伝形質分野
- 分子発癌分野
- 腫瘍分子医学分野^æ,
- 腫瘍分子医学分野^{æ,II}
- 腫瘍抑制分野

Department of Cancer Biology	16
Division of Oncology	17
Division of Cancer Cell Research	18
Division of Cancer Genomics	19
Division of Cellular and Molecular Biology	20
Division of Biochemistry(1)	21
Division of Biochemistry(2)	22
Division of Genetics	23

基礎医科学部門

- 分子細胞情報分野
- 神経ネットワーク分野
- 分子構造解析分野
- 脳神経発生・分化分野
- 遺伝子動態分野^æ,
- 遺伝子動態分野^{æ,II}
- 染色体制御分野

Department of Basic Medical Sciences	24
Division of Molecular Cell Signaling	25
Division of Neuronal Network	26
Division of Structural Biology	27
Division of Molecular Neurobiology	28
Division of Molecular Biology(1)	29
Division of Molecular Biology(2)	30
Division of Molecular and Developmental Biology	31

寄付研究部門等

DONATION LABORATORIES

- 幹細胞シグナル分子制御(アムジェン)寄付研究部門
- 細胞プロセッシング(CERES)寄付研究部門
- 造血因子探索(中外製薬)寄付研究部門
- ゲノム情報応用診断(大塚製薬)寄付研究部門・臨床
- ゲノム情報応用診断(大塚製薬)寄付研究部門・基礎
- プロテオーム解析(ABJ&Millipore)寄付研究部門
- 細胞ゲノム動態解析(ビー・エム・エル)寄付研究部門
- 幹細胞組織医工学(歯胚再生学)
- (デニックス・日立メディコ)寄付研究部門
- バイオスタティスティクス人材養成ユニット
- 神経情報シグナルNTT IMSUT共同研究ユニット
- 研究拠点形成治療ベクター開発室
- 研究拠点形成ゲノム医療プロジェクト推進
- 研究拠点形成間葉系幹細胞プロジェクト推進
- 文部科学省再生医療の実現化プロジェクト幹細胞探索領域
- 文部科学省再生医療の実現化プロジェクト幹細胞制御領域

Division of Stem Cell Regulation (AMGEN)	32
Division of Cell Processing (CERES)	33
Division of Hematopoietic Factors (CHUGAI)	34
Division of Genetic Diagnosis (OTSUKA)	35
Division of Genetic Diagnosis (OTSUKA)	36
Division of Proteomics Research (ABJ & Millipore)	37
Division of Cellular Peptomics (BML)	38
Division of Stem Cell Engineering (Tooth Regeneration)	
(DENICS/HITACHI MEDICAL)	39
Laboratory of Biostatistics (Biostatistics Training Unit)	40
Division of Neural Signal Information (NTT IMSUT)	40
Core Faculty For Therapeutic Vector	41
Promotion of Genome Based Medicine Project	41
Mesenchymal Stem Cell Project	42
Project of Developmental Stem Cells	42
Laboratory of Stem Cell Regulation	43

附属研究施設

ヒトゲノム解析センター
ゲノムデータベース分野
DNA情報解析分野
ゲノムシーケンス解析分野
シーケンス技術開発分野
シーケンスデータ情報処理分野
機能解析イン・シリコ分野
ヒト疾患モデル研究センター
細胞機能研究分野
遺伝子機能研究分野
幹細胞治療動物モデル分野
先端医療研究センター
分子療法分野
細胞療法分野
感染症分野
臓器細胞工学分野
免疫病態分野
ゲノム医療情報ネットワーク分野
実験動物研究施設
遺伝子解析施設
奄美病害動物研究施設
附属病院
先端診療部
血液腫瘍内科
感染免疫内科
小児細胞移植科
アレルギー免疫科
ゲノム診療部
放射線科・放射線部
腫瘍外科
麻酔科・手術部
医療安全管理部
医療情報部
セルプロセッシング・輸血部
中央材料部
検査部

教育活動

RESEARCH FACILITIES

Human Genome Center.....	44
Laboratory of Genome Database	45
Laboratory of DNA Information Analysis	46
Laboratory of Molecular Medicine	47
Laboratory of Genome Technology	48
Laboratory of Sequence Analysis	49
Laboratory of Functional Analysis <i>in Silico</i>	50
Center for Experimental Medicine	51
Laboratory of Cell Biology	52
Laboratory of Gene Expression & Regulation	53
Laboratory of Stem Cell Therapy	54
Advanced Clinical Research Center	55
Division of Molecular Therapy.....	56
Division of Cellular Therapy	57
Division of Infectious Diseases	58
Division of Bioengineering	59
Division of Clinical Immunology	60
Division of Medical Data Processing Network System.....	61
Laboratory Animal Research Center	62
Laboratory of Molecular Genetics	63
Amami Laboratory of Injurious Animals	64
Research Hospital	65
Department of Advanced Medical Science	66
Department of Hematology/Oncology	67
Department of Infectious Diseases and Applied Immunology.....	68
Department of Pediatric Hematology/Oncology	69
Rheumatology Clinic	70
Department of Applied Genomics	71
Department of Radiology	72
Department of Surgery	73
Department of Anesthesia and Department of Surgical Center.....	74
Division of Clinical Trial Safety Management	75
Division of Medical Information System	76
Department of Cell Processing and Transfusion	77
Department of Medical Supply Center	78
Department of Laboratory Medicine	79

EDUCATION.....	80
----------------	----

- 明治25年：大日本私立衛生会附属伝染病研究所設立。
(初代所長：北里柴三郎)
- 明治32年：内務省所管の国立伝染病研究所となった。
- 明治39年：現在の港区白金台に新築移転した。
- 大正3年：文部省に移管。
- 大正5年：東京帝国大学附属伝染病研究所となった。
- 昭和22年：厚生省所管の国立予防衛生研究所が設置され、本研究所職員の約半数が移籍した。
- 昭和22年：東京帝国大学は東京大学となった。
- 昭和40年：実験動物研究施設が設けられた。
- 昭和41年：奄美病害動物研究施設が設けられた。
- 昭和42年：伝染病研究所が医科学研究所に改組し、「感染症・がんその他の特定疾患に関する学理及びその応用の研究」を目的とすることになった。医科学研究所は、研究部18部門〔細菌、細菌感染、免疫学、ウイルス、ウイルス感染、寄生虫、アレルギー学、獣医学、制癌、癌細胞学、癌体質学、病理学、微細形態学、化学、細胞化学、生物物理化学、内科学、外科学〕、附属施設3施設〔実験動物研究施設、奄美病害動物研究施設、病院(2診療科：内科、外科)〕で発足した。
- 昭和43年：癌ウイルス研究部が設けられた。
- 昭和44年：癌生物学研究部及び附属病院に放射線科が設けられた。
- 昭和45年：臓器移植生理学研究部が設けられた。
- 昭和45年：生物製剤試験製造施設が設けられた。
- 昭和47年：内科学、外科学研究部は、感染症、癌病態学研究部と改称された。
- 昭和47年：微生物株保存施設及び附属病院に人工臓器移植科が設けられた。
- 昭和49年：細胞遺伝学研究部が設けられた。
- 昭和49年：熱帯病学研修制度が発足した。
- 昭和51年：病態薬理学研究部が設けられた。
- 昭和51年：附属病院に検査部が設けられた。
- 昭和53年：附属病院に中性子診療部が設けられた。
- 昭和55年：遺伝子解析施設が設けられた。
- 昭和56年：生物有機化学研究部及び附属病院に感染免疫内科が設けられた。
- 昭和63年：分子生物学研究部が設けられた。
- 平成元年：生物製剤試験製造施設の改組・転換により分子病態研究施設が設けられた。
- 平成2年：附属病院に輸血部が設けられた。
- 平成3年：生物有機化学研究部の改組・転換により細胞生物化学研究部、また、ヒトゲノム解析センター(ゲノムデータベース分野)及び附属病院に手術部が設けられた。
- 平成4年：創立100周年を迎え、記念式典等挙行了した。ヒトゲノム解析センターにゲノム構造解析分野が設けられた。
- 平成5年：ヒトゲノム解析センターにDNA情報解析分野が設けられた。
- 平成6年：附属病院の中性子診療部が廃止され、エイズ診療部が設けられた。
- 平成7年：遺伝子制御(エーザイ)寄付研究部門、幹細胞シグナル分子制御(アムジェン)寄付研究部門及び細胞プロセスング(旭化成)寄付研究部門が設けられた。
- 平成8年：分子病態研究施設の改組・転換により、ヒトゲノム解析センターにゲノムシークエンス解析分野及びシークエンス技術開発分野が設けられた。造血因子探索(中外製薬)寄付研究部門が設けられた。
- 平成9年：ゲノム知識発見システム(日立)寄付研究部門が設けられた。病院にプロジェクト診療部が設けられた。
- 平成10年：分子生物学研究部が分子細胞制御研究部と改称された。獣医学研究部、癌生物学研究部の改組、転換により、ヒト疾患モデル研究センターが設けられた。人工臓器移植科が小児細胞移植科と改称された。
- 平成11年：生協が改修され、白金ホールとして竣工した。大講堂が改修された。旧寄生虫棟が改修され、標準SNPS解析棟として竣工した。遺伝子制御(エーザイ)寄付研究部門が終了した。
- 平成12年：改組が認められ、従来の23研究部から3部門(感染免疫部門、癌細胞増殖部門、基礎医科学部門)になった。病態薬理学研究部、癌病態学研究部、感染症研究部、人工臓器生理学研究部が廃止され、新たに分子療法学分野、細胞療法学分野、感染症分野、臓器細胞工学分野が発足し、これらを統合する先端医療研究センターが新設された。ヒトゲノム解析センターに新たに3分野(シークエ
- 1892：The Institute for Infectious Disease, a private institute founded by Dr. Shibasaburo Kitasato.
- 1899：The institute was transferred to the Ministry of Internal Affairs.
- 1906：The new building of the institute was build in Shirogane-dai, Minatoku.
- 1914：The institute was transferred to the Ministry of Education.
- 1916：The institute was incorporated into the University of Tokyo.
- 1947：The institute offered about half of its personnel, facilities, and space to establish the "National Institute of Health", under the control of the Ministry of Public Health and Welfare.
- 1965：Laboratory Animal Research Center
- 1966：Amami Laboratory of Injurious Animals.
- 1967：The name of the institute was changed to the Institute of Medical Science. Its primary aims and scope had been defined as basic and applied studies of diseases of medical importance. The institute contained 18 research departments (Bacteriology, Bacterial Infection, Immunology, Virology, Viral Infection, Parasitology, Allergology, Reproductive and Developmental Biology, Oncology, Cancer Cell Research, Tumor Biology, Pathology, Fine Morphology, Molecular Neurobiology, Cell Chemistry, Molecular Biology, Internal Medicine, Surgery) and three facilities (Laboratory Animal Research Center, Amami Laboratory of Injurious Animals, Hospital)
- 1968：Department of Tumor Virus Research.
- 1969：Department of Molecular Oncology, Radiology (Hospital).
- 1970：Department of Organ Transplantation.
- 1970：Laboratory of Biological Products.
- 1972：Internal Medicine and Surgery were renamed to, Infectious Diseases and Clinical Oncology, respectively.
- 1972：Laboratory of Culture Collection, Department of Transplantation Surgery (Hospital).
- 1974：Department of Genetics.
- 1974：Course of Tropical Medicine had been held.
- 1976：Department of Pathological Pharmacology.
- 1976：Department of Laboratory Medicine (Hospital).
- 1978：Medical Cyclotron Laboratory (Hospital).
- 1980：Laboratory of Molecular Genetics.
- 1981：Department of Biochemistry, Department of Infectious Disease and Applied Immunology (Hospital).
- 1987：Department of Molecular and Developmental Biology.
- 1989：Laboratory of Culture Collection had been changed to change to Laboratory of Molecular Medicine.
- 1990：Department of Blood Transfusion (Hospital).
- 1991：Human Genome Center (Laboratory of Genome Database), Surgical Center (Hospital).
- 1992：The institute celebrated 100 anniversary of its establishment. Human Genome Center (Laboratory of Genome Structure Analysis).
- 1993：Human Genome Center (Laboratory of DNA Information Analysis).
- 1994：Medical Cyclotron Laboratory was abolished. Department of Clinical AIDS Research.
- 1995：Donation Laboratories of Gene Regulation, Stem Cell Regulation (AMGEN) and Cell Processing (ASAHI CHEMICAL).
- 1996：Laboratory of Molecular Medicine was remodeled into Human Genome Center (Laboratory of Molecular Medicine and Laboratory of Genome Technology). Donation Laboratory of Hemopoietic Factors (CHUGAI).
- 1997：Donation Laboratory Genome Knowledge Discovery System (HITACHI). Department of Advanced Medical Science (Hospital).
- 1998：Molecular and Developmental Biology was renamed to the same DNA Biology and Embryo Engineering and Molecular Oncology were made to change to Center for Experimental Medicine Transplantation Surgery was renamed to Pediatric Hematology Oncology
- 1999：Welfare Building "Shirokane Hall" was renovated. Auditorium was renovated. Old Parasitology Building was renovated to new "SNPS Building". Donation Division of Gene Regulation (Eisai) was closed.
- 2000：The former 23 departments were reorganized to three departments (Microbiology-Immunology, Cancer Biology and Basic Medical Sciences). Department of Pathological Pharmacology, Department of Clinical Oncology, Department of Infectious Diseases, and Department of Transplantation Surgery were renamed to Division of Molecular Therapy, Division of Cel-

ンスデータ情報処理分野，ゲノム機能解析分野，機能解析イン・シリコ分野）の増設が認められた。

微生物株保存施設が廃止された。

ゲノム情報応用診断（大塚製薬）寄付部門が設けられた。

ゲノム知識発見システム（日立）寄付研究部門が終了した。

細胞プロセッシング（旭化成）寄付研究部門が旭化成とニッショーの2社の寄付研究部門として再発足した。

平成13年：病院が改組され、病院のエイズ診療部が廃止され、病院にゲノム診療部、医療安全管理部、先端医療研究センターに免疫病態分野が新設された。同時に、内科、外科、小児細胞移植科、感染免疫内科、臓器移植科を廃止し、内科、外科、放射線科の3診療科に統合された。

プロテオーム解析（ABJ & Millipore）寄付研究部門が設けられた。

近代医科学記念館を開設した。

平成14年：細胞ゲノム動態解析（ビー・エム・エル）寄付研究部門が設けられた。

平成15年：総合研究棟・新病院棟が竣工した。バイオスタティスティクス人材養成ユニット（京都大学 医科学研究所）が設けられた。神経情報シグナル共同研究ユニット（NTT 医科学研究所）が設けられた。

幹細胞組織医工学（歯胚再生学）（デニックス・日立メディコ）寄付研究部門が設けられた。

平成16年：国立大学法人法（平成15年法律第112号）により東京大学は国立大学法人東京大学と改称となった。

ular Therapy, Division of Infectious Diseases, and Division of Bioengineering, respectively, and The Advanced Clinical Research Center was established to unify four Divisions.

Three divisions (Laboratory of Sequence Analysis, Laboratory of Functional Genomics, Laboratory of Functional *in Silico*) were added in Human Genome Center. Laboratory of Culture Collection was abrogated.

Donation Division "Genetic Diagnosis (OTSUKA)" was established.

Donation Division of Genome Knowledge Discovery System (HITACHI) was closed.

Donation Division of Cell Processing(ASAHI CHEMICAL and NISSHO)

2001: Department of Clinical AIDS Research was reorganized into Department of Genomic Medicine and Department of Safety Management in the Hospital, and Division of Clinical Immunology in the Advanced Clinical Research Center. At the same time, five clinical departments were unified into three Departments of Internal Medicine, Surgery and Radiology.

Donation Division of Proteomics Research (ABJ & Millipore).

The Medical Science Museum was built and opened.

2002: Donation Division of Cellular Proteomics (BML).

2003: General Research Building and Hospital Building was completed. Three donation laboratories/divisions were established.

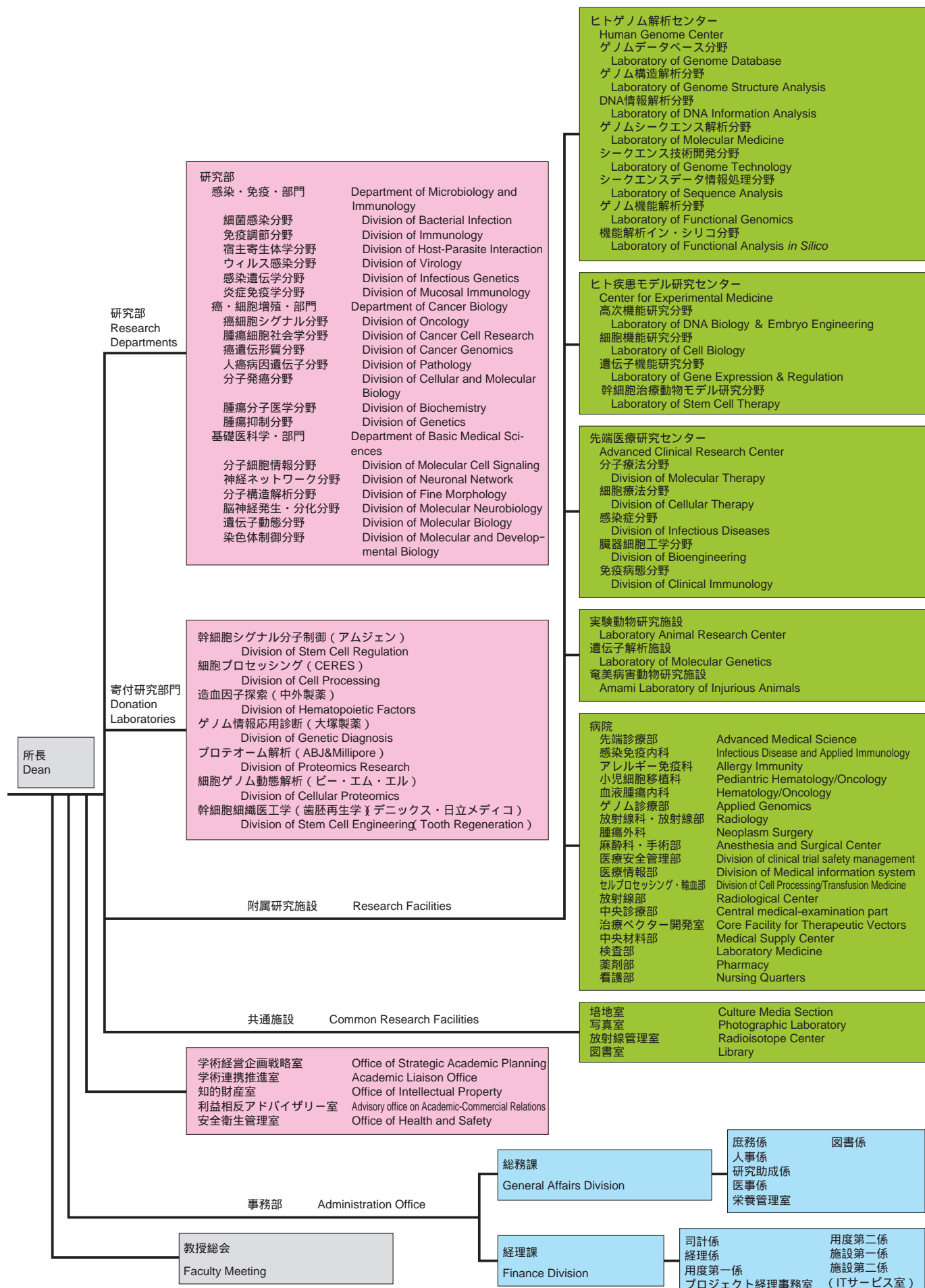
Donation Laboratory of Biostatistics (Kyoto univ IM-SUT)

Donation Division of Neural Signal Information (NTT IM-SUT)

Donation Division of Stem Cell Engineering (Tooth Regeneration X Denics, Hitachi Medical)

2004: The University of Tokyo became the National Universities corporation University of Tokyo and was renamed in accordance with the law establishing the National Universities corporation (Heisei 15 law No. 112)

機 構 ORGANIZATION



構内配置図

MAP OF THE INSTITUTE



1号館



- 4階 写真室・電話交換室
- 3階 感染症分野・分子療法分野・ゲノム医療情報ネットワーク分野・先端診療部
- 2階 腫瘍分子医学分野・宿主寄生体生物学分野・新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻・安全衛生管理室
- 1階 感染遺伝学・臓器細胞工学・事務部・看護部
- 地階 細胞療法・宿主寄生体学・医療安全管理部

4号館



- 4階 免疫調節分野・免疫病態分野
- 3階 細胞機能研究分野
- 2階 RI研究施設
- 1階 RI研究施設・放射線管理室
- 地階 RI研究施設

合同ラボ棟



- 3階 染色体制御分野・幹細胞組織医学(歯胚再生)(デニックス・日立メディコ)部門
- 2階 ゲノム情報応用診断(大塚製薬)部門
- 1階 遺伝子動態分野・プロテオーム解析(ABJ・Millipore)部門・細胞ゲノム動態(BML)部門

アムジェンホール

- 2階 会議室
- 1階 幹細胞シグナル分子制御(アムジェン)部門

旧ゲノム解析センター

- 2階 バイオスタティスティクス人材養成ユニット
- 1階 計算室 他

臨床研究A棟

- 3階 細胞プロセスシグナリング(CERES)・治療ベクター開発室
- 2階 先端医療研究センター
- 1階 幹細胞治療動物モデル分野
- 地階1階 先端医療研究センター
- 地階2階 ゲノムシークエンス解析分野

2号館



- 4階 分子発癌分野
- 3階 分子発癌分野
- 2階 新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻
- 1階 分子構造解析分野

ヒトゲノム解析センター



- 4階 ゲノムデータベース分野・シークエンスデータ情報処理分野
- 3階
- 2階 遺伝子多型センター
- 1階 放射線管理室

附属病院A棟(病院棟)



- 8階 会議室
- 7階 病棟
- 6階 病棟
- 5階 病棟
- 4階 病棟
- 3階 手術部・中央材料部
- 2階 検査部・放射線部
- 1階 外来・薬剤部
- 地下1階 薬剤部・栄養管理室
- 地下2階 エネルギーセンター

臨床研究B棟

- 1階 造血因子探索(中外製薬)部門

研究棟(別館)

- 2階 幹細胞治療動物モデル分野
再生医療の実現化プロジェクト(幹細胞制御)
- 1階 癌遺伝形質分野

3号館



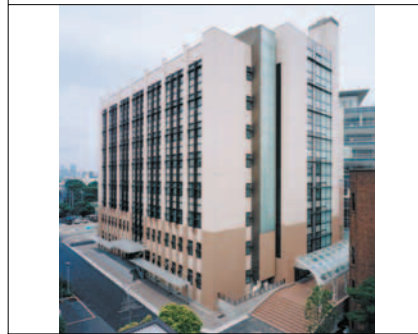
- 4階 遺伝子解析施設・癌細胞シグナル分野
- 3階 癌細胞シグナル分野・腫瘍細胞社会学分野・新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻
- 2階 脳神経発生・分化分野・神経ネットワーク分野
- 1階 腫瘍分子医学分野・神経シグナル共同研究ユニット
- 地階 培地室

動物センター



実験動物研究施設

総合研究棟



- 8階 機能解析イン・シリコ分野・DNA情報解析分野
- 7階 ゲノムシークエンス解析分野
- 6階 シークエンス技術開発分野・遺伝子多型センター
- 5階 遺伝子動態分野・腫瘍抑制分野
- 4階 分子細胞情報・炎症免疫学分野
- 3階 ウイルス感染分野・細菌感染分野
- 2階 幹細胞治療動物モデル分野・実験動物研究施設
- 1階 遺伝子機能解析分野
- 地下1階 実験動物センター
- 地下2階 機械室

敷地・建物

BUILDING AREA

所在地：医科学研究所 / 東京都港区白金台4丁目6番1号

奄美病害動物研究施設 / 鹿児島県大島郡瀬戸内町大字手安字須手802

	敷 地	建 物	
		建 面 積	延 面 積
港 区 地 区	m ³	m ³	m ³
研 究 所	68,907	11,885	54,764
病 院		4,093	23,102
小 計	68,907	15,978	77,866
奄 美 地 区	8,834	805	805
計	77,741	16,783	78,671

(平成16.5.1現在)

主要建物内訳

名 称	構 造	建面積	延面積	建築年月
1 号 館	鉄筋コンクリート造3階建(一部5階)地下1階	m ³	m ³	昭 9 . 3
2 号 館	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	704	4,141	昭45 . 3
3 号 館	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	898	5,592	昭58 . 9
4 号 館	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	834	4,411	平 7 . 2
総 合 研 究 棟	鉄骨鉄筋コンクリート造8階建地下2階	1,415	12,825	平15 . 3
附属病院A棟(病院棟)	鉄骨鉄筋コンクリート造8階建地下2階	1,539	15,767	平15 . 3
附属病院B棟(旧診療棟)	建鉄筋コンクリート造2階建地下1階	815	2,156	昭53 . 3
附属病院C棟(旧MRI棟)	鉄筋コンクリート造2階建	225	457	平 8 . 3
リニアック室	鉄筋コンクリート造平屋建	63	63	昭39.10
シンチスキャナー室	鉄筋コンクリート平屋建	77	77	昭46 . 3
解 剖 室	鉄筋コンクリート造平屋建	153	153	昭15.10
臨 床 研 究 A 棟	鉄筋コンクリート造5階建地下2階	252	2,542	昭48 . 3
臨 床 研 究 B 棟	コンクリートブロック造平屋建	268	268	昭41 . 3
ベクター開発室	鉄骨造平屋建	231	231	平14 . 3
研究棟(別館)	耐火造混用2階建	239	468	昭17 . 3
合 同 ラ ボ 棟	鉄骨造3階建	670	1,995	平13 . 3
ヒトゲノム解析センター	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	842	4,554	平 9 . 3
動 物 セ ン タ ー	鉄筋コンクリート造5階建地下1階	475	3,798	昭45.12
アムジェンホール	鉄骨造2階建	241	482	平 8 . 3
旧ゲノム解析センター	鉄骨造2階建	267	536	平 4 . 2
クレストホール	鉄骨造2階建	249	480	平 9 . 3
看 護 師 宿 舎	鉄筋コンクリート造3階建(一部4階)	457	1,375	平 6 . 3
集 会 所	木造平屋建	248	248	昭25.10
白 金 ホ ー ル	鉄骨造2階建	396	624	平12 . 1
近代医科学記念館	鉄筋コンクリート造1階建	304	303	平13 . 3
そ の 他 建 物	倉庫等(外国人宿舎及び国際交流会館は含まない)	583	783	
計		15,978	77,866	

予 算 ACCOUNTS

予 算

(平成15年度)
(単位: 円)

	研 究 所	病 院	計
人 件 費	2 291 ,177 ,976	1 ,195 ,011 ,854	3 486 ,189 ,830
物 件 費	2 804 ,877 ,532	2 ,773 ,159 ,470	5 578 ,037 ,002
計	5 096 ,055 ,508	3 968 ,171 ,324	9 064 ,226 ,832

科学研究費	個人経理	5 ,700 ,000	} 合計	1 ,126 ,500 ,000
	機関経理	1 ,120 ,800 ,000		
委任経理金		615 ,877 ,648		
産学連携研究費 (出資金含む)		2 ,861 ,874 ,320		

病 院

1. 予算病床数

(平成16.3 現在)

内 科	外 科	放射線科	小児細胞 移 植 科	感染免疫内科	計
65	40	0	10	20	135床

2. 患者延数

(平成15年度)

	内 科 感染免疫内科	外 科	小児細胞 移 植 科	放射線科	計
外 来	15 ,887	6 ,300	283	710	23 ,180
入 院	17 ,853	7 ,828	1 ,457	0	27 ,138

3. 病院収入

(平成15年度)

外 来	入 院	計
893 251 ,660	1 534 ,975 ,529	2 428 227 ,189

図 書

(平成16.3 末現在)

	洋 書	和 書	計
蔵 書	54 ,943	9 ,666	64 ,609
定期刊行物	962	320	1 282種類

職員 STAFF

所 長
Dean

山本 雅
Tadashi Yamamoto

現員（平成16.5現在）

		研究所 Institute	病 院 Hospital	計 Total
教 授	Professor	31	1	32
助教授	Associate Professor	15	5	20
講 師	Lecturer	9	7	16
助 手	Research Associate Clinical Associate	59	16	75
事務職	Official	33	7	40
技術職	Technical Official	53	110	163
計		200	146	346

客員教授等（寄付研究部門）Visiting Faculties

	幹細胞シグナル 分子制御	細 胞 プロセッシング	造血因子 探 索	ゲノム情報 応用診断	プロテオーム 解 析	細胞ゲノム 動態解析	幹細胞組織医 工学(産医再生学)	計
客員教授	1	1			1	1	1	5
客員助教授			1	2	1		1	5
教員(助手相当)	2	1	2	2	1	2	1	11

大学院生 Graduate Students

研 究 科	修 士	博 士	計
医 学 系	7	172	179
理 学 系	12	15	27
農 学 生 命 科 学	0	6	6
薬 学 系	1	4	5
情 報 理 工 学 系	6	0	6
新領域創成科学	21	8	29
計	47	205	252

研 究 生	Research Students	23
非常勤医師	Part-time Physicians	5
非常勤講師	Part-time Lecturers	27

事 務 部 Administration

事務部長

Secretary General

木 村 憲

Yoshimi Kimura

総 務 課 長	紺 野 鉄 二	経 理 課 長	重 光 良 一
総務課副課長	柳 沢 久 男	経理課副課長	古 谷 國 弘
専 門 員	金 子 齋 子	専 門 員	新 妻 一 三
専 門 員	小 林 隆 之	主 査	村 田 和 男
栄養管理室長	畠 山 高 年	司 計 係 長	上 原 功
庶 務 係 長	菊 地 みつ子	経 理 係 長	川 合 勇美子
人 事 係 長	柳 川 恵 雨	用度第一係長	金 枝 久 子
研究助成係長(兼)	金 子 齋 子	用度第二係長	金 木 茂
医事係長(兼)	小 林 隆 之	施設第一係長	小 川 友 明
図 書 係 長	吉 田 登	施設第二係長(兼)	村 田 和 男

歴代所長

FORMER DEANS

初代	北里	柴三郎	明25.11.30 ~ 大3.11.5	Shibasaburo Kitasato	1892 ~ 1914
事務取扱	福原	鐐二郎	大3.11.5 ~ 大4.1.15	Ryojiro Fukuhara	1914 ~ 1915
第2代	青山	胤通	大4.1.15 ~ 大5.3.31	Tanemichi Aoyama	1915 ~ 1916
第3代	林	春雄	大5.4.1 ~ 大8.6.4	Haruo Hayashi	1916 ~ 1919
第4代	長与	又郎	大8.6.4 ~ 昭9.2.1	Mataro Nagayo	1919 ~ 1934
第5代	宮川	米次	昭9.2.1 ~ 昭15.11.20	Yoneji Miyagawa	1934 ~ 1940
第6代	三田村	篤志郎	昭15.11.20 ~ 昭19.5.13	Tokushiro Mitamura	1940 ~ 1944
第7代	田宮	猛雄	昭19.5.13 ~ 昭24.3.31	Takeo Tamiya	1944 ~ 1949
第8代	長谷川	秀治	昭24.3.31 ~ 昭31.3.15	Shuji Hasegawa	1949 ~ 1956
第9代	武田	徳晴	昭31.3.15 ~ 昭31.12.1	Yoshiharu Takeda	1956 ~ 1956
第10代	長野	泰一	昭31.12.1 ~ 昭33.12.1	Yasuichi Nagano	1956 ~ 1958
第11代	工藤	正四郎	昭33.12.1 ~ 昭40.4.1	Masashiro Kudo	1958 ~ 1965
第12代	山本	郁夫	昭40.4.1 ~ 昭43.11.14	Ayao Yamamoto	1965 ~ 1968
第13代	佐々	之学	昭43.11.14 ~ 昭46.7.22	Manabu Sasa	1968 ~ 1971
事務取扱	常松	之典	昭46.7.22 ~ 昭46.12.31	Yukinori Tunematu	1971 ~ 1971
第14代	佐々	学正	昭47.1.1 ~ 昭48.6.30	Manabu Sasa	1972 ~ 1973
第15代	山下	寛人	昭48.7.1 ~ 昭52.3.31	Tadashi Yamamoto	1973 ~ 1977
第16代	積田	亨	昭52.4.1 ~ 昭54.3.31	Hiroto Shimojo	1977 ~ 1979
第17代	小高	健	昭54.4.1 ~ 昭58.3.31	Toru Tsumita	1979 ~ 1983
第18代	小豊	久真男	昭58.4.1 ~ 昭62.3.31	Takeshi Odaka	1983 ~ 1987
第19代	木幡	陽	昭62.4.1 ~ 平2.3.31	Kumao Toyoshima	1987 ~ 1990
第20代	廣澤	一成	平2.4.1 ~ 平4.3.31	Akira Kobata	1990 ~ 1992
第21代	吉田	光昭	平4.4.1 ~ 平8.3.31	Kazushige Hirosawa	1992 ~ 1996
第22代	新井	賢一	平8.4.1 ~ 平10.3.31	Mitsuaki Yoshida	1996 ~ 1998
第23代	山本	雅	平10.4.1 ~ 平15.3.31	Ken-ichi Arai	1998 ~ 2003
第24代			平15.4.1 ~	Tadashi Yamamoto	2003 ~

歴代病院長

FORMER DIRECTORS OF THE RESEARCH HOSPITAL

初代	高木	友枝	明28.9.16 ~ 明29.7.30	Tomoe Takagi	1895 ~ 1896
第2代	守屋	伍造	明32.4.5 ~ 明34.5.13	Gozou Moriya	1899 ~ 1901
第3代	柴山	五郎作	明34.5.14 ~ 大3.6	Gorosaku Shibayama	1901 ~ 1914
第4代	二木	謙三	大3.11.5 ~ 大9.12.4	Kenzo Futaki	1914 ~ 1920
第5代	宮川	米次	大9.12.4 ~ 昭20.10.3	Yoneji Miyagawa	1920 ~ 1945
事務取扱	田宮	猛雄	昭20.10.3 ~ 昭21.3.9	Takeo Tamiya	1945 ~ 1946
第6代	美甘	義夫	昭21.3.9 ~ 昭26.10.30	Yoshio Mikamo	1946 ~ 1951
第7代	北本	治雄	昭26.11.1 ~ 昭44.3.31	Osamu Kitamoto	1951 ~ 1969
第8代	石橋	幸雄	昭44.4.1 ~ 昭46.3.31	Yukio Ishibashi	1969 ~ 1971
第9代	稲生	綱政	昭46.4.1 ~ 昭49.3.31	Tsunamasa Inou	1971 ~ 1974
第10代	真下	啓明	昭49.4.1 ~ 昭52.3.31	Keimei Mashimo	1974 ~ 1977
第11代	大谷	杉士	昭52.4.1 ~ 昭56.3.31	Sugishi Ootani	1977 ~ 1981
第12代	藤井	源七郎	昭56.4.1 ~ 昭60.3.31	Genshitiro Fujii	1981 ~ 1985
第13代	三輪	史朗	昭60.4.1 ~ 昭62.3.31	Shiro Miwa	1985 ~ 1987
第14代	秋山	暢夫	昭62.4.1 ~ 平3.3.31	Nobuo Akiyama	1987 ~ 1991
第15代	島田	馨隆	平3.4.1 ~ 平6.3.31	Kaoru Shimada	1991 ~ 1994
第16代	浅野	茂	平6.4.1 ~ 平15.8.31	Shigetaka Asano	1994 ~ 2003
第17代	岩本	愛吉	平15.9.1 ~	Aikichi Iwamoto	2003 ~

本研究部門では、感染とその発症の分子機構、免疫における自己・非自己の分子識別および生体防御調節機構の解明を行ない、それらを感染と免疫に関連する疾患の制御ならびに予防に応用することを目指している。現在は細菌感染、ウイルス感染、宿主寄生体学、免疫調節、炎症免疫学、感染遺伝学の6つの分野と、さらに寄付研究部門（細胞ゲノム動態解析分野）を加えたグループから構成されている。これらの研究グループでは病原体と宿主の一方にのみ片寄ることなく、分子、細胞から個体レベルまでを包含した幅広い研究を展開していることが特徴である。また本研究部門では、国内外の大学および国公立研究機関と積極的な共同研究を行ない多くの学術的成果をあげてきたが、一方で、それらの知見を感染症や免疫病の予防や治療へ応用するための新技術あるいは創薬の開発を目指して、医薬品関連企業や臨床医等との共同研究も積極的に推進している。近年の新興・再興感染症の出現により病原微生物、感染免疫、感染遺伝学およびゲノム創薬の研究の重要性が再認識されているが、この方面の研究者は我が国では少ない。そこで本研究部門は、感染・免疫学の我が国の中核として研究交流活動を推進するとともに、次世代の優秀な研究・教育者を育成することも重要な使命の一つとしている。



図1 防護服を着用した状態でのウイルス感染実験
Fig. 1 Viral infection experiments with protective equipment.

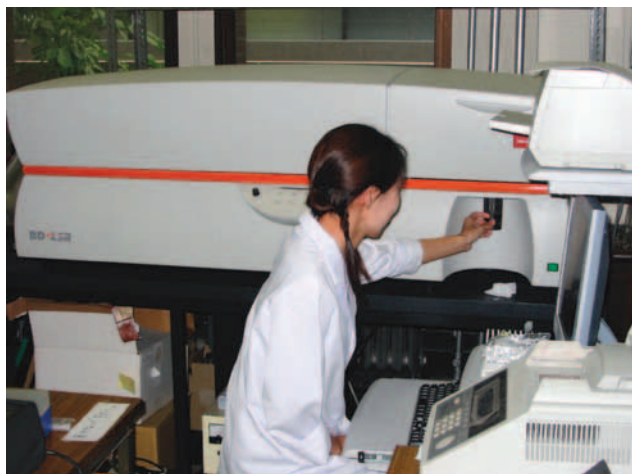


図2 フローサイトメトリーによる各種細胞の解析と分取

Fig. 2 Flowcytometric analysis and cell sorting.

The scope of our research in this department includes the elucidation of the molecular interactions between pathogens and the host that are necessary for the establishment of infectious diseases, molecular recognition of self and non self by the immune system, and modulatory mechanisms of host defence systems. Understanding the molecular bases for such processes will be applied to the development of novel approaches for preventing or controlling infectious diseases and immune disorders. The department is composed of several groups working on bacterial infection, viral infection, host parasite relationships, molecular and cellular immunology, mucosal immunity, compromised host genetics and developmental gene regulation. Although each research group has particular interests in either the pathogen or the host, their research is not limited to one or other of these biological systems. Rather, their research covers a wide range of dynamic interactions between microbes and the host in the development of infectious diseases and the distinction between self and non self in immune systems. Our department has been successfully promoting basic research in the area of infection and immunity in collaboration with many other groups in this and other countries. In addition, we have actively engaged in promoting collaborative projects with various groups in pharmaceutical companies and clinical laboratories for the development of drugs, vaccines and immunobiomaterials. The growing concern in emerging and re emerging infectious diseases demands further support of the basic research that we have developed in our department. Our department, as one of the pioneer groups in our country, strongly endeavours to promote and expand our research activity, our collaborations with other groups engaged in studies of infection and immunity, and the training and professional development of young independent investigators through studies in the department.

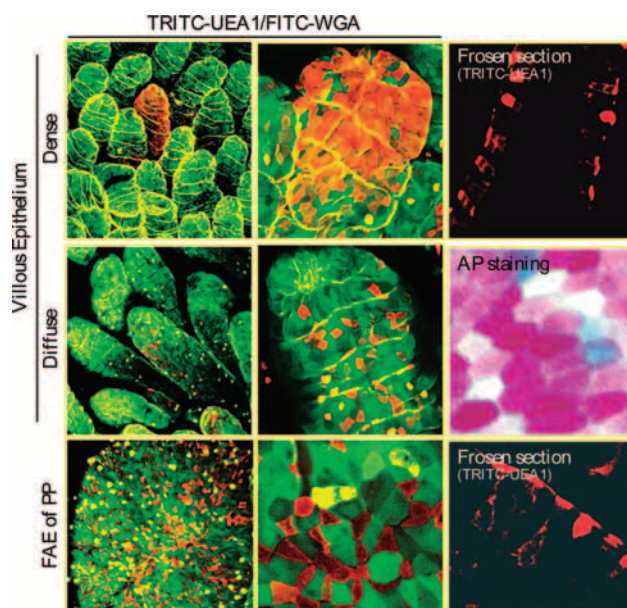


図3 Villous M Cell (絨毛M細胞) の発見

Fig. 3 Discovery of intestinal villous M cells.

教授 医学博士 笹川 千尋
 講師 医学博士 鈴木 敏彦
 助手 医学博士 小川 道永
 助手 医学博士 三室 仁美

Professor: Chihiro Sasakawa, D. M. Sc.
 Lecturer: Toshihiko Suzuki, D. M. Sc.
 Research Associate: Michinaga Ogawa, D. M. Sc.
 Research Associate: Hitomi Mimuro, D. M. Sc.

本研究分野では、主要な消化器系粘膜病原細菌である赤痢菌、腸管病原性大腸菌、ヘリコバクターピロリの病原性および感染成立にいたる細菌と宿主の相互作用を分子レベルで明らかにすることを目標に研究を行っている。さらにその知見をもとに、ワクチンの開発、マウス等動物を用いた疾患モデルの開発ならびに細菌感染症の診断、予防、治療へ応用することを意図している。また、本分野内には微生物株保存室（旧微生物株保存施設）を設置し、研究・教育・臨床検査に必要な標準的病原細菌株の、収集・保存・分譲および情報公開（<http://www.nbrp.jp/>）をおこなっている。

æ, 赤痢菌

赤痢菌は開発途上国において乳幼児の下痢症による死亡例の約5割を占める細菌性赤痢の起因菌である。本菌は腸管下部に到達後粘膜上皮へ侵入する。さらに上皮細胞内では菌体の一端でアクチン重合を誘導して細胞内・隣接細胞へ拡散する。赤痢菌の粘膜上皮への感染に伴う細胞内のシグナル伝達、細胞骨格再構成、細胞死誘導機構等を明らかにするとともに、赤痢菌のタイプⅡ分泌装置から分泌されるエフェクター分子による宿主自然免疫反応制御の分子機構を解明する。これらの知見に基づいて新規赤痢ワクチンの開発を行う。

æ,, 腸管病原性大腸菌

病原性大腸菌は、保有する病原因子により、消化管、尿路、髄膜といった様々な組織を標的として感染し多様な病態を形成する。そのなかで腸管病原性大腸菌（およびO157:H7）は腸管上皮細胞へ密着後、タイプⅢ分泌装置を通じてエフェクターを分泌することにより上皮細胞機能を様々に修飾し炎症性の下痢を引き起こす。本菌の感染により阻害される細胞機能を明らかにし、病態形成に至る菌と宿主の相互作用を細胞、組織、個体レベルで解明する。

æ", ヘリコバクターピロリ

ヘリコバクターピロリは胃上皮細胞に長期間持続感染し、胃炎、胃潰瘍、胃ガン、MALTリンパ腫のリスクファクターとして注目されている。本菌は胃上皮細胞へIL-8を誘導し、また同時に菌から胃上皮細胞へCagAエフェクターを分泌する。その結果、上皮細胞の増殖シグナルが活性化される一方細胞死が抑制される。本菌の感染により誘導される、炎症、細胞増殖、細胞死に関わる菌と宿主の相互作用を解明し、また本菌の長期間持続感染機構を明らかにしてその制御法の開発を目指す。

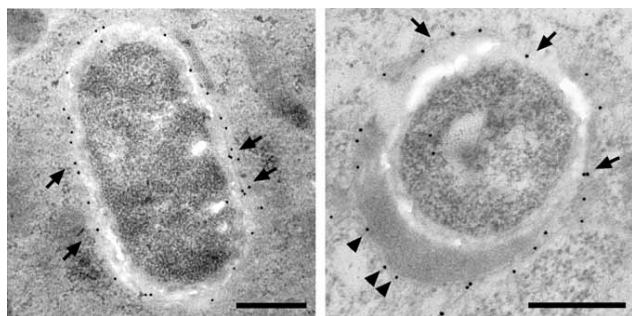


図1 オートファゴソームに捕足された細胞内赤痢菌（金コロイドはオートファゴソームのマーカータンパク質LC3を示す）

Fig. 1 Immuno electron micrographs of autophagosome accumulation around intracellular *Shigella* (gold colloids indicate LC3, a marker protein of autophagosomes).

Our main area of interest is in the molecular interaction of pathogenic bacteria such as *Shigella*, enteropathogenic *Escherichia coli*, or *Helicobacter pylori* with host epithelial cells at the early stages of infection. Our major concern is the elucidation of molecular mechanisms underlying the processes leading to infectious diseases, which include bacterial attachment to or invasion of host cells, intracellular multiplication, cell cell spreading, and modulation of or evasion from host innate immune responses. The ultimate aim of these research programs is the development of attenuated vaccines, the construction of animal models, and improvement in the diagnosis and prevention of bacterial infection.

æ, *Shigella* invade colonic epithelial cells, where the pathogen can multiply and spread within and into neighboring cells by exploiting actin polymerization at one pole of the bacterium. During bacterial infection, strong inflammatory responses are elicited from the host cells. To elucidate the bacterial infectious process at molecular, cellular and tissue levels, we are currently making efforts to identify the bacterial factors and their target host factors or functions. We also intend to elucidate the bacterial strategies used to modulate or elude the host innate immune system.

æ,, Pathogenic *E. coli* are diverse, including various *E. coli* spp. causing watery diarrhoea, bloody diarrhoea (hemorrhagic colitis), inflammatory diarrhoea, urinary tract infection or meningitis/sepsis. We are currently focusing on enteropathogenic *E. coli* (EPEC), since, as a model for O157 infection, EPEC attaches to the intestinal epithelium and effaces brush border villi by secreting a subset of effectors via the type III secretion system. We intend to elucidate the roles of bacterial effectors and the host responses such as cell death, inflammation and cell cell dissociation.

æ", *Helicobacter pylori* is responsible for the majority of gastric infectious diseases worldwide. *H. pylori* colonizes the antrum and corpus of the gastric mucosa and its presence is associated with severe pathologies such as chronic gastritis and gastroduodenal ulcer disease, mucosa associated lymphoid tissues (MALT) lymphoma and gastric adenocarcinoma. We aim to uncover the molecular mechanisms of the long term bacterial infection of gastric epithelial cells and elucidate the roles of bacterial effectors.

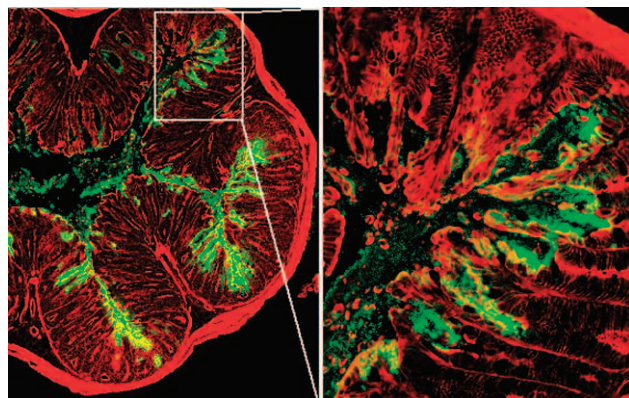


図2 ヒトに特異的な腸管系病原細菌のモデルとして *Citrobacter rodentium* をマウス結腸に感染させた病理組織像（菌は緑、組織のF アクチンは赤で染色）

Fig. 2 Colonization of *Citrobacter rodentium* in the distal colon of mouse (bacteria and F actin in the tissue are visualized with green and red fluorescence, respectively).

教授	医学博士	高 津 聖 志
助教授	医学博士	高 木 智
助 手	医学博士	田 村 敏 生
助 手	医学博士	紅 露 拓
助 手	医学博士	刈 米 ア イ

Professor: Kiyoshi Takatsu, Ph. D.

Associate Professor: Satoshi Takaki, M. D., Ph. D.

Research Associate: Toshiki Tamura, Ph. D.

Research Associate: Taku Kouro, M. D., Ph. D.

Research Associate: Ai Kariyone, Ph. D.

ウイルス、病原性微生物やアレルゲンなどの外来抗原に対する免疫応答の機構とその異常を細胞レベル、分子レベルで明らかにすること、免疫応答の破綻から派生する免疫異常症の解明と治療モデルを見いだすことを目指している。

æ, IL 5とその受容体 (IL 5R) に関する研究

IL 5は特異的受容体を介してB細胞や好酸球、好塩基球に作用する。IL 5/IL 5R系の生体内での役割を解明するため、IL 5依存性のB 1細胞亜集団の前駆細胞からの分化経路およびIgA産生細胞への終末分化機構を調べている。また、CD38刺激したB細胞はIL 5によりIgG1産生細胞へ分化するが、その分子機構を明らかにするためCD38の下流シグナルおよびIL 5によるクラススイッチ機構を解析している。また、IL 5による好酸球の分化、維持、活性化機構を解析している。

æ,, 免疫担当細胞の産生・維持とLnkファミリーアダプター蛋白質群に関する研究

免疫系を構築する造血系細胞群の産生・維持機構について、細胞内アダプター蛋白質Lnkおよびそのファミリー蛋白質APS, SH2 Bに着目し解析を進めている。Lnk欠損により著しい造血幹細胞の増幅、造血能の亢進が生じることから、Lnkファミリーを介する抑制性制御機構の存在を明らかにしている。この制御系の解明及び修飾による造血幹細胞の増幅・機能制御、免疫担当細胞制御への応用を検討している。

æ” 結核菌由来ペプチドによるTh1/Th2分化機構の研究

ヘルパーT (Th) 細胞は抗原刺激を受けると、産生するサイトカインが異なるTh1及びTh2細胞へと分化する。結核菌由来ペプチドによる選択的なTh1細胞への分化誘導系を用いて、Th1/Th2細胞の分化決定機構の解明及び分化制御技術の開発を試みている。また、感染免疫、腫瘍免疫の増強・制御効果を検討し、その応用を目指している。

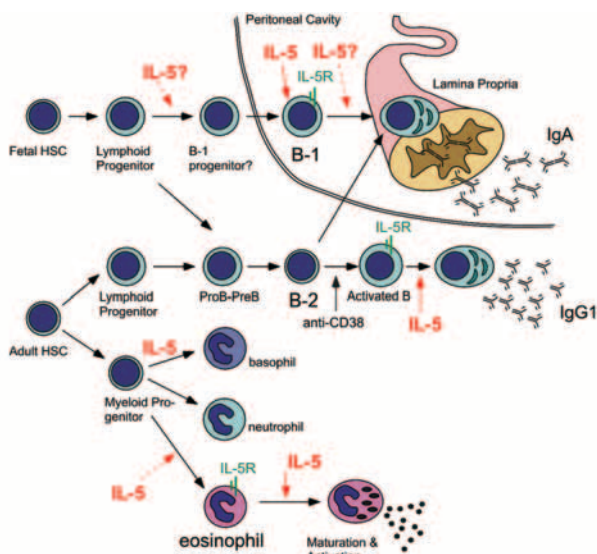


図 1
IL 5/IL 5R系の生理作用

Fig. 1
Physiological roles of IL 5/IL 5R system

Our major research interests are to elucidate cellular and molecular mechanisms of cell to cell interactions in the immune system in order to understand the regulatory mechanisms of early development of lymphoid cells and signal transduction through antigen receptor complexes and cytokine receptors.

æ, IL 5 acts on B cells, eosinophils and basophils through its specific receptor. To reveal physiological roles of IL 5/IL 5R system, we are investigating differentiation pathway of IL 5 dependent B 1 cells from their progenitors and terminal differentiation to IgA producing cells. We are also investigating CD38 signaling pathway and IL 5 mediated class switch machinery since IL 5 induces IgG1 production on CD38 activated B cells. Roles of IL 5 on differentiation, maintenance and activation of eosinophils are also of our interest.

æ,, We are investigating regulatory mechanisms mediated through the adaptor protein Lnk and its family proteins, APS and SH2 B, for the production and activation of lymphocytes and hematopoietic stem cells. Expansion of hematopoietic progenitor cells as well as B precursors are enhanced in the absence of Lnk. We are trying to elucidate the novel negative regulatory mechanisms mediated by Lnk adaptor proteins and to establish modification procedures for controlling hematopoietic progenitor functions and homeostasis of immune system.

æ” Naive CD4⁺ Th cells differentiate into at least two distinct subsets, Th1 and Th2, with different cytokine secretion profiles. We are trying to investigate signaling pathways determining the Th1/Th2 fate by using a unique peptide from *M. tuberculosis* that primarily promotes Th1 development and exerts adjuvant activity.

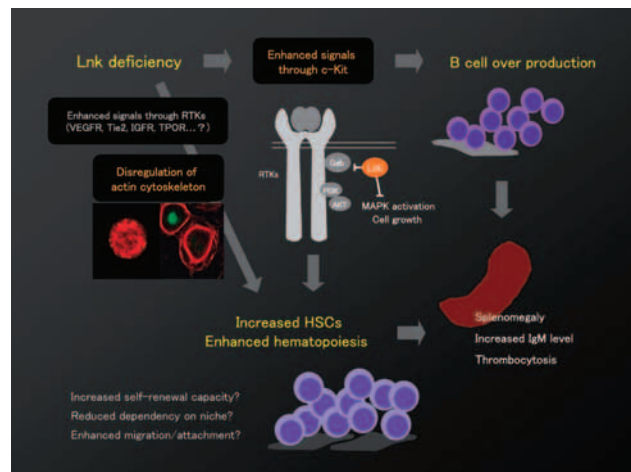


図 2
Lnkによる造血系制御

Fig. 2
Hematopoietic homeostasis regulated by Lnk

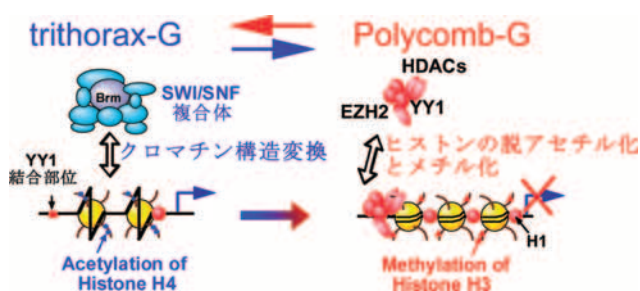
教授 理学博士 伊庭 英夫
 助手 理学博士 伊藤 太二
 助手 理学博士 箕口 滋
 助手 理学博士 水谷 壮利

Professor: Hideo Iba, Ph.D.
 Research Associate: Taiji Ito, Ph.D.
 Research Associate: Shigeru Minoguchi, Ph.D.
 Research Associate: Taketoshi Mizutani, Ph.D.

細胞がゲノム中に存在するレトロウイルスやレトロトランスポゾンのようなDNA parasiteの存在を認識しその発現を抑制するエピジェネティカルな機構は、細胞核内における宿主の重要な防御系と捉えられるようになってきた。一方ウイルスの側は当然こうした防御から逃れるさまざまな戦略を構築してきたものと考えられる。我々は、感染細胞内で繰り広げられる激しい宿主・寄生体間の相克に注目し、これまで未知であったエピジェネティクスに関わる分子機構の発掘とその解明をめざしてウイルスや宿主の遺伝子の発現の活性化、及び発現抑制 (gene silencing) に関する機構の解析を行なっている。最近になってRNA転写産物が代謝を受け遺伝子発現が抑制されるRNA silencing (post transcriptional gene silencing, RNA干渉ともいう) と呼ばれる制御系が植物、線虫、ショウジョウバエから哺乳動物に至るまで存在し、特に植物では植物ウイルスに対する主たる防御反応に使用されていることが示されてきた。しかし哺乳動物においてもウイルス感染に対する防御系としてこの系が機能しているか否かはまだ不明である。我々はこの点についても入念に検討を続けている。こうした成果からヒト遺伝子治療や再生医学に有用なレトロウイルスベクターの開発はもとより、多くの病原性ウイルスでみられる潜伏感染、持続感染、再感染といった現象に対する新たな視点が生まれるのみならず、ポストゲノム時代に必須となるエピジェネティクスの基本概念が構築されるものと考えられる。

このエピジェネティクスを支える分子基盤として、ヒストン修飾、DNAメチル化及びクロマチン構造変換の3者が協調的に働いていると考えられるが、我々はヒトの代表的クロマチン構造変換因子であるSWI/SNF複合体に研究を集中してこれまでに以下の結果を得ている。

1. 宿主やウイルスの先導的初期遺伝子の発現誘導を担うc Fos/c Junダイマーは、SWI/SNF複合体のBAF60aサブユニットと特異的に結合することにより、不活性なクロマチン領域内にあるAP 1結合配列近傍にこの複合体を動員してクロマチンの構造変換を誘導し、近傍の遺伝子発現を活性化する。
2. 各SWI/SNF複合体は触媒サブユニットとしてBRG1かBrmのいずれか一方を1分子のみ保有しているが、両者には明確な生物活性の違いがあることを見出した。すなわちintegration後のMuLVを基盤としたレトロウイルスの発現は、これを正に制御するBrm型SWI/SNF複合体 (トライソラックス遺伝子群; trx G) と、YY1, HDAC1, HDAC2等を含むポリコム遺伝子群 (Pc G) からなる複合体の拮抗により、5 LTR近傍に存在するヌクレオソーム内のヒストン修飾 (メチル化、アセチル化及び脱アセチル化) をめぐる競合を介して制御されるものと考えられる (図)。



Cellular mechanisms for the surveillance and exclusion of expression by DNA parasites such as proviruses and retrotransposons are now being recognized as an important host cell defense system in the cellular nuclei. Viruses would have developed their own strategy to escape from this host defense system. Our goal is to elucidate molecular mechanisms involved in such host parasite interaction by analyzing epigenetical regulation of viral gene silencing or activation observed in the infected cells. Recently, RNA silencing (also designated as post transcriptional gene silencing or RNA interference) has been shown to be operating in plant, nematoda, Drosophila and mammalian. In plant, it is used as the major strategy to prevent plant virus propagation. It remains largely unclear, however, whether human cells also utilize this mechanism to suppress replication of human virus, and therefore we will carefully test this possibility. The results would give us new ideas not only for developing new retrovirus vectors for human gene therapy or regenerative medicine but also for latent infection observed in many pathogenic human viruses.

As major molecular mechanisms for supporting epigenetics, histone modification, DNA methylation and chromatin remodeling are thought to be operating cooperatively. We have been concentrating on SWI/SNF complex, because it is the major chromatin remodeling factor in human and we have obtained the following results.

1. c Fos/c Jun dimmer, which induces many cellular and viral immediate early genes in response to cellular growth stimulation or viral infection, is shown to recruit SWI/SNF complex to AP 1 DNA binding sites located in relatively inactive chromatin context through specific binding with the BAF60a subunit. Thereafter the recruited SWI/SNF complex activates the transcription by remodeling nearby nucleosomes.
2. The Brm containing SWI/SNF complex subfamily (trithorax G) and a Polycomb G complex including YY1 and HDACs counteract each other to maintain retroviral expression (Figure). Therefore human cell lines deficient in Brm expression induce very rapid retrovirus gene silencing.

図. プロウイルスのプロモーター近傍のクロマチン構造をめぐるtrx G複合体とPc G複合体の競合

細胞内にSWI/SNF複合体 (trx G) があると、5 LTR近傍にあるクロマチン中のH4の特定のリジン残基のアセチル化が促進され、ウイルス遺伝子発現は安定して維持される。一方、機能的なSWI/SNF複合体を欠く場合、YY1/EZH2/HDACs複合体 (Pc G) が動員されてヒストンH3のメチル化、ヒストンH4の脱アセチル化が亢進されるのみならずリンカーヒストンH1も増加して、このプロモーターはstochasticでかつ不可逆的な不活化を受けるようになる。

Figure. Counteraction between trithorax G complex and Polycomb G complexes around the proviral promoter region.

In the presence of functional SWI/SNF complex (trithorax G complex), histone H4 is efficiently acetylated in the nucleosome located in the 5' LTR region which is essential for the maintenance of transcription. In cells deficient in Brm expression, Polycomb G complex containing YY1/EZH2/HDACs as well as the linker histone H1 are efficiently recruited to this region which lead to methylation of H3 and deacetylation of histone H4 by enzyme activities in the Pc G complex. These events would lead to the stochastic and discontinuous retroviral gene silencing.

教授 獣医学博士 河 岡 義 裕
 助教授 獣医学博士 堀 本 泰 介
 助手 獣医学博士 五 藤 秀 男
 助手 獣医学博士 高 田 礼 人
 助手 医学博士 坂井（田川）優子
 特任教員 獣医学博士 堀本（岩附）研子

Professor: Yoshihiro Kawaoka, DVM, Ph.D.
 Associate Professor: Taisuke Horimoto, DVM, Ph.D.
 Research Associate: Hideo Goto, DVM, Ph.D.
 Research Associate: Ayato Takada, DVM, Ph.D.
 Research Associate: Yuko Sakai Tagawa, Ph.D.
 Specially Appointed Faculty Member:
 Kiyoko Horimoto Iwatsuki, DVM, Ph.D.

インフルエンザおよびエボラウイルス感染症

ウイルスは、時として、重篤な疾病を引き起こす。私達は、インフルエンザウイルスとエボラウイルスをモデルに、どのようなメカニズムでウイルスが疾病を引き起こすかを解明することを目的としている。ウイルスが宿主で増殖するには、ウイルスを構成している分子と様々な細胞の分子とのインターアクションが重要である。そこで、私達は、ウイルスが疾病を引き起こす際に関わるウイルス分子と細胞因子の関係に焦点を絞り、研究を進めている。

1 鳥インフルエンザウイルスのヒトへの伝播

1996年以来、H5N1型の鳥インフルエンザウイルスがアジアで流行しており、1997年ならびに2004年にはヒトに伝播し、多くの人が死亡した。この流行の特徴は、トリに100%致死的な強毒株がヒトに直接伝播したことである。現在、本ウイルスの哺乳動物における病原性について調べている。

2 インフルエンザウイルスのアセンブリー

ウイルス粒子の形成にはウイルスと細胞の両方の分子のインターアクションが重要である。ウイルス粒子形成のメカニズムを明らかにするために、ウイルスRNAのウイルス粒子への取り込み（図1）についてウイルスと細胞の両方の分子のインターアクションを解析している。

3 リバース・ジェネティクス（インフルエンザウイルスの人工合成法）を用いた新規ワクチンならびにワクチンベクターの確立

私達はインフルエンザウイルスをcDNAから合成する方法を確立した。この方法を用いることにより、変異インフルエンザウイルスを自由自在に作製することが出来る。本法を用いて、新規生ワクチンならびに外来遺伝子伝達ベクターの作製を行っている（図2）。

4 エボラウイルス蛋白質の機能

エボラウイルスはヒトおよびヒト以外の霊長類に致死的な出血熱を引き起こす。しかし、本ウイルスの研究にはP4レベルの研究施設が必要のため、日本ではエボラウイルスそのものの研究は行えない。そこで、私達は、自分自身の表面糖蛋白質の代わりにエボラウイルスの表面糖蛋白質を持つリコンビナント・水泡性口炎ウイルスを作製し、この糖蛋白質の機能の解析を行っている。さらに、本ウイルス感染の詳細を明らかにするために、エボラウイルスのアセンブリーおよびウイルス蛋白質間の相互作用について研究している。

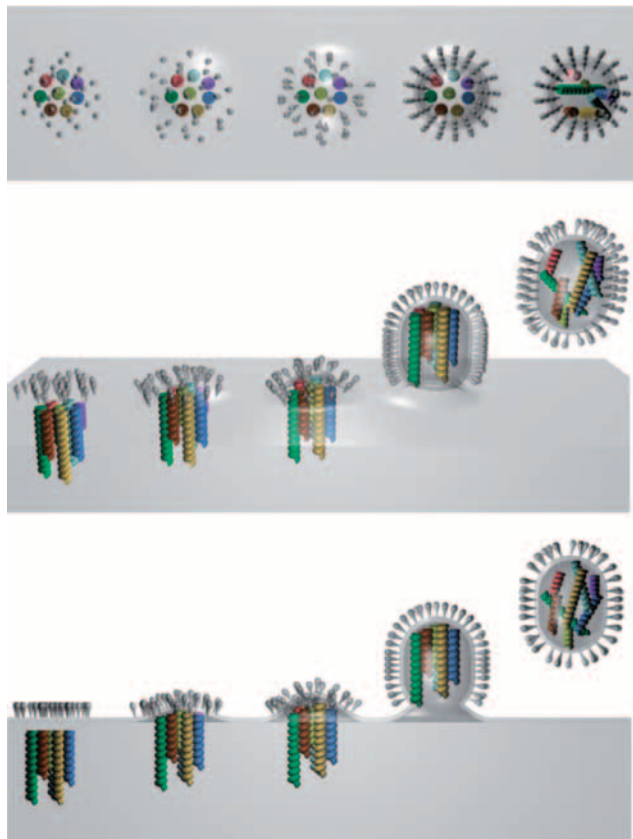


図1 インフルエンザウイルス誕生の瞬間

Fig. 1 Model for the generation of influenza virions

MOLECULAR PATHOGENESIS OF INFLUENZA AND EBOLA VIRUS INFECTIONS

Viruses can cause devastating diseases. The long term goal of our research is to understand the molecular pathogenesis of viral diseases, using influenza and Ebola virus infections as models. Interactions between viral and host gene products during viral replication cycles determine the consequences of infection (i.e., the characteristics of disease manifestation, whether limited or widespread) hence, our research has centered on such interactions in these viral infections.

1 Transmission of avian influenza viruses to humans

Since 1996, H5N1 avian influenza A viruses have been enzootic in Asia. These viruses are highly pathogenic in poultry and were directly transmitted to humans. In 1997 and 2004, infection by these viruses resulted in significant human mortality. We are studying the molecular basis of high virulence of this virus in mammals and the viral determinants that allowed direct transmission of the virus from birds to humans.

2 Influenza virus assembly

The formation of virus particles involves interactions among viral proteins as well as interaction between viral and cellular proteins. To understand the mechanism of virion formation, we are investigating viral RNA incorporation into virions (Fig. 1) by analyzing the interaction among viral and host molecules.

3 Reverse genetics (technology for generation of influenza viruses entirely from cloned cDNA)

We have established a system for the generation of influenza viruses entirely from cloned cDNAs. Using this system, influenza viruses containing any desired mutation can be made. With this technology, we are attempting to establish novel influenza vaccines and influenza based gene delivery vectors (Fig. 2)

4 Role of Ebola virus proteins during viral replication

Ebola virus causes hemorrhagic fever in humans and nonhuman primates, resulting in mortality rates of up to 90%. Even so, little is known about the molecular pathogenesis of Ebola virus infection or the pathophysiological events that occur in primates during infection with this virus. Studies of this virus have been hampered by its extraordinary pathogenicity, which requires biosafety level 4 containment. To circumvent this problem, we developed a novel complementation system for the functional analysis of Ebola virus glycoproteins. Using this system, we are studying the functions of the glycoprotein and the nature of Ebola virus receptors. We are also interested in Ebola virus replication. Thus, we are investigating the assembly process of this virus and the structural basis of the interactions of the viral proteins involved in replication.

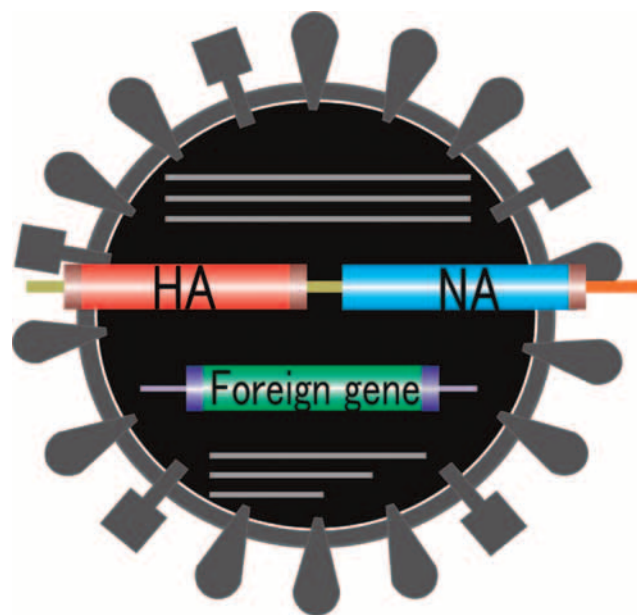


図2 外来遺伝子を安定に発現するHA/NAタンデム・インフルエンザベクター

Fig. 2 HA/NA tandem influenza vector for the stable expression of foreign genes

教授 医学博士 三宅 健介
 助手 医学博士 赤司 村 祥子
 助手 農学博士 古田 隆 久
 助手 医学博士 斉 藤 伸一郎

Professor: Kensuke Miyake, M.D., Ph. D.

Research Associate:

Sachiko Akashi-Takamura, M.D., Ph. D.

Research Associate: Takahisa Furuta, D.M.V., Ph. D.

Research Associate: Shin-ichiroh Saitoh, Ph. D.

当分野は、感染免疫大部門に所属し、宿主と病原体との相互作用を宿主側から検討することをテーマとしている。具体的には自然免疫における病原体認識機構の解明を目指している。これまでB細胞表面分子RP105 (CD180), 会合するMD 1, Toll like receptor 4 (TLR4) に会合するMD 2のクローニングと進んできた。その結果, RP105, MD 1, TLR4, MD 2はグラム陰性菌の膜構成糖脂質リポ多糖 (エンドトキシン, LPS) の認識に関わることがわかってきた。免疫とは自己と非自己を識別する機構であり, その識別はリンパ球によってアミノ酸配列の違いを認識することによって考えられていたが, TLRやRP105など, 抗体やT細胞レセプターとは異なる認識分子が存在し, 宿主と病原体の認識識別を行っていることがわかってきた。TLRは自然免疫における病原体認識を担っている。これまで免疫学はハエや昆虫の感染防御機構を説明する事ができなかったが, TLRの発見により, 発生学と同程度の広い概念的枠組みを獲得することになった。

TLR4 MD 2やRP105 MD 1によるエンドトキシン認識機構はまだ分子レベルでの理解にはいたっていない。このエンドトキシン認識機構を明らかにすることが当分野のメインテーマである。エンドトキシンは病原体成分の中で最も強くヒトの免疫機構を活性化する。言いかえると, ヒトがもっとも警戒する病原体成分といえる。その強い活性のために多くの疾患との関連が指摘されており, エンドトキシン認識機構を解明することで, エンドトキシン関連疾患の病態解明, 新たな治療法の開発に貢献したい。

Infectious diseases are threats not only to us humans but also to insects such as flies. The Toll receptor was identified as a pathogen recognition molecule in flies. Interestingly, we humans have similar molecules, Toll-like receptor (TLR), and use them for pathogen recognition in the innate immune system. We probably have 11 or 12 TLRs that recognize a variety of pathogen products such as: bacteria-derived lipopolysaccharide, peptidoglycan, and unmethylated DNA; and virus-derived double-strand RNA. Our division focuses on recognition molecules for lipopolysaccharide (LPS), the pathogen product that most potently activates our immune system. Due to such potent activity LPS has been implicated in a number of diseases such as endotoxin shock.

LPS is recognized by CD14, TLR4, and MD-2. We discovered MD-2 as a molecule associated with TLR4 and showed that MD-2 is indispensable for LPS responses. We also discovered another cell surface complex RP105/MD-1 and showed that RP105/MD-1 has an important role in B cell responses to LPS. Despite identification of the recognition molecules, LPS recognition mechanisms are poorly understood. We are trying to understand molecular mechanisms underlying LPS recognition. Understanding LPS recognition mechanisms would contribute to a novel therapeutic intervention of diseases such as endotoxin shock.

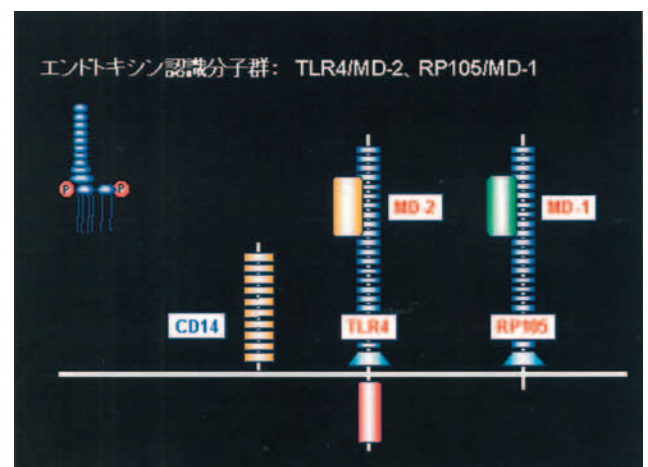


図 1

グラム陰性菌の膜構成糖脂質エンドトキシンの認識に関わる分子群。エンドトキシンはCD14に結合しTLR4 MD 2に認識されシグナルが伝達される。RP105 MD 1もB細胞のエンドトキシン応答を制御する。

Fig. 1

Endotoxin recognition molecules: CD14, TLR4-MD-2, and RP105-MD-1. Endotoxin binds to CD14, and is recognized by MD-2 and TLR4, which delivers a signal that activates innate and acquired immune responses.

教授	医学博士	清 野	宏
助手	医学博士	幸 義	和
助手	歯学博士	廣 井	隆 親
助手	薬学博士	國 澤	純

Professor: Hiroshi Kiyono D. M. D., Ph. D.

Research Associate: Yoshikazu Yuki, M. B. A., Ph. D.

Research Associate: Takachika Hiroi, D. M. D., Ph. D.

Research Associate: Jun Kunisawa, Ph. D.

我々の体は絶えず、消化管、呼吸器をはじめとする粘膜関連臓器表面を介して外界の様々な異物（微生物や食物）に曝されている。これら外来抗原に関する第一の認識・応答機構が粘膜免疫システムである。粘膜免疫は誘導組織と実効組織からなる循環帰巢経路（CMIS）によって成り立っている。例えば、経口摂取された抗原は誘導組織の代表格である腸管パイエル板の屋根を形成している高度に特殊化された被覆上皮内のM細胞と呼ばれる抗原捕捉細胞を介してパイエル板に取り込まれる。その結果、誘導組織を構成している各種免疫担当細胞が活性化される。この活性化免疫担当細胞（IgA前駆B細胞等）が血流を介して粘膜固有層等の実効組織へ移動することによって、代表的な最終産物である分泌型IgAが産出される（図1）。最近、我々は、このCMISから独立した粘膜免疫機構の存在を証明している。現在、この精巧且つ複雑な粘膜免疫機構のさらなる解明と、その情報に基づいた、より安全且つ効果的な「粘膜ワクチン」の開発を主な目的として研究を進めている。

1 「M細胞標的ワクチン」の開発へ向けての分子・細胞基盤研究

経口・経鼻免疫は粘膜系と全身系の両免疫応答を誘導できる唯一の手段である。現在のところ、経粘膜的にワクチンに対する効果的な免疫応答を誘導するには、コレラ毒素や病原性大腸菌由来易熱性毒素およびそれらの無毒化変異体等を粘膜アジュバントとして併用することが必須であり、安全性という点において、より実用的な粘膜ワクチンの開発が必要であろう。そこで、我々は抗原捕捉細胞であるM細胞を標的とした粘膜ワクチンの開発に着目している。現時点では、このM細胞特異的分子の探索に着手している。

2 鼻咽頭関連リンパ組織（NALT）形成メカニズムの解明

パイエル板をはじめとする二次リンパ組織の形成・発達においては、IL-7RやLT-Rを介したシグナル伝達系が必須の役割を果たしている。この点において、最近我々は、これらの経路に関連した遺伝子欠損マウスを含む種々の二次リンパ組織形成不全モデルを用いた解析から、鼻咽頭関連リンパ組織（NALT）の形成にはこれらのシグナル伝達系が必須ではないという知見を得ている。また、分化抑制因子として知られるId2が欠損したマウスにはNALTが存在しないこと、および、このマウスを用いたNALT再構築実験から、CD3⁺CD4⁺CD45RB⁺細胞がNALT形成における始動者の役割を果たしていることが明らかになっている（図2）。現在、このNALT再構築モデルを用いて、NALT形成に関わる因子の同定およびIgA誘導組織としてのNALTの免疫学的重要性の解析を中心に研究を進めている。

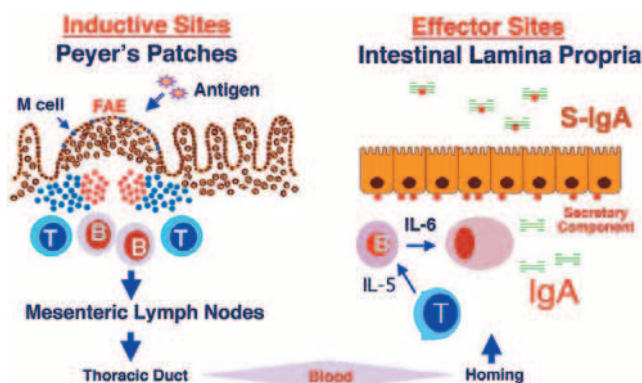


図1
IgA循環帰巢経路（CMIS）の概略図

Fig. 1
Diagrammatic illustration of the common mucosal immune system (CMIS)

Our body is continuously exposed to numerous numbers of exogenous antigens including microorganisms, biological stimuli and foods via the surface of the mucosa associated tissues including gastrointestinal and respiratory tracts. The mucosal immune system is a primary recognition and responding system for these foreign antigens. The system is equipped with the common mucosal immune system, which bridges the IgA inductive, and effector sites (Fig. 1). Orally administered antigens are first taken up from specialized antigen sampling M cell clustering in the dome region of the follicle associated epithelium which covers the well known IgA inductive sites, Peyer's patches (PP). As a result, various immunocompetent cells including IgA committed B cells are activated and subsequently migrate into the effector sites such as intestinal lamina propria through the CMIS for the production of secretory IgA antibodies. Our recent findings provide new evidence for the existence of CMIS independent IgA induction pathway. Our current studies are aiming mostly for further molecular and cellular elucidation of the uniqueness and dynamism of the CMIS dependent and independent immune systems for the development of new generation of mucosal vaccines that are safe and effective for the prevention and control of infectious and inflammatory diseases.

1 Molecular and cellular characterization of M cell for the development of "M cell targeted mucosal vaccine"

Mucosal immunization has been shown to be the most effective way to evoke antigen specific immune responses both at the mucosal and systemic compartments. However, oral or nasal immunization generally requires co administration of mucosal adjuvant such as cholera toxin, heat labile enterotoxin, or their derived non toxic mutants for the generation of vaccine antigen specific immune response. In view of the safety and practicality, one would like to avoid co administration of any kind of adjuvant if it is possible. To overcome this obstacle, our effort is focusing on the molecular and cellular elucidation of under characterized antigen sampling M cells in PP and nasopharyngeal associated lymphoid tissue (NALT) for the development of "M Cell Targeted Mucosal Vaccine".

2 Elucidation of the molecular and cellular mechanisms for NALT organogenesis

The signal transduction pathways associated with IL-7R and LT-R are essential in the formation and development of secondary lymphoid tissues including PP. In contrast, our latest studies using various aplastic models for secondary lymphoid tissues including mice deficient in the genes associated with these cytokine pathways have revealed that the NALT formation is totally independent of these cytokine mediated tissue organogenesis pathways. Further, we have found that mice deficient in Id2, known as a differentiation inhibitory factor, have aplasia of NALT and also that CD3⁺CD4⁺CD45RB⁺ cells serve as an initiator for the NALT formation, evidenced by the NALT reconstitution experiments using these Id2^{-/-} mice (Fig. 2). Our current efforts are aiming 1) at the identification of unknown inducing factor(s) for the NALT organogenesis and 2) for the characterization of immunological relevance of the tissue for the induction and regulation of mucosal immune responses by use of the newly developed NALT reconstitution model.

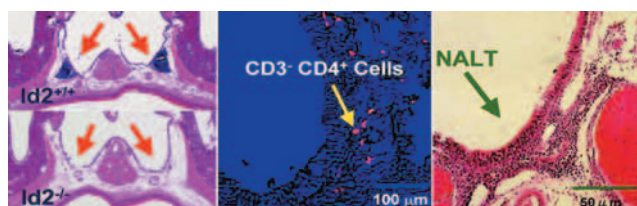


図2
Id2^{-/-}マウスにおける形成不全NALT（左）。養子移入後、Id2^{-/-}マウスの鼻腔組織内にホーミングした正常マウス由来CD3⁺CD4⁺細胞（中央）および再構築されたNALT（右）

Fig. 2
Aplastic NALT in Id2^{-/-} mouse (left). Normal mice derived CD3⁺CD4⁺ cells homing in the nasal tissue of Id2^{-/-} mouse following adoptive transfer (middle) and the NALT reconstituted (right).

細胞が癌化し、悪性化する過程には複数の癌関連遺伝子の変異、発現変化が関わっている。癌遺伝子や癌抑制遺伝子等の癌関連遺伝子の機能解析をベースに癌の発症・進展に関する分子機構の解明を目指す。特に、細胞周期制御や細胞運動・接着の制御を視野におき、細胞の増殖、分化に関わる細胞内情報伝達を解析し、また癌の進展に関わる血管新生の分子機構や、癌細胞の浸潤、転移の仕組みについての、遺伝子並びに蛋白質レベルの研究を推進する。さらに、ウイルス発癌や癌の分子病理学に関する研究を推進する。具体的な研究テーマは以下の通りである。

æ, 癌遺伝子／癌抑制遺伝子の機能解析

æ,, 癌細胞の増殖・分化に関わるシグナル伝達研究、遺伝子発現制御研究

æ" 腫瘍血管新生や癌細胞の浸潤、転移等の癌の悪性化の分子機構

æ» イノシトールリン脂質情報伝達系の解明

æ... ヒト癌の病因・病理の分子生物学

æ% ゲノム解析・プロテオーム解析に基づく発癌の分子機構の解析

Formation and development of cancer are multi step that involves alteration of structure and function of various genes regulating cell growth, differentiation and cell cell communication. These genes include oncogenes, tumor suppressor genes, and their related genes. In the Department of Cancer Biology, we try to establish molecular mechanisms of tumor formation and development basing on the function of these gene products. Our goal is to understand æ, how the cell growth and differentiation are regulated, æ,, molecular basis of angiogenesis, æ" molecular mechanisms of invasion and metastasis of cancer, æ» mechanisms of malignant transformation by tumor viruses, and pathogenic mechanisms of human cancer.

Ongoing researches are as follows.

1. Structure, expression, and function of cancer related genes including oncogenes and tumor suppressor genes
2. Studies on signal transduction and gene expression involved in cell growth and differentiation
3. Studies on inositol-phospholipid signaling
4. Studies on cell cell interaction, cell motility, and cytoskeleton
5. Molecular mechanisms of tumor angiogenesis, cancer cell invasion, and metastasis
6. Molecular pathogenesis of malignant lymphomas, other solid tumors, and retrovirus-associated neoplasms

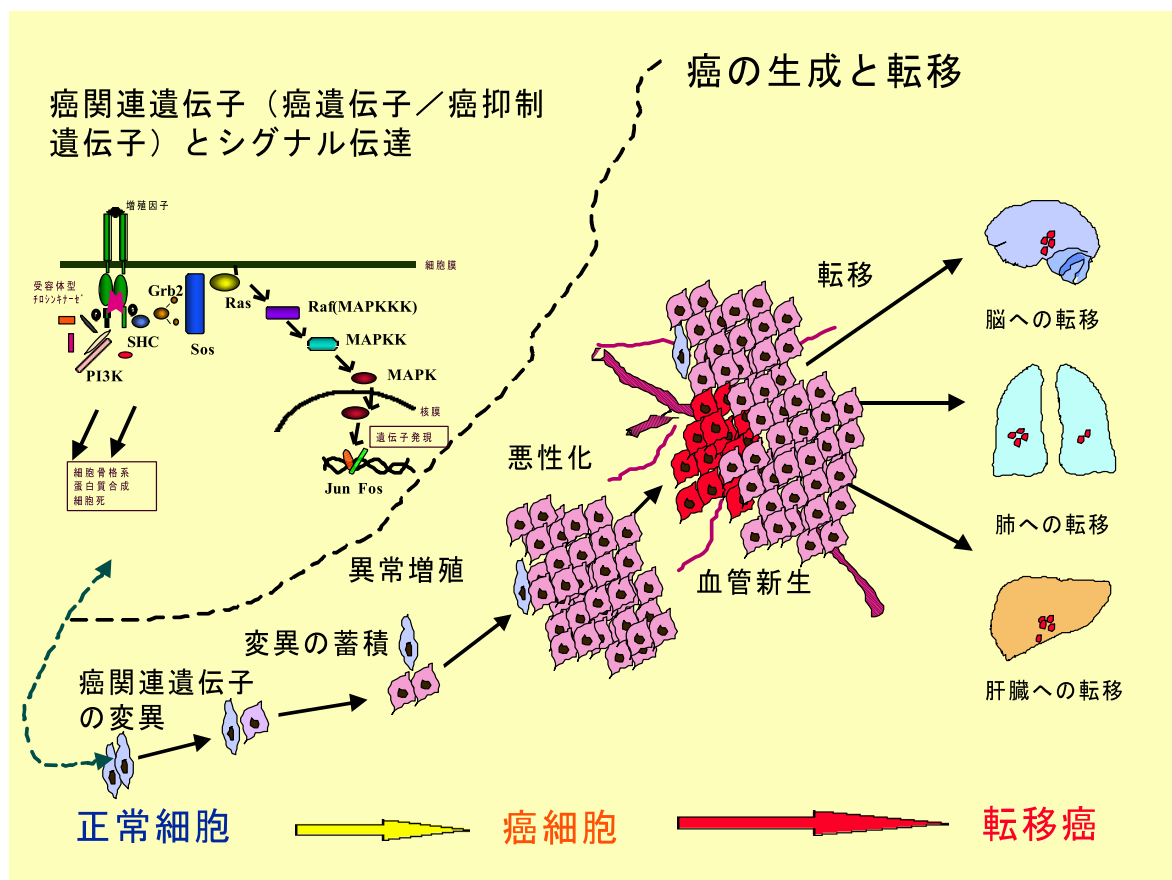


図 1

細胞が癌化し悪性化する過程を示した。この過程で複数の癌関連遺伝子に変化し、細胞の増殖・分化・接着・運動等の制御が逸脱する。また、癌関連遺伝子が深く関わるシグナル伝達の一例を模式的に示してある。

Fig. 1

Multi step processes of tumor formation and development are illustrated. Typical example of signaling pathways is also shown. Many cancer related genes are involved in these processes and signalings.

教授	理学博士	山本 雅
助手	医学博士	藤元 次郎
助手	理学博士	手塚 徹
助手	理学博士	大杉 美穂
助手	理学博士	鈴木 亨

Professor: Tadashi Yamamoto, Ph. D.
 Research Associate: Jiro Fujimoto, Ph. D.
 Research Associate: Tohru Tezuka, Ph. D.
 Research Associate: Miho Ohsugi, Ph. D.
 Research Associate: Toru Suzuki, Ph. D.

癌遺伝子ならびに癌抑制遺伝子の産物に着目し、細胞増殖・分化・機能発現における細胞内シグナル伝達機構を解析する。特にチロシンリン酸化反応を中心とする蛋白質リン酸化反応によるそれら生体反応の制御機構に興味の主対象として以下の研究を展開している。

æ, 受容体型チロシンキナーゼに関する研究

研究分野では、ErbB2やAlk等、未知の増殖因子の受容体をコードする癌遺伝子を見出している。対応する細胞外因子の解析やそれら受容体を介するシグナル伝達系の解析から、その生理機能や細胞癌化における役割を明らかにする。

æ,, 中枢神経系におけるチロシンリン酸化反応の意義

Fyn, LynなどのSrcファミリーをはじめとするチロシンキナーゼは、中枢神経組織でよく発現している。我々はNMDA受容体をはじめとする数種の神経棘突起内蛋白質をFyn標的蛋白質として同定している。これら標的蛋白質の作用機構やチロシンリン酸化による機能制御を解析し、学習・記憶といった神経可塑性についての理解を深める。

æ''' 細胞周期制御に関する研究

休止期の細胞が増殖刺激を受けて増殖相に移行する過程の制御は重要であり、この逸脱は細胞癌化につながる。本研究では細胞周期のG0/G1変換やM期進行に関し、癌抑制遺伝子産物Tob, LATsや、PLK等のM期キナーゼの作用機構に注目して、解析を進める。またM期での染色体分配の分子機構を解析する。

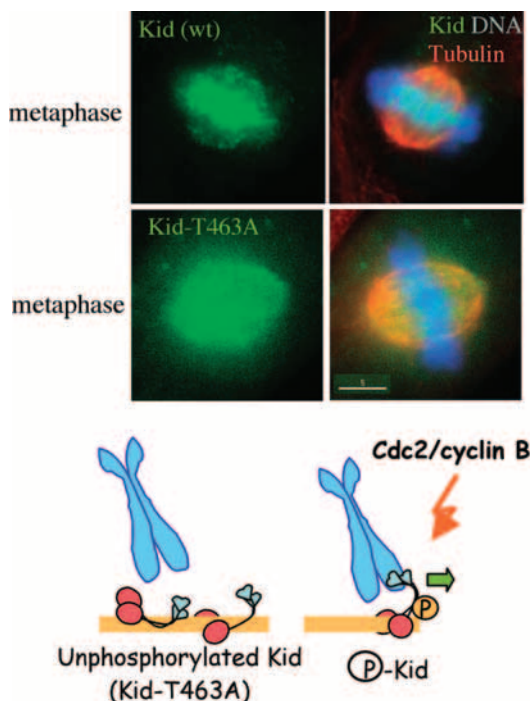


図1 クロモキネシンKidの局在・役割・制御機構
 Kidは分裂期染色体を中期板に揃える役割を担っているモーター分子である。Kidが染色体腕に結合・運搬し、中期板整列を行うためにはCdc2/cyclin BによってThr463がリン酸化されることが必要であり、非リン酸化状態のKidは紡錘体形成や分裂後期に機能していると考えられる。

Fig. 1 The localization, function, and regulation of chromokinesin Kid.
 Kid is a plus end directed kinesin like motor protein, which is necessary for chromosome arm alignment at metaphase plate during mitosis. To bind to chromosome arms and exhibit its role, Kid must be phosphorylated on Thr463 by Cdc2 cyclin B kinase. Unphosphorylated Kid is proposed to be involved in the spindle morphogenesis and anaphase chromosome segregation.

Our aim is to clarify the roles of proto oncogene and anti oncogenes in malignant transformation and in normal cell function. Currently, our studies are mainly focused on the protein phosphorylation dephosphorylation events, which involves tyrosine kinases such as ErbB family and Src family proteins, in various cellular signaling pathways. We are interested in knowing how phosphorylation and dephosphorylation molecularly switch on and off critical events in central nervous system, malignant transformation, and differentiation and growth of various cells. Following studies are in progress, utilizing techniques of gene cloning, protein purification, cell biology, and production of gene engineered animals.

æ, Molecular mechanisms by which cell surface receptors transmit signals to nuclear transcription factors and their regulatory proteins. Special interests are on the receptor tyrosine kinases mediated signaling pathways that are relevant to malignant transformation.

æ,, Molecular mechanisms of synaptic plasticity in the central nervous system. Particularly, we are interested in the roles of Src family kinases in regulation of NMDA receptor function as well as other target proteins in the synaptic spine.

æ''' Regulatory mechanisms of cell cycle progression. Special interests are the regulation of the G0/G1 switch, mitotic phase progression, and chromosome segregation in which Tob, LATs, M phase kinases, and Kid are involved.

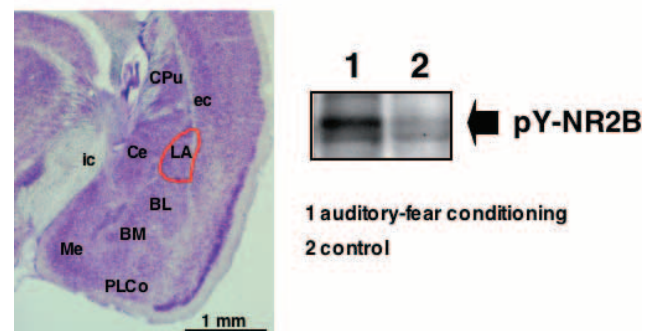
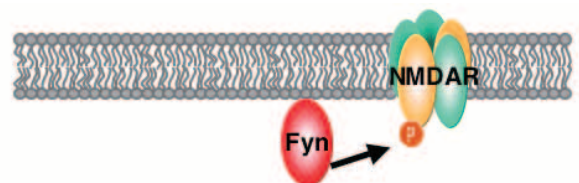


図2 恐怖条件付けによるNMDA型グルタミン酸受容体NR2Bサブユニットのチロシンリン酸化レベルの亢進
 (上段) NR2BサブユニットはFynチロシンキナーゼによってリン酸化される。(下段左) マウス脳において恐怖などの情動を制御する扁桃体のLA核。(下段右) 音とfootshockを用いた恐怖条件付けによってLA核のNR2Bのチロシンリン酸化レベルは亢進する。NR2Bのチロシンリン酸化は記憶保持に関与していると考えられる。

Fig. 2 Increased NR2B phosphorylation after auditory fear conditioning.
 (upper) NR2B is phosphorylated by Fyn in brain. (lower, left) LA nucleus of amygdala is a crucial neural structure for the expression of fear memory in mice. (lower, right) Increased NR2B phosphorylation after auditory fear conditioning.

教授 医学博士 清水 元 治
 講師 医学博士 梁 幾 勇
 助手 理学博士 越 川 直 彦
 助手 理学博士 後 藤 勇

Professor: Motoharu Seiki, Ph. D.
 Lecturer: Ikuo Yana, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Naohiko Koshikawa, Ph. D.
 Research Associate: Isamu Gotoh, Ph. D.

細胞と細胞外基質は組織を構築する基本的な骨組みであると同時に、組織を制御する情報システムの一部も担っている。従って、細胞を取り巻く細胞外基質の変化は、生理的、病的な条件下で、細胞機能を制御する重要な因子でもある。当研究部では、細胞表面で細胞外基質の分解を担うプロテアーゼシステムに注目し、それらがどのような機能を担っているのかを癌細胞の浸潤過程に着目しながら研究を行っている。

マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) は細胞外基質分解に関与する一群の金属酵素である。以前、私たちは、細胞膜貫通ドメインを持つMMPが存在することを見出し、膜型マトリックスメタロプロテアーゼ (MT MMP) として報告した (1994, Nature)。現在までに6種類知られているMT MMPの中で、最初に報告したMT1 MMPは悪性の癌細胞で高発現しており、浸潤・転移に重要であると同時に、血管内皮細胞にも発現して血管新生にも必要とされる。MT1 MMPが細胞の浸潤に用いられる際には、細胞運動と連動した制御を受け、浸潤の先端部で効率よく細胞外基質を分解して浸潤ルートを確認する必要がある。MT1 MMPはCD44と結合することによって運動先端部に運ばれ (2002, EMBO J), そこでホモオリゴマーを形成する (2001, EMBO J)。オリゴマー形成はMT1 MMPによるproMMP 2活性化を促進し、結果として細胞は、 α_1 および α_2 型コラーゲン分解活性を獲得する。MT1 MMPはまた、CD44を切断すると同時に細胞運動をも亢進させる (2001, JCB)。このような運動先端部での機能を継続的に維持するため、MT1 MMPは細胞内配列に結合する因子の作用により細胞内へ取り込まれ、代謝される。 (2002, JCB)

これらの知見はMT1 MMPがタンパク質相互作用に基づいて多彩な効果を発揮し、また制御されていることを示唆する (2002, Curr. Opin. Cell Biol.)。そこで最近、MT1 MMPが形成するタンパク質複合体を網羅的に単離し、質量分析技術を用いた解析を行った。これらにはMT1 MMPの機能制御に寄与するものやMT1 MMPにより限定分解を受け様々な下流のイベントを引き起こすものなどが含まれると考えている。細胞表面におけるMT1 MMPのタンパク質ネットワークを明らかにすることで、ECMの代謝にとどまらない機能の全容解明を目指している。

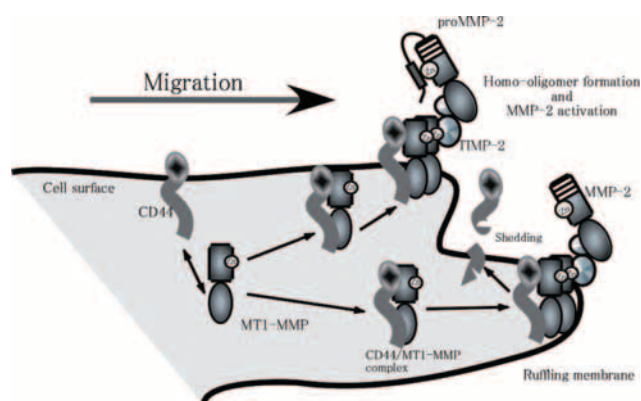


図1 浸潤先端部におけるMT1 MMP関連の分子メカニズム

細胞表面におけるMT1 MMPの所在をCD44が決定し得る。浸潤先端部に運ばれたMT1 MMPは、CD44を切断し、あるいはホモダイマーを形成することでMMP 2を効率よく活性化することにより、細胞運動を促す。

Figure. 1

A possible molecular mechanism on MT1 MMP at the cell invasion front CD44 functions both as an associate and a carrier of MT1 MMP which is shifting toward the cell invasion front. After the shift, MT1 MMP shed the CD44 or forms the homodimer in order to activate MMP 2 effectively, subsequently facilitating cell migration.

Cells and extracellular matrix (ECM) construct a framework of tissue, which also functions as a part of signal network that regulate tissue integrity and functions. Therefore, pericellular ECM microenvironment is an important factor that determines functions and fate of the cells in tissue both in physiological and pathological conditions. The aim of our study is to understand regulations and functions of cell surface protease systems that modulate pericellular ECM environment. As model systems, we are focusing on the processes of cancer invasion and angiogenesis, since these are excellent models to understand how ECM degrading proteases are assembled and regulated at the invasion edge.

Matrix metalloproteinases (MMPs) are zinc binding endopeptidases that collectively degrade almost all the ECM components. In 1994, we reported the first case of MMP that anchors to plasma membrane through the transmembrane domain and named it as membrane type MMP (MT1 MMP) (sato et al. Nature). In this study, we also found that MT1 MMP is expressed in malignant cancer and acts as a specific activator of proMMP 2, a type IV collagenase, on the cell surface. Since then, we have characterized substrates of the enzyme, expression in different types of malignant cancers, regulation of the gene expression, and how the enzyme activity is regulated during invasion. Although we have six MT MMPs, MT1 MMP is presumably a major player for cancer invasion and angiogenesis.

To dissolve tissue barrier, invasive cells have to localize MT1 MMP toward the direction of cell movement. We recently found that CD44 plays a critical role in this process by acting as a linker that connects MT1 MMP to actin cytoskeleton and conveys MT1 MMP to the ruffling edge (Mori et al. EMBO J, 2002). At the same time, localization of MT1 MMP to the migration front facilitates homo oligomer formation that eventually promotes proMMP 2 activation (Ito et al., EMBOJ, 2001). Consequently, the cell acquires ability to degrade both type 1 and IV collagens by MT1 MMP and MMP 2, respectively. In addition, MT1 MMP cleaves and sheds CD44, this shedding accompanies promotion of cell migration (Kajita et al. JCB, 2001). Processing of laminin 5 gamma2 chain by MT1 MMP has also been demonstrated to induce cell migration (Koshikawa et al. JCB, 2000, FASEB J, 2004). For continuous invasion, fresh MT1 MMP molecules should be supplied uninterruptedly at the invasion front. Internalization of MT1 MMP mediated by the cytoplasmic tail plays a part of this dynamic turnover at the invasion front (Uekita et al. JCB, 2002). Thus, this line of studies shed light for the first time on how invasion promoting cell surface proteases are regulated coordinately with cell locomotion.

To explore whole the functions of MT1 MMP, we recently analysed proteins complex formed with MT1 MMP using a liquid chromatography associated mass spectrometry technique, resulted in isolation of over 100 proteins illustrated as below. It is strongly suggested that MT1 MMP not only cleaves ECM but also modulates the cell surface factors, profoundly influencing the cell functions. Individual candidate in the group is now on our research.

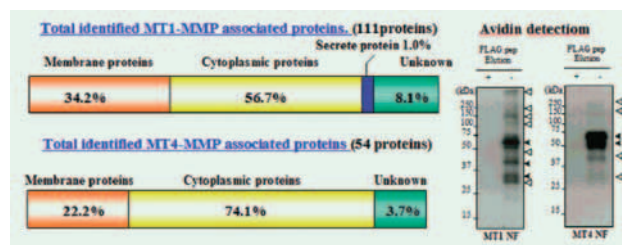


図2 免疫沈降法によりMT MMPsと共沈したタンパク質群のサマリー。液体クロマトグラフィーを連結した質量分析システムを用いて、MT MMPsと共沈したタンパク質を同定した。両者の結果と比較すると、それぞれに特異的な分子や共通の分子をプロファイルできる。右側のパネルでは細胞膜上のタンパク質をビオチン標識し、MT MMPsと共沈したものをアビジンで検出した。

Figure. 2

Summary of the proteins co precipitated with MT MMPs in immunoprecipitation. Each co precipitated protein has been identified using the liquid chromatography associated tandem mass spectrometers (LC/MS/MS). These proteins are to be profiled to find out factors specific to each bait or common molecules. Cell surface proteins were biotinylated, and the subset proteins co precipitated with MT MMPs were detected by avidin binding (right panel).

助教授 理学博士 三 木 裕 明
 助 手 薬学博士 竹 中 圭

Associate Professor: Hiroaki Miki, Ph. D.
 Research Associate: Kei Takenaka, Ph. D.

癌遺伝形質分野では細胞運動・形態制御を司る細胞骨格ネットワーク制御機構の解明、生物個体の形態形成を制御するWnt・Hedgehogシグナルの解析を行っている。

1. 細胞運動、形態制御を司る細胞骨格ネットワーク制御機構の解明

細胞運動は初期発生期における形態形成やリンパ球・マクロファージなど血球系細胞の遊走など生理的現象の基礎であると共に、その制御の破綻が癌細胞の浸潤・転移など様々なヒト疾患の原因ともなっている。また神経細胞のネットワーク形成における神経軸索・樹状突起の伸展なども細胞体の移動を伴わない局所的な運動の一種とみなすこともできる。つまり細胞運動を人為的にコントロールすることは癌治療や神経再生など巨大な応用可能性を有している。しかしその一方で、細胞運動を制御するメカニズムの研究は細胞増殖制御の研究と比較して大きく立ち遅れているのが現状である。1990年代に入ってから、Rhoファミリー低分子量G蛋白によるアクチン細胞骨格制御の研究が飛躍的に進展したが、まだそのRhoファミリー自身の活性調節の問題や、微小管・中間径フィラメントなどアクチン以外の細胞骨格制御についてはあまり理解が進んでいない。癌遺伝形質分野ではそれらの未解決問題に取り組み、その基本的な制御機構を解明することによって細胞運動の包括的な理解につなげようとしている。

2. 形態形成を制御するWntシグナル・Hedgehogシグナルの解析

WntやHedgehogはいずれもショウジョウバエなどの多細胞生物の形態形成を制御するシグナル系として発見され、主に遺伝学的手法によりそのシグナル伝達のコンポーネントが明らかにされてきた。それらに対応するヒト相同遺伝子のいくつかは癌で変異していることや、またシグナル伝達の亢進が高頻度で起こっていることが知られ、癌治療における次世代型分子標的治療薬開発のターゲットと目されている。また造血幹細胞、胚性幹細胞（ES細胞）などの各種幹細胞の分化制御に重要であることも最近の報告から明らかにされ、強い注目を集めている。しかしその一方で、ヒトなど哺乳動物系でのシグナル伝達メカニズムについてはまだ謎の部分が多く残されており、十分な理解には至っていない。実際、研究が先行しているWntシグナルの解析から、ハエでは存在しない遺伝子産物がシグナル伝達を巧妙に制御していることが明らかにされている。癌遺伝形質分野ではこれらWntおよびHedgehogシグナルの基本的な伝達メカニズムについて、特にヒトなど哺乳動物系細胞でのシグナル伝達に関わる新規因子を同定することによって、その全貌を明らかにしようとしている。

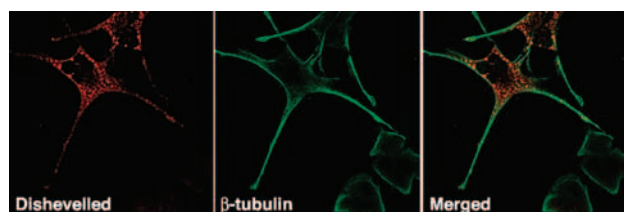


図1 Wntのシグナル伝達因子Dishevelledによる神経突起形成

Figure 1
 Neurite formation by Dishevelled, a mediator of the Wnt signal

We have been investigating the regulatory mechanism of cytoskeleton that governs cell motility and morphology, and the transduction mechanism of Wnt and Hedgehog signals that regulate morphogenesis of multicellular organisms.

1. Cytoskeleton

Cell motility is the basis of various physiological phenomena such as morphogenesis during the early development and chemotactic movement of hematopoietic cells. In contrast, dysfunction of motility regulation underlies various human diseases including metastasis of cancer cells. In addition, extension of axons and dendrites during formation of neural networks can also be regarded as an atypical type of cell motility that does not accompany the movement of cell body. These facts indicate that the control of cell motility should have great potential for treatment of diseases such as cancer and for regeneration of neural networks. However, our understanding of cell motility has been left far behind that of cell growth.

In the early 1990s, Rho family small GTPases were shown to be critical regulators of the actin cytoskeleton and cell morphology. Since then, the research on how Rho family GTPases exert their effect on the actin cytoskeleton has been progressing rapidly, but there still remain many problems such as the regulatory mechanism of the Rho family GTPases themselves and the effect on microtubules and intermediate filaments. We are going to tackle these unsolved problems, and aim at drawing a comprehensive picture of cell motility.

2. Wnt and Hedgehog signaling

Both Wnt and Hedgehog signaling systems are known to regulate morphogenesis during early development of multicellular organisms. Several genes involved in their signal transduction have been identified mostly by genetic analyses on *Drosophila melanogaster*. Recently, it was revealed that some of the counterpart genes in the human genome are mutated or amplified in cancers. Also, constitutive activation of their signaling has been observed. Therefore, the gene products involved in these signaling are regarded as promising targets for generating a new type of anti-cancer drugs. In addition, these signaling systems have also been shown to regulate the differentiation potential of various types of stem cells such as embryonic stem (ES) cells and hematopoietic stem cells.

Despite their potential for practical application, the signal transduction mechanism in mammalian cells remains largely unknown. Indeed, recent studies on the Wnt signal have revealed that several gene products that have no counterpart in the genome of *Drosophila melanogaster* play critical roles in relaying the signal, clearly indicating that our current understanding on the Wnt signal, and probably the Hedgehog signal, is incomplete. We are going to elucidate new signaling components in mammalian cells and clarify the detailed mechanism of signal transduction.

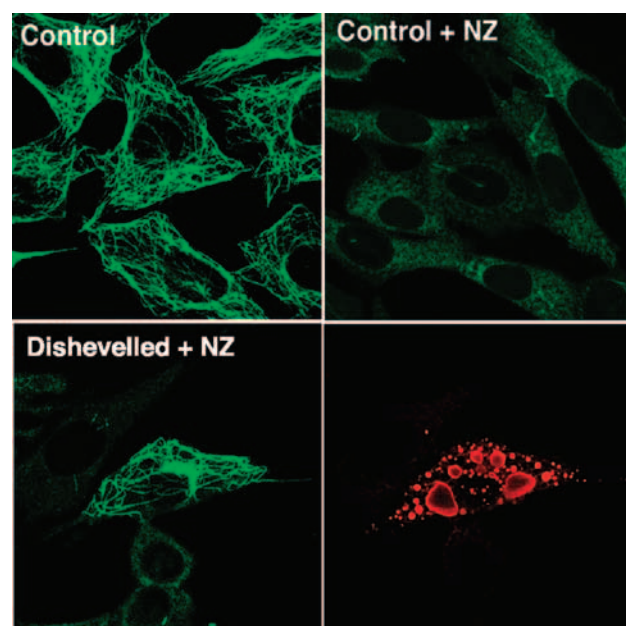


図2 Dishevelledによる微小管の安定化

Figure 2
 Stabilization of microtubules by Dishevelled

教授 薬学博士 井上 純一郎
 助教授 理学博士 仙波 憲太郎
 講師 薬学博士 秋山 泰身
 助手 薬学博士 合田 仁

Professor: Jun ichiro Inoue, Ph. D.
 Associate Professor: Kentaro Semba, Ph. D.
 Lecturer: Taishin Akiyama, Ph. D.
 Research Associate: Jin Gohda, Ph. D.

細胞増殖・分化の制御メカニズムを細胞内シグナル伝達と遺伝子発現の二つの側面から明らかにし、それらの異常によって引き起こされる細胞癌化の分子機構を理解することを目的としている。具体的には1) TNF受容体スーパーファミリーやToll/IL-1受容体ファミリーのシグナル伝達タンパク質であるTRAF (TNF receptor associated factor), 2) RNA結合能を有し細胞増殖・生存に必須なGTP結合タンパク質であるERA (E. coli Ras like protein), 3) ウィルムス腫瘍で変異が報告されておりその産物が転写因子であるWT1の3つの分子に焦点を絞り以下のプロジェクトを進行させている。

1) TRAFファミリーによるシグナル伝達とその発生及び器官形成における役割

B細胞の増殖分化に必須な受容体CD40のシグナル伝達因子としてTRAF5とTRAF6を同定した。さらにTRAF6遺伝子欠損マウスを作成し、TRAF6がB細胞増殖分化に限らず、炎症、自然免疫、リンパ節形成、骨形成、神経管形成、皮膚付属器形成にも必須であることを見出した。これらの生命現象がTRAF6によって活性化される転写因子NFκBやAP-1の遺伝子発現誘導によって制御されていると考え、その分子機構の解明を目指している。

2) ERAの細胞増殖・生存における役割

ERAはN末端側にGTP結合/GTPase領域、C末端側にRNA結合領域を有する新規Gタンパク質である。ERA遺伝子欠損細胞の作成によりERAが正常な細胞周期の維持及び生存に必須であることを明らかにした。さらにERA欠損細胞へのERA変異体導入実験からそのRNA結合活性が正常な細胞周期進行に必要であることが明らかとなりERAが既知の細胞増殖制御とは異なる分子機構のもとで機能していることが考えられた。そこでこの分子機構を明らかにするとともにERA遺伝子欠損マウスを作成しERAの生理的な役割の解明を目指している。

3) WT1による癌化及び性分化の分子機構

小児の代表的な腎腫瘍であるウィルムス腫瘍の原因遺伝子として知られるWT1は、腎臓および性腺の分化に必須の転写因子である。WT1の不活化は腎臓や性腺の正常な分化を妨げ、その結果生じる未分化組織から腫瘍が発生する。さらに、青年男子に好発する予後不良の腫瘍であるDSRCT (desmoplastic small round cell tumor) では染色体転座t(11;22)(p13;q12)により生じるWT1遺伝子とEWS遺伝子との融合遺伝子が腫瘍化の原因と考えられている。WT1による腎臓および性腺の分化機構とその破綻による腫瘍化並びにEWS-WT1による腫瘍化の機構を理解するために、これらの転写因子によって制御を受ける標的遺伝子の同定と解析を進めている。

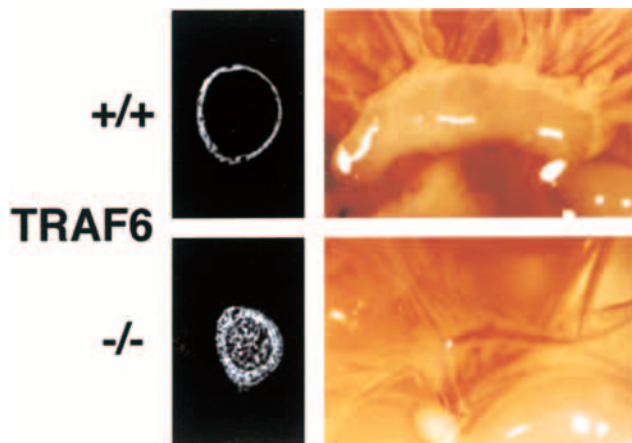


図1 TRAF6遺伝子欠損マウスにおける骨大理石病とリンパ節形成不全
 左：大腿骨のX線断層像。TRAF6 / マウスでは破骨細胞が形成されないため骨の異常増殖による骨大理石病となる。正常マウス(上)に存在する髄腔がTRAF6 / マウス(下)には、海綿骨の異常な増殖によりほとんど存在しない。
 右：腸管膜リンパ節はTRAF6 / マウスには無い。

Fig. 1 Severe osteopetrosis and defective lymph node organogenesis in TRAF6 deficient mice.
 Left: Cross sectional views of the distal metaphysis were obtained by microfocus X ray computed tomography. TRAF6 / mice display osteopetrosis due to lack of osteoclasts. Bone marrow cavity, which was clearly observed in control mice (upper), was filled with spongy bones in TRAF6 / mice (lower).
 Right: Lack of mesenteric lymph node in TRAF6 / mice.

Our goal is to understand the molecular mechanisms of oncogenesis by elucidating normal regulation of intracellular signal transduction and gene expression involved in cell proliferation and differentiation. We have been interested mainly in three molecules including 1) TNF receptor associated factor (TRAF), which transduces signal from TNF receptor superfamily and Toll/IL-1 receptor family, 2) vertebrate homologues of E. coli Ras like protein (ERA), G proteins essential for cell cycle progression and survival, and 3) WT1, a transcription factor mutated in Wilms' tumor. Following projects regarding these three molecules are going on.

1) Roles of TRAF mediated signal transduction in development and organogenesis.

We have identified TRAF5 and TRAF6 as signal transducers of CD40, a receptor essential for B cell proliferation and differentiation. Furthermore, we have generated TRAF6 deficient mice to show that TRAF6 is essential for inflammation, innate immunity, lymph node organogenesis, bone formation, neural tube formation and ectodermal development. To further elucidate physiological roles of TRAF6, we are trying to identify molecular mechanisms underlying the TRAF6 mediated activation of transcription factor NFκB and AP-1 and those underlying subsequent induction of gene expression.

2) Roles of ERA in cell proliferation and survival.

ERA is a novel G protein, which has a GTP binding/GTPase domain in its N terminal and an RNA binding domain in its C terminal. Generation of ERA deficient cells revealed that ERA is essential for normal progression of cell cycle and survival. Furthermore, complementation of ERA mutants into ERA deficient cells identified its RNA binding domain as an essential region for both normal progression of cell cycle and survival, suggesting that ERA promotes cell proliferation through a novel mechanism. We are trying to uncover molecular mechanisms underlying ERA mediated cell proliferation and in the process of generating ERA deficient mice to know the physiological roles of ERA in a whole animal.

3) Roles of WT1 in tumor formation and development of kidney and reproductive organs

The WT1 gene is a tumor suppressor gene of Wilms' tumor, a pediatric kidney tumor and is required for kidney and gonadal development. Mutation of WT1 is believed to perturb their normal development and thereby cause tumor formation in those organs. WT1 is a transcription factor, which binds to the specific DNA sequence via its zinc finger domain and then regulates transcription of target genes. WT1 is also involved in DSRCT, desmoplastic small round cell tumor. In this tumor, the WT1 gene is fused to the EWS gene as a result of chromosomal translocation t(11;22)(p13;q12). EWS-WT1 fusion protein also functions as a transcription factor, which contains part of zinc finger domain of WT1. We are currently searching for the target genes that are regulated by either WT1 or EWS-WT1. Identification of those genes will contribute to understanding of mechanism of tumor formation.

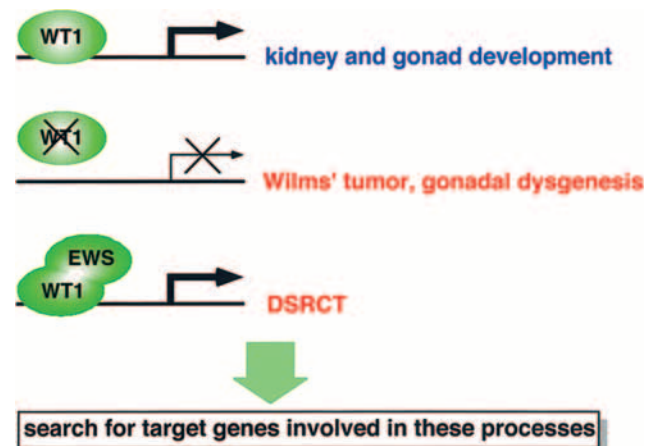


図2 WT1は腎臓と性腺の分化に必須の転写因子である。その不活化は、Wilms 腫瘍の発症や性腺の形成不全を引き起こす。また、染色体転座により生じるEWS-WT1融合蛋白質は、DSRCT (desmoplastic small round cell tumor) の発症原因と考えられている。WT1やEWS-WT1は転写因子であることから、これらによって制御を受ける標的遺伝子の同定が病態の理解と治療法の開発に重要である。

Fig. 2 The WT1 gene is required for kidney and gonadal development and its mutation is involved in Wilms' tumor and gonadal dysgenesis. EWS-WT1, which is generated from chromosomal translocation is also involved in DSRCT. Both WT1 and EWS-WT1 function as transcription factors. Therefore, searching for the target will contribute to understanding of physiological and pathological function of WT1.

教授 薬学博士 竹 縄 忠 臣
 助手 理学博士 伊 藤 俊 樹
 助手 理学博士 末 次 志 郎
 助手 理学博士 伊集院 壮

Professor: Tadaomi Takenawa, Ph. D.
 Research Associate: Toshiki Itoh, Ph. D.
 Research Associate: Shiro Suetsugu, Ph. D.
 Research Associate: Takeshi Ijuin, Ph. D.

当研究分野では細胞内情報伝達の研究を行っている。特に、イノシトールリン脂質情報伝達系及び細胞骨格、細胞運動制御の情報伝達系の解明に力を注いでいる。更には発生や形態形成、及び癌細胞の浸潤、転移におけるこれらの情報伝達の役割を明らかにする。

æ, WASPファミリー蛋白質を介しての細胞骨格、細胞運動制御

我々は新しいアダプター蛋白質Ash/Grb2を発見した。Ash/Grb2はSH3 SH2 SH3という構造をとり、SH2ドメインでチロシンリン酸化部位に結合し、各種増殖因子によって活性化されたチロシンキナーゼのシグナルをSH3ドメインを介して下流に伝えるアダプター蛋白質であった。特筆すべきはAsh/Grb2の下流蛋白質の一つにSos (Rasの活性化因子) があり、Rasを活性化して増殖シグナルを核へ伝えることである。今日、この経路は増殖シグナルの最も主要な情報伝達経路であり、非常に重要な役割を果たしていることが証明されている。Ash/Grb2のSH3ドメインに結合する蛋白質としてSos以外にN WASPを見つけた。この蛋白質は様々なドメイン構造をもつマルチファンクショナルな蛋白質で、Ash/Grb2結合ドメイン以外に低分子量G蛋白質Cdc42やアクチンに結合するドメインを有していた。細胞発現系や精製したN WASPを用いて、N WASPはCdc42によって活性化され、アクチンの重合を促進して糸状仮足 (フィロポジア) を形成する蛋白質であることを証明した。活性化機序としてN WASPにCdc42が結合するとC末に存在するVCA領域が露出して、アクチンがV領域に、Arp2/3複合体がCA領域に結合してアクチンの重合を促進することを示した。次にアクチン重合に決定的な役割を果たすVCA領域をもつ新しい蛋白質を探し、WAVEを見つけた。WAVEはRacによって活性化され、Arp2/3複合体を介して葉状仮足 (膜ラッフル) 形成を引き起こす蛋白質であった。しかも細胞内に於て活性型のRacと複合体を形成した。N WASPはArp2/3複合体を介して直線的な長いアクチン線維 (糸状仮足) 形成を起し、WAVEは同様にArp2/3複合体を利用するが、メッシュ状のアクチン線維 (葉状仮足) を生じる。糸状仮足や葉状仮足の形成は細胞の活性化、分裂、運動に必須の現象であるので、これらWASPファミリー蛋白質は生命現象の根幹を調節する重要な蛋白質だと考えられた。今後WASPファミリー蛋白質の発生、形態形成や癌細胞の浸潤、転移における役割を明らかにしていきたい。

æ, イノシトールリン脂質の生理的役割の解明

PIP2やPIP3などのイノシトールリン脂質は細胞内情報伝達において2ndメッセンジャー産生脂質としてまた活性のモジュレーターとして重要な役割を果たしている。我々は永年イノシトールリン脂質情報伝達系を研究してきたが、最近では1. 各種ホスホリパーゼCのノックアウトマウスの作成、2. イノシトールリン脂質の合成酵素であるPIPキナーゼ、及び分解酵素のホスファターゼの細胞骨格や細胞分裂における役割、3. 新たなイノシトールリン脂質結合ドメインの探索、4. 核内におけるイノシトールリン脂質情報伝達系の解明、などをおこなっている。これらの研究を通じてイノシトールリン脂質の細胞骨格制御機構や膜輸送、又は細胞癌化における役割、ホスホリパーゼCの受精における役割など様々な生理機能を明らかにしたい。

Our overall objective is to clarify signalling systems in cell growth, differentiation, morphogenesis and tumorigenesis. Currently, we are studying æ, the regulation of cytoskeleton, cell movement, invasion and metastasis through WASP family proteins. æ, role of inositol phospholipids signalling in re arrangement of cytoskeleton, membrane trafficking and nuclear events.

æ, Regulation of cytoskeleton and cell movement through WASP family proteins.

We found a new adaptor protein, Ash/Grb2. This protein consists of SH3 SH2 SH3 domain structure and binds to tyrosine phosphorylated sites through SH2 domain and transmits upstream tyrosine kinase signals to downstream molecules through SH3 domains. Ash/Grb2 is known to activate one of downstream molecule, Sos leading to Ras activation and then enhancement of cell growth. We also found a new protein, N WASP as an Ash/Grb2 SH3 binding protein. This protein has many functional domains such as Ash/Grb2 binding domain, Cdc42 binding motif and actin binding site. We demonstrated that N WASP is activated by Cdc42, leading to the formation of filopodium. Further, we clarified the N WASP activation mechanism. As a result, we showed that VCA region of N WASP is exposed after Cdc42 binding to CRIB domain and then actin binds to V region and Arp2/3 complex binds to CA region, resulting in actin polymerization. Next, we attempted to find new proteins that have VCA region, and found WAVE. WAVE was found to be activated by Rac and induce membrane ruffles. Furthermore, it formed complex with Rac in cells. Since filopodium and membrane ruffles formation are shown to be essential for cell division and movement, these proteins are important for regulating the basic phenomena of lives. We would like to clarify the roles of WASP family protein in morphogenesis and tumor metastasis in future.

æ, Physiological roles of inositol phospholipids

Inositol phospholipids, such as PIP2 and PIP3 plays important roles not only as 2nd messenger generating lipids but also as modulators of a variety of functional protein. Currently, we have focused on æ, production of phospholipase C KO mouse. æ, role of PIP kinase and PIP2 phosphatase in cytoskeleton and cell division. æ, survey of novel domains that bind to inositol phospholipids. æ, role of inositol phospholipid signalling in nuclear events. Through these studies, we would like to clarify the roles of inositol phospholipids in the regulation of cytoskeleton, membrane trafficking and malignant transformation, and the roles of phospholipase C in fertilization.

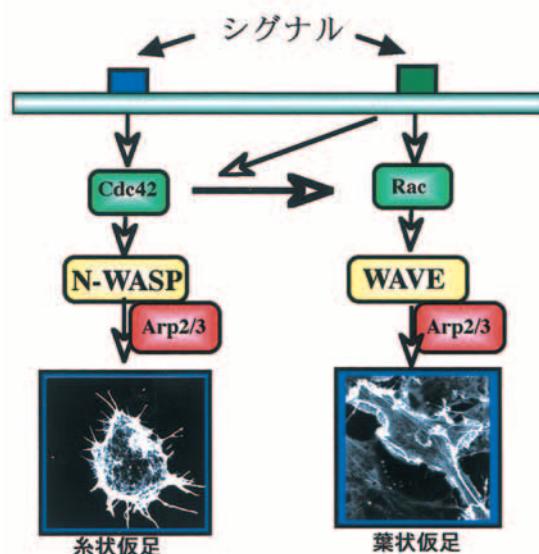


図 N WASP, WAVEによる細胞骨格制御

Fig. Regulation of cytoskeleton by WASP and WAVE

第三の鎖とも呼ばれる「糖鎖」は、タンパク質等に共有結合して生体内に広く存在し、その構造は発生や細胞の分化、成熟の過程や疾病に伴って変化する。当研究グループでは、糖鎖のシグナル分子としての直接的な役割、生理機能を制御するという間接的な役割の解明を目指しており、糖鎖認識タンパク質とそのリガンドの構造と機能、グリコシル化によるタンパク質の構造や機能の制御、糖鎖機能解析方法の開発等に関連する研究を進めている。

æ, 受精における糖鎖認識機構の解析

哺乳動物の卵の外被には数種の糖蛋白質からなる透明帯と呼ばれる層構造が認められ、精子との種特異的な結合、精子先体反応の誘導、多精阻止等において重要な働きをしている。とりわけ、精子と卵との結合には透明帯の糖鎖を認識する反応の関与が示唆されているが、その分子機構は十分に解明されていない。我々は、この問題の解明の糸口を見出すため、透明体の糖鎖構造を解明してきた。卵側の多様な糖鎖の中で、シアリル化された糖鎖やLewis X構造を含む糖鎖がブタ精子との結合に関与するという知見を得、卵側のシアロ糖鎖を認識する蛋白質の存在を、細胞化学的方法で示した。一方、マウスではブタと異なり、糖鎖末端のガラクトース残基が精子との結合に関与するという知見を得ている。現在、精子側の糖鎖認識タンパク質の同定、単離、構造の解析を目指した研究を進めている。

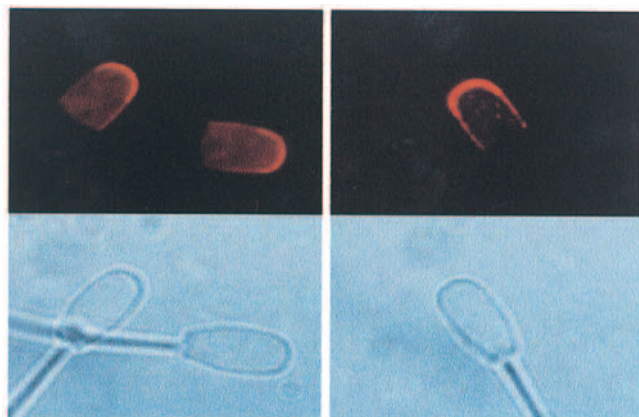
æ,, セレクチンに対する天然のリガンドの解析

セレクチンファミリーのタンパク質とそれらのリガンドとの相互作用は、悪性化した細胞の転移、炎症部位への白血球動員、リンパ球のホーミングに深く関わっている。セレクチンに対する生理的リガンドの糖鎖構造については依然として不明な点が多く、現在、癌細胞の転移に関与するリガンドの構造解析を進めている。

æ" 糖鎖によるタンパク質や細胞の機能発現の調節機構の解析

我々はこれまでに、マクロファージの細胞表面糖タンパク質の糖鎖構造を修飾することにより、免疫複合体の貪食能が誘導されること等から、Fcレセプターの機能が細胞の分化や成熟度に依存して発現する糖鎖によって制御される側面があることを示してきた。注目すべきは、糖鎖の構造変化は、Fcレセプターへのリガンドの結合には影響を与えず、取り込み過程に影響を及ぼす点である。その機構に関する研究を進めている。

リンパ球の細胞接着タンパク質CD 2は、胸腺上皮細胞、抗原提示細胞、標的細胞への接着に関与し、T細胞の活性化、細胞障害活性の発現を増強する。CD2のリガンドとしてCD58と呼ばれる糖タンパク質が同定されている。しかし、細胞表面上でのCD58タンパク質の発現量は必ずしもCD2との結合能とは一致しない。CD2介在性ロゼット形成反応が糖鎖によって影響されるという我々の知見に基づいて、CD58のglycoformをそれらのリガンド活性との関連で解析している。



Sugar chains bound to the polypeptide chains widely occur in the body, and their structures change during development and differentiation of the cells and in pathological states. Our objective is to elucidate direct and indirect roles of the sugar chains. We are currently studying structure and function of carbohydrate binding proteins and their ligands, regulation of protein structures and functions by glycosylation, and establishment of new methods for structural and functional analysis of sugar chains.

æ, Carbohydrate recognition mechanism involved in fertilization

Mammalian eggs are surrounded by an extracellular matrix called the zona pellucida (ZP) which consists of a few glycoproteins. The ZP plays important roles in sperm egg binding, induction of sperm acrosome reaction, and block to polyspermy. It has been suggested that the mechanism recognizing glycans on the ZP is working in the sperm egg binding process, it is still unveiled. Recently, we have found that glycans containing sialo/asialo N acetyllactosamine and the Lewis X structures are involved in boar sperm binding, and that molecules recognizing these glycans are expressed on the sperm head. We have also found that mouse sperm recognize galactosyl residues of the ZP. We are currently trying to identify, isolate and characterize the carbohydrate binding proteins which are involved in binding to egg.

æ,, Analysis of selectin ligands

Interactions of a family of proteins called selectin with their carbohydrate ligands are involved in metastasis of tumor cells, migration of leukocytes to the inflamed sites and homing of lymphocytes. There is controversy as to the structures of physiological carbohydrate ligands, and we are now focusing on the analysis of ligands contributing to the metastasis of tumor cells.

æ" Regulation of protein or cellular functions by glycosylation

We have observed that modification of cell surface N glycans induces phagocytosis of immune complexes by monocyte cells, and suggested that the Fc receptor function is regulated by N glycans which change during cellular differentiation and maturation. To be noted is that the altered protein glycosylation affects some process of ingestion of the ligands without any effect on receptor ligand binding. Its mechanism is under investigation.

A cell adhesion molecule called CD2 mediates interactions of thymocytes with thymic epithelial cells, and of T cells with antigen presenting cells and target cells, which stimulate lymphocyte activation and cell mediated cytotoxicity. Expression level of CD58, a ligand for CD2, on the cell surface does not necessarily correlate with its binding ability to CD2. Considering our result that the carbohydrate recognition mechanism is involved in CD2 mediated rosette formation, we are analyzing glycoforms of CD58 in relation to their ligand activity.

図 多価オリゴ糖プローブによる精子頭部に発現する糖鎖結合分子の検出

Fig. Detection of carbohydrate binding proteins expressed on the sperm head

教授 医学博士 渋谷 正史
 講師 医学博士 後藤 典子
 助手 理学博士 矢花 直幸
 助手 医学博士 櫻井 佳子

Professor: Masabumi Shibuya, M. D., D. M. Sc.
 Lecturer: Noriko Gotoh, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Naoyuki Yabana, Ph. D.
 Research Associate: Keiko Sakurai, Ph. D.

がん遺伝子・抑制遺伝子の研究から、細胞がん化機構に関与する遺伝子群の主なものは明らかにされたと考えられるが、その作用機構はまだ不明の点が多い。さらに、個体レベルのがんの進展に深く関与する腫瘍血管や転移の問題などについては、関与する遺伝子群の解明もまだ始まったばかりである。我々は生体内で多くのシグナル伝達に主要な役割を果たすチロシンキナーゼ群に焦点を合わせ、がん化に直接関与するものや、腫瘍血管形成に関与するものの詳細な解析を行いたいと考えている。

æ, 正常血管および腫瘍血管新生の分子機構

我々は新しい受容体であるfms関連遺伝子flt 1チロシンキナーゼを単離した。最近の研究からFlt 1やその関連キナーゼKDR/Flk 1は血管内皮増殖因子VEGFと結合し、正常血管や腫瘍血管の新生、血管透過性に極めて重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。さらに、この系は腹水がん発症や転移にも関係することが示されており、我々はシグナル伝達のレベルから臨床レベルまで詳しく解析する予定である。

æ,, 細胞がん化の機構

腫瘍における活性化がん遺伝子を探索し、これまでに脳腫瘍で最も悪性なグリオブラストーマにEGF受容体遺伝子の興味深い構造変化などを見いだしている。また、EGF受容体下流のShcからのシグナル伝達を詳細に解析している。

æ" Fibroblast growth factor (FGF) 受容体チロシンキナーゼによるシグナル伝達の分子機構

FGF受容体チロシンキナーゼは、細胞の癌化及び腫瘍血管新生に重要な役割を果たすとともに、胎児の発生のいろいろな段階でも働いている。しかし、チロシンキナーゼのシグナリングが、どのような分子メカニズムで、精緻にプログラムされた生物現象である発生をコントロールしているのか、またその破綻である癌などの病気に関わるのか、謎は多い。我々は、ドッキング分子FRS2が、FGF受容体のシグナリングの中心的な担い手として働いていることを見出した。そこで、我々は、FRS2を切り口にして、哺乳動物の発生及び癌における、FGFのシグナル伝達を解明することを目指している。さらに、研究成果を癌治療や再生医療へ応用することを視野に入れて日々仕事を進めている。

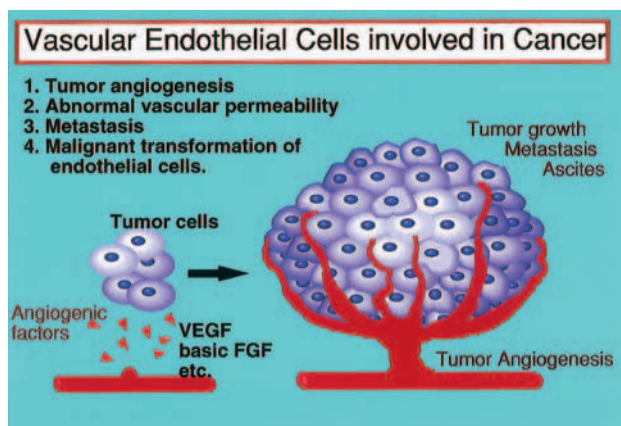


図 1
 がん細胞と血管系の相互作用に関するモデル。VEGFとその受容体 Fltキナーゼファミリー (Flt 1, KDR/Flk 1) のシステムは腫瘍血管形成を調節する最も基本的なシグナル伝達系と考えられる。

Fig. 1
 A model for interaction between cancer cells and vascular endothelial cells. VEGF and its receptor (Flt 1, KDR/Flk 1) system is a key system for regulation of tumor angiogenesis.

Recent studies on oncogenes and tumor suppressor genes have revealed at least a part of the mechanism of carcinogenesis. However, many questions particularly those on the carcinogenic process *in vivo* such as tumor angiogenesis and metastasis remain to be solved. We have been focusing on the analysis of protein tyrosine kinases which are involved in cell transformation and angiogenesis.

æ, VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) and its receptors.

We have isolated a new receptor tyrosine kinase gene *flt 1* which is specifically expressed on vascular endothelial cells. Flt 1, a related kinase KDR/Flk 1 and their ligand VEGF family are deeply involved in normal and tumor angiogenesis. This system may be a novel target for cancer therapy.

æ,, Mechanism of cell transformation through EGF receptor.

EGF receptor gene is frequently activated in human cancer. We demonstrated the importance of Shc adaptor protein in signal transduction from this receptor and a unique structural alteration of EGF receptor gene in brain tumors which constitutively activates this receptor kinase.

æ" Mechanisms of cellular signaling through fibroblast growth factor (FGF) receptor tyrosine kinase

FGF receptor tyrosine kinase signaling plays important roles not only in carcinogenesis but also in normal physiological development. The precise mechanisms by which FGF receptor signaling controls these processes remain unclear. We have recently discovered that FRS2, one of the docking proteins, plays a critical role in FGF receptor signaling. We are now focusing on the docking protein mediated FGF receptor signaling aiming to understand how FGF receptor tyrosine kinase controls these pathological and physiological processes. We also aim to develop useful therapeutic tools for the cure of diseases including cancer.

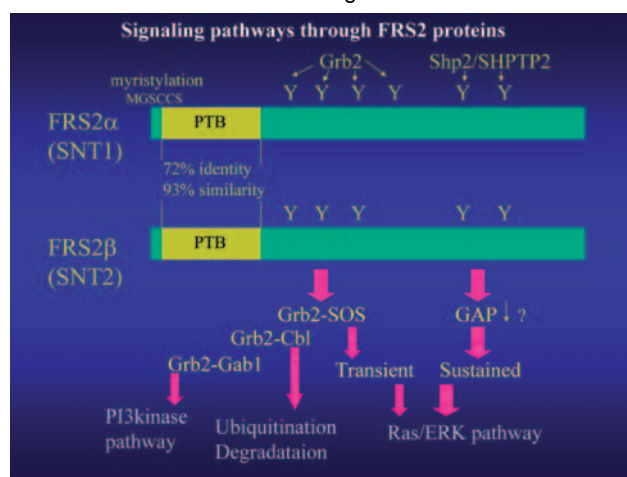


図 2
 FRS 2 ドッキング分子は、FGF受容体チロシンキナーゼによってチロシンリン酸化されると、Grb 2 及びShp 2 と結合して、Ras ERK pathwayなどのいくつかのシグナル伝達系を活性化する。

Fig. 2
 Signal transduction pathways through FRS2 docking proteins. Upon stimulation with FGF, FRS2 proteins become tyrosine phosphorylated and activate several signal transduction pathways including the Ras ERK pathway.

基礎医科学部門は、分子細胞情報分野、染色体制御分野、遺伝子動態分野、脳神経発生・分化分野、神経ネットワーク分野、分子構造解析分野、遺伝子解析施設、幹細胞シグナル分子制御寄付部門、幹細胞組織医工学（歯胚再生学）寄付部門、神経情報シグナル共同研究ユニットより構成されており、医科学研究所における基幹部門のうちの重要な部分を担っている。歴史的にみると基礎的なオリジナルな研究をする部門として位置づけられており、常に多様性とユニークな研究グループの集合体である。

本部門からいくつかのプロジェクト研究が巣立ち発展して行き、現在のゲノムセンター、ヒト疾患モデル研究センターとなっている。

基礎医科学部門を分類すると以下の様になる。基礎生命科学部門は遺伝子動態分野、染色体制御分野、分子細胞情報分野から構成され、脳神経科学部門は脳神経発生・分化分野と神経ネットワーク分野から構成される。寄付部門として幹細胞シグナル分子制御分野と幹細胞組織医工学（歯胚再生学）分野があり、民間との共同研究ユニットとして神経情報シグナル分野がある。共通部門として遺伝子解析センターがあり、もう一方の分子構造解析分野では生体分子イメージングユニットと微細形態ユニットからなり、生体分子構造解析や電子顕微鏡や光学顕微鏡による解析が中心となる。

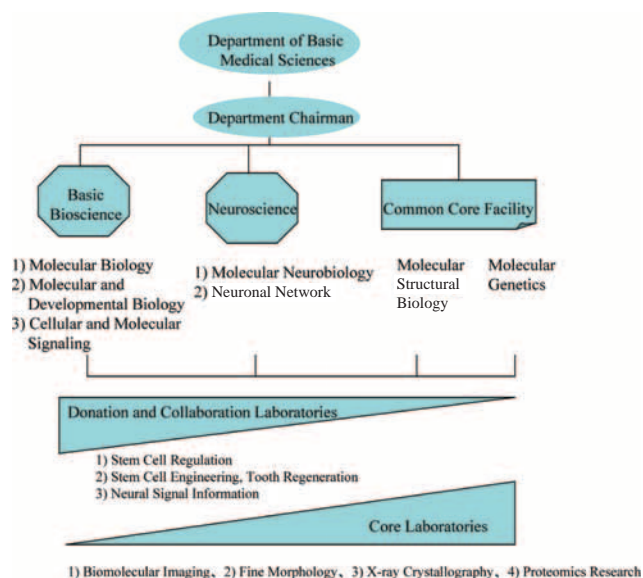
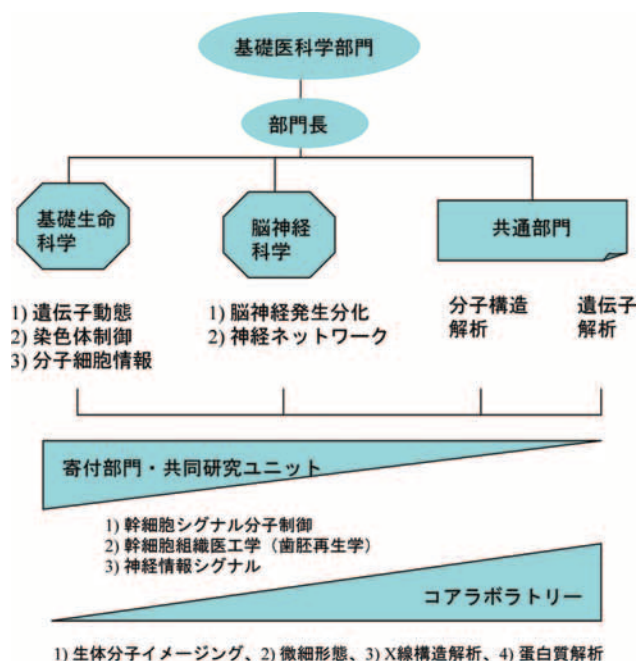
この共通部門では研究を進める一方で、技術開発も行ない、設備も含めて医科学研究所全体に広かれた共通部門として位置づけられている。

Department of Basic Medical Sciences is composed of Divisions of Molecular Biology, Molecular and Developmental Biology, Cellular and Molecular Signaling, Molecular Neurobiology, Neuronal Network, Molecular Genetics and Structural Biology.

Department of Medical Sciences played an important role in the Institute of Medical Sciences, the University of Tokyo in leading basic bioscience by producing unique and original results. Department of Basic Medical Sciences is a functional complex of variety of research subjects and techniques collaborating each other. A couple of project laboratories, Human Genome Center and Center for Experimental Medicine, are established from this department.

Division of Molecular Biology, Division of Molecular and Developmental Biology and Division of Cellular and Molecular Signaling are grouped in Basic Bioscience field. There are two laboratories, Division of Molecular Neurobiology and Division of Neuronal Network in the field of Neuroscience. There are two Donation Laboratories for Stem Cell Regulation and Stem Cell Engineering (Tooth Regeneration) as well as Collaboration Laboratory for Neural Signal Information.

We set up two divisions as a Common Core Facility in the Department of Basic Medical Sciences: 1) Division of Structural Biology which is composed of Biomolecular Imaging and Fine Morphology unit, and 2) Division of Molecular Genetics. These Common Core Facilities provide new techniques.



教授 理学博士 斎藤 春雄
助教授 医学博士 武川 睦寛
助手 薬学博士 舘林 和夫

Professor: Haruo Saito, Ph. D.
Associate Professor: Mutsuhiro Takekawa, M. D., Ph. D.
Research Associate: Kazuo Tatebayashi, Ph. D.

外界からの物理化学的ストレス刺激（高浸透圧，紫外線，放射線，オキシダントなど）を受けた細胞は，細胞内の特定のシグナル伝達システムを利用して遺伝子発現を調節し，環境変化に適応する。このようなプロセスは細胞にとって極めて重要な機構であり，酵母から哺乳類に至るすべての真核細胞生物に相同な分子機構が存在する。しかしながら，その詳細については未だ不明な点が多い。当研究部では，このような外界からのストレス刺激に対する細胞の情報伝達機構を解明すべく，出芽酵母と哺乳類細胞のそれぞれの長所を利用して研究を行っている。

æ, 酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)

酵母では高度な遺伝学的手法と生化学的手法を容易に併用できるので，細胞の基本的な分子機構を研究するには極めて有力な生物である。当研究部では，酵母の高浸透圧ショックに対する適応反応に関わる情報伝達系を解析する。とくに，ヒスチジンキナーゼによる浸透圧変化の検出機構，浸透圧変化の細胞骨格への影響，浸透圧ストレスによるMAPキナーゼカスケードの活性化とその細胞内情報伝達機構，ホスファターゼによる情報伝達の負の制御などを中心に研究を進める予定である。

æ, 哺乳類細胞

ヒトストレス応答，MAPキナーゼカスケードは，高浸透圧のみならず，DNA損傷，過酸化物質，さらにTNF やTGF などのサイトカインによっても活性化され，ストレスを被った細胞の運命決定や炎症，免疫応答の制御に中心的な役割を果たしている。哺乳類細胞のストレス応答シグナルの制御機構は，より多彩であると考えられるが，当研究部では，ヒト細胞のストレス感受機構とMAPキナーゼカスケードの活性化および活性阻害機構に関与する分子を同定し，その制御メカニズムを解明する。さらに，ストレス応答シグナル伝達システムによって調節される細胞機能，生理機能を明らかにし，その異常によって引き起こされる種々の疾患克服への応用を目指す。

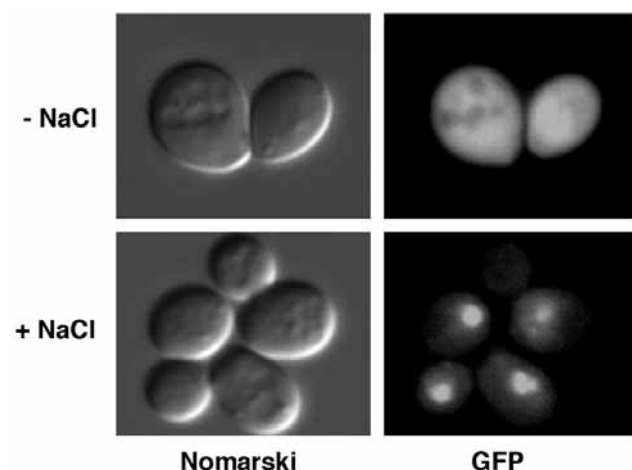


図1 酵母を高濃度の食塩などによる浸透圧ショックにさらすと，活性化されたHog1 MAPキナーゼは迅速に細胞質から核へ移動する。この実験では，Green Fluorescent Protein (GFP) と融合することによって，Hog1を可視化している。

When exposed to environmental stresses, such as osmotic shock, radiation, and oxidative stress, cells respond adaptively through intracellular signal transduction and signal processing. Because such adaptive responses are so fundamentally important for cell survival, it is believed that significant conservation of molecular mechanisms exists between lower and higher eukaryotic organisms. Nonetheless, their molecular mechanisms are yet only vaguely understood. This laboratory, which is established in the year 2000, aims to study the molecular mechanisms underlying the adaptive responses of the yeast and human cells, utilizing the complementary advantages of the two experimental systems.

æ, Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

Budding yeast is particularly suitable to study fundamental cellular mechanisms, because with this organism highly advanced genetic analyses can be easily combined with biochemical studies. We will study the yeast signal transduction pathway that mediates its adaptive response to hyper osmotic stress. Specifically, we aim to elucidate: the molecular mechanism of osmosensing by a histidine kinase; roles of the cytoskeleton in osmosensing and in osmoadaptation; regulation of the osmosensory (HOG) MAP kinase cascade; and roles of protein phosphatases in negatively regulating the osmo adaptive signal transduction.

æ, Human cells.

It has been elucidated, by us and others, that homologous MAP kinase cascades and protein phosphatases are involved in osmo adaptive responses of both yeasts and mammalian cells. In mammalian cells, however, the osmotic stress responsive MAP kinase cascades can be also activated by diverse environmental stresses, such as UV and gamma radiation, genotoxins, and oxidative stress. Thus, it is anticipated that there are multiple upstream sensing mechanisms, each of which eventually activates the same stress responsive MAP kinase cascades. We will investigate the molecular mechanism by which the cells detect the diverse environmental stress conditions, and mechanisms by which the stress responsive MAP kinase cascades are activated.

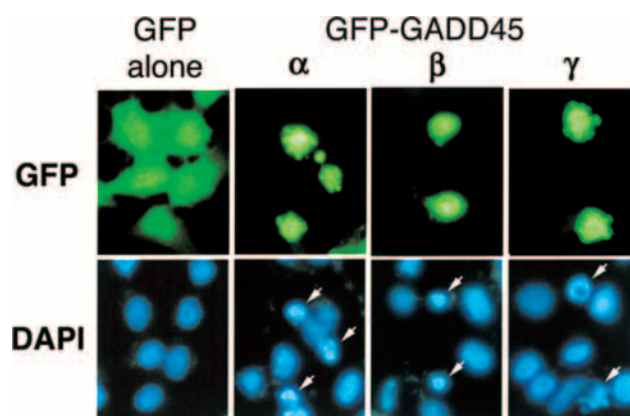


図2 哺乳類細胞にGADD45関連遺伝子を導入するとストレス応答MAPキナーゼ経路を活性化し，アポトーシスを誘導する。

教授 医学博士 真鍋 俊也
 助手 医学博士 渡部 文子
 助手 医学博士 松井 稔

Professor: Toshiya Manabe, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Ayako M. Watabe, Ph. D.
 Research Associate: Minoru Matsui, M. D., Ph. D.

私たちは、情動や記憶・学習などの高次脳機能の分子機構を解明するため、シナプスに局在する機能分子の役割に特に焦点を当てて研究を進めている。具体的には、神経系の情報伝達に關与する神経伝達物質受容体、シグナル伝達分子、細胞接着分子などをおもな研究対象としている。研究手法としては、電気生理学、生化学、分子生物学、行動学などの方法を駆使して、受容体機能やシナプス伝達、シナプス可塑性を解析し、これらが動物個体においてどのような役割を果たしているかを明らかにすることを目指している。

1. 海馬におけるシナプス可塑性の分子・細胞機構の解明
2. シナプス可塑性におけるチロシンリン酸化の役割の解明
3. シナプス伝達と可塑性における成体ニューロン新生の役割の解明
4. 細胞接着分子とシナプス可塑性：カドヘリンなどの細胞接着分子の機能解析
5. シナプス前終末における機能のおよび形態的可塑性の解析
6. ムスカリン性アセチルコリン受容体の機能解析：5種類のサブタイプのノックアウトマウスによる総合的解析
7. シナプス可塑性における細胞内シグナル伝達分子の役割：Rasなどの機能解析
8. シナプス可塑性におけるアセチルコリンなどの神経調節物質の役割の解明
9. 代謝型グルタミン酸受容体のシナプス可塑性における役割の解明
10. メタ可塑性の分子機構：シナプス可塑性の可塑的調節機構の解明
11. 扁桃体におけるシナプス可塑性と情動

Our major research interest is the molecular mechanisms of higher brain functions in mammals such as emotion, and learning and memory. We are especially focusing on the roles of functional molecules localized in synapses, for instance, neurotransmitter receptors, signal transduction molecules and adhesion molecules, in neuronal information processing. We are examining receptor functions, synaptic transmission and plasticity, and their roles in the whole animal with electrophysiological, biochemical, molecular biological and behavioral approaches.

1. Molecular and cellular mechanisms of hippocampal synaptic plasticity.
2. Roles of tyrosine phosphorylation in synaptic plasticity.
3. Roles of adult neurogenesis in synaptic transmission and plasticity.
4. Adhesion molecules and synaptic plasticity: functional analysis of cadherin etc.
5. Functional and morphological plasticity at presynaptic terminals.
6. Analysis of muscarinic acetylcholine receptor functions: comprehensive studies using the five lines of mutant mice lacking each subtype.
7. Roles of intracellular signaling molecules in synaptic plasticity: functional analysis of Ras etc.
8. Neuromodulators and synaptic plasticity: acetylcholine etc.
9. Roles of metabotropic glutamate receptors in synaptic plasticity.
10. Molecular mechanisms of metaplasticity: plastic regulation of synaptic plasticity.
11. Synaptic plasticity in the amygdala and emotions.

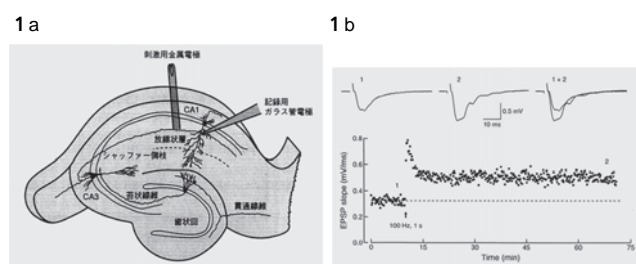


図1 動物モデル（マウス）を用いた電気生理学
 a. マウスの海馬切片を用いた電気生理学実験法。
 b. シナプス可塑性の例。テタヌ刺激によるシナプス伝達長期増強現象。

Fig. 1 Electrophysiology using the mouse as an animal model.
 a. An electrophysiological technique in a hippocampal slice.
 b. An example of synaptic plasticity: long term potentiation induced by tetanic stimulation.

図2 動物モデル（マウス）を用いた行動学
 a. モリス水迷路による記憶学習機能の解析
 b. ロータ ロッド試験による運動機能の解析

Fig. 2 Behavioral study using the mouse as an animal model.
 a. Analysis of learning and memory function using a Morris water maze.
 b. Analysis of motor function with a rota rod test.

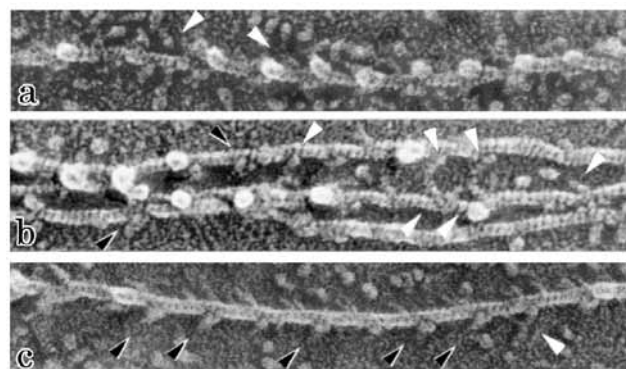


教授 医学博士 片山 栄作
 助手 医学博士 相良 洋

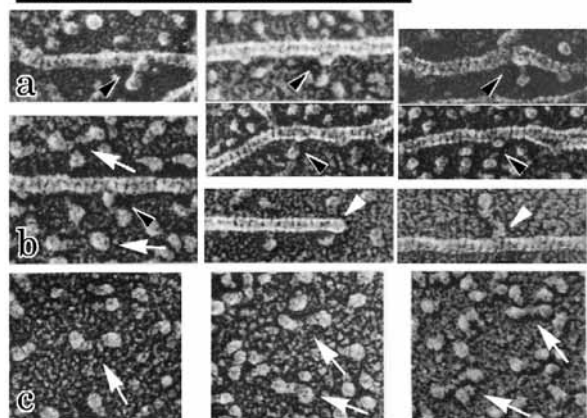
Professor: Eisaku Katayama, M.D., D.M.Sc.
 Research Associate: Hiroshi Sagara, D.M.Sc.

『1分子の構造生物学』: 溶液中・細胞内において機能遂行中の蛋白質複合体の立体構造解析

蛋白質は「生命の分子機械」として、単独であるいは複合体の形で細胞内外における重要な生命機能を果たしている。われわれはそのような粒子1個1個が現場で働く状況を急速凍結電子顕微鏡法により直接観察し、3次元構造解析などを介してそのはたらきの分子メカニズムを追及するためのさまざまな手法の開発を続けてきた。既にほぼ完成した1分子の3次元画像解析法、そして、蛋白質工学を用いて開発中の新たな高分解能標識法を駆使して、生きた細胞内で機能を果たしつつある細胞骨格関連の分子モーター、あるいは受容体蛋白質分子の実時間ダイナミクス解析そして高分解能の3次元構造解析に挑んでいる。



Rigor Acto-Heavy Meromyosin



Sliding Acto-Heavy Meromyosin

図1 急速凍結フリーズレプリカ法を用いれば、機能遂行中の蛋白質複合体を1ミリ秒以内に凍結固定し、高いコントラストの実像を得ることが可能である。ここでは滑り運動開始前と運動中のアクトミオシンの電子顕微鏡像を示す。上パネルは硬直複合体。各ミオシン分子の細長い形状の2個の頭部を介してアクチン・フィラメントに結合する。下パネルは滑り運動中のクロスブリッジ。ミオシン分子は1個の頭部のみでアクチンに結合し、丸まった形状を示す。

Fig. 1 Use of quick-freeze deep-etch replica electron microscopy enables to fix protein complex under functional states within 1 millisecond, providing high contrast images. Shown here are actomyosin rigor complex (upper panels) and crossbridges during actin-sliding movement (lower panels). Individual myosin molecules appear elongated and bind actin through two heads under rigor conditions, while those during sliding look rounded and binds actin through one head.

“Structural Biology of Single Molecule”: Three-dimensional (3-D) structural analyses of functioning protein complex in solution and in live cells

Protein molecules or their complex constitute “The Molecular Machines of Life” which play crucial roles in extra- or intracellular environments. We have been developing the means to visualize the structure of individual particles under functional states, and to pursue their molecular mechanism through separate and unaveraged 3-D structural analysis of each individual particle. Utilizing our novel methodology of 3-D image analysis, together with new high-performance marker probes, we are challenging the real-time intracellular dynamics and high-resolution structural analyses of several protein complex including molecular-motor and receptor molecules.

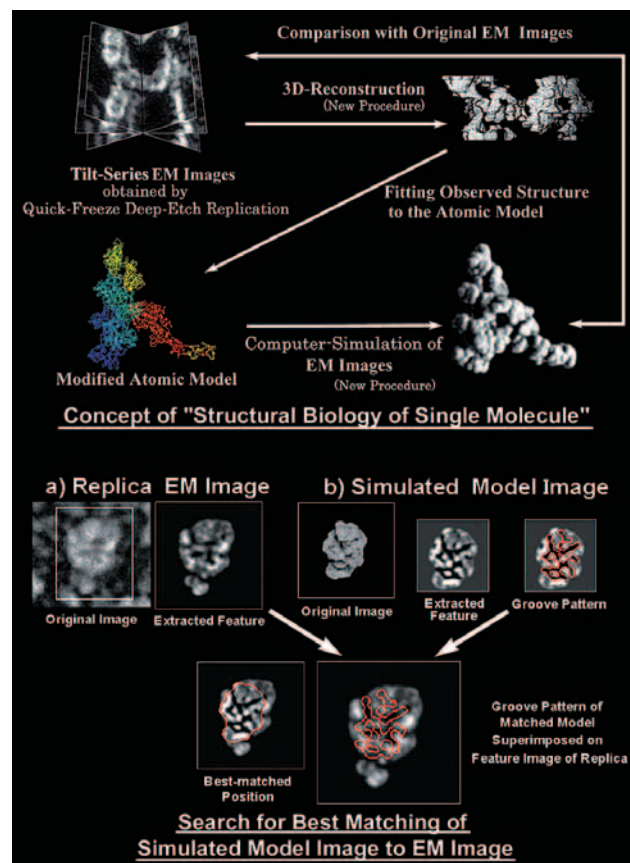


図2 上パネル: 「1分子の構造生物学」のためのフローチャート。急速凍結電子顕微鏡法、傾斜電子顕微鏡画像からの3次元像再構成、そして原子モデルから予測される画像のシミュレーションが基本となる。
 下パネル: 蛋白質の顔(特定の方向から見た基本構造)とその表情(基本構造からの構造変化)を解析するための新たな手法を示す。急速凍結レプリカ像と、原子モデルより作成したシミュレーション像からそれぞれに特徴的な表面のパターンを抽出し、それらを定量的に比較することにより、レプリカ像が蛋白質をどの面から見たものか、またそれがどのように変化しているかを知ることが可能となった。

Fig. 2 Upper panel: Flow-chart to conduct “the Structural Biology of Single Molecule”. Basic techniques are quick-freeze deep-etch replica electron microscopy, 3-D image reconstruction from tilted micrographs, and computer simulation of replica images from the atomic-model of the target protein.
 Lower panel: New procedure to analyze Protein’s “Face” (basic structure observed from certain side) and its “Facial Expression” (structural change from the standard state). By quantitative comparison of extracted feature patterns of replica and simulated images, we might discriminate the observed side of the target protein and its delicate, possibly function-related changes.

教授 医学博士 御子柴 克彦
 助教授 医学博士 井上 貴文
 助手 医学博士 道川 貴章

Professor: Katsuhiko Mikoshiba, M. D., Ph. D.
 Associate Professor: Takafumi Inoue, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Takayuki Michikawa, Ph. D.

脳神経発生・分化分野は、1) ほ乳類の脳神経系がいかんしてつくられて機能するのか、2) イノシトール三リン酸 (IP_3) 誘導 Ca^{2+} 放出の分子基盤と細胞機能は何か、3) 細胞内 Ca^{2+} シグナル伝達とその動態の分子機構は何か、などを解明するため、分子、細胞、個体レベルで学際的で統合的な研究を展開している。以下に、主な研究テーマを示す。

æ, 脳神経系の発生分化と高次機能発現の研究

- 1) 遺伝性の運動失調症や脳神経系の発生・形態形成異常などを示す突然変異マウスをモデル系として、その病因となるニューロンやグリアの機能について、最新の細胞・組織形態学的技法を活用しつつ分子レベルで解析する。
- 2) シナプス形成（成長円錐の伸展など）やシナプス可塑性（海馬LTP, 小脳LTD）などの分子機構について、最新の光学的イメージング法やパッチクランプ法などを駆使して、細胞生理学的、電気生理学的に解析する。
- 3) 遺伝子欠損モデルマウスを作製して、神経機能分子の個体レベルでの解析を行う。
- 4) 脳神経系の発生分化、形態形成に関わる遺伝子発現の系統的な解析

æ,, イノシトール三リン酸 (IP_3) 受容体ファミリーの構造・機能相関の解明と細胞機能に果たす役割に関する研究

- 1) IP_3 受容体の IP_3 リガンド作動性 Ca^{2+} チャンネルとしての分子構造を解明する。
- 2) IP_3 受容体の機能（リガンド結合、イオンチャンネル）とその調節（リン酸化、ATPやカルモジュリン制御など）を解明する。
- 3) IP_3 受容体と他の Ca^{2+} シグナル伝達分子の特異的な発現や、 Ca^{2+} ストアの細胞内動態を解析して、細胞のタイプや分化ステージなどに特異的な IP_3 誘導 Ca^{2+} 放出を解明する。

æ'', 細胞内 Ca^{2+} シグナル伝達と動態、その細胞機能について Ca^{2+} イメージング法を用いた研究

- 1) アフリカツメガエル卵やマウス卵などを用いた受精、胚発生における IP_3/Ca^{2+} シグナル伝達の生理的役割を解析する。
- 2) 脳神経系におけるシナプス形成、シナプス可塑性などにおける Ca^{2+} シグナル伝達の役割の解明
- 3) 各種細胞系を用いた細胞内 Ca^{2+} 動態 (Ca^{2+} wave, Ca^{2+} oscillation など) と生理機能を解析する。

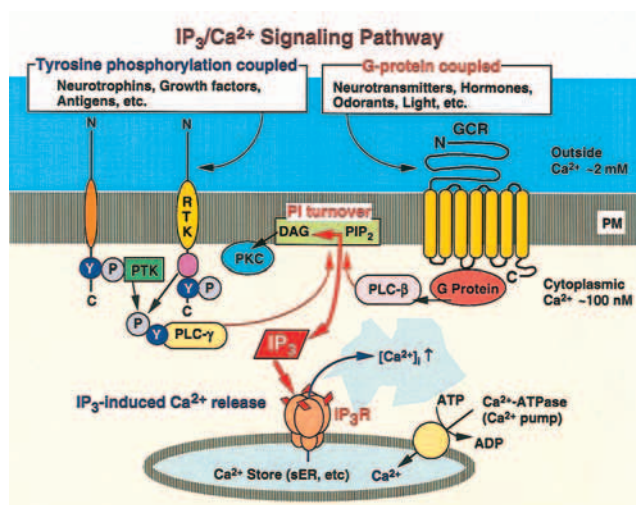


図 1 IP_3 誘導 Ca^{2+} シグナル伝達と IP_3 受容体

Fig. 1 IP_3/Ca^{2+} signaling and IP_3 receptor

Our goal is to understand 1) how the mammalian nervous system develops and how the complete neural circuits integrate and store information, 2) molecular bases of the inositol 1,4,5 trisphosphate receptor and cellular functions of the IP_3 induced Ca^{2+} release, and 3) molecular mechanisms underlying the intracellular Ca^{2+} signaling and dynamics. We try to integrate vital information at gene, cell and animal levels into a comprehensive whole researches by means of interdisciplinary approaches. Ongoing research themes are as follows.

æ, Study on the development, morphogenesis, and highly organized cellular functions in the nervous system.

- 1) Molecular analyses of mutant mice having hereditary ataxia or abnormality in the development and morphogenesis of the nervous system, by using state of the art cellular and morphological methods.
- 2) Molecular mechanisms of synapse formation (extension of growth cone, etc) and synaptic plasticity (hippocampal LTP and cerebellar LTD), by cell physiological and electrophysiological techniques (optical imaging, patch clamp, etc).
- 3) Generation and analyses of mice deficient in nervous system specific genes.
- 4) Systematic analyses of gene expression during the development and morphogenesis of the nervous system.

æ,, Molecular analyses of the inositol 1,4,5 trisphosphate receptor (IP_3R) and its signaling role in cell functions.

- 1) Molecular bases of the IP_3R channel, as the IP_3 ligand operated Ca^{2+} channel.
- 2) Functions (ligand binding, channel gating, etc) and modulations (by phosphorylation, ATP and calmodulin binding, etc) of the IP_3R .
- 3) Cell and stage specific expression of the IP_3R and other Ca^{2+} signaling molecules, and dynamics of intracellular Ca^{2+} stores.

æ'', Study of the intracellular Ca^{2+} signaling and dynamics by using Ca^{2+} imaging technique.

- 1) Physiological roles of IP_3/Ca^{2+} signaling in fertilization and embryonic development in *Xenopus* and mouse.
- 2) Ca^{2+} signaling in synapse formation and synaptic plasticity.
- 3) Intracellular Ca^{2+} signaling and dynamics (Ca^{2+} wave, Ca^{2+} oscillation, etc), and physiological functions, in a wide variety of cell types.

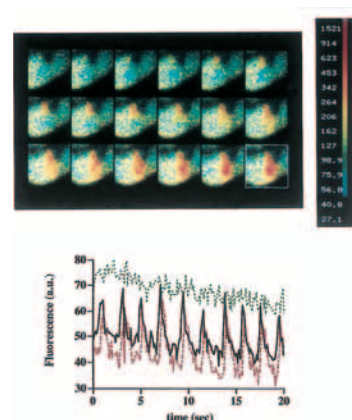


図 2 カルバコール刺激したラット唾液腺単離導管の、時間空間的な細胞内 Ca^{2+} 濃度変化

Fig. 2 Spatiotemporal nature intracellular Ca^{2+} signal induced by carbachol in the duct of rat salivary gland

教授 理学博士 中村 義一
 助教授 理学博士 伊藤 耕一
 助手 理学博士 小黒 明広

Professor: Yoshikazu Nakamura, Ph. D.
 Associate Professor: Koichi Ito, Ph. D.
 Research Associate: Akihiro Oguro, Ph. D.

癌や細胞増殖などの高次な細胞機能は、遺伝子の発現調節が正しく行われるかどうかにか依存する。遺伝子の発現は、DNA RNA 蛋白質のセントラルドグマにしたがって、転写、翻訳、プロセッシング等の多段階で制御されるが、mRNAの動態と制御を中心とする転写後の遺伝子発現は、広範囲の生物系、高次な細胞機能において重要な調節機構として働くことが鮮明になってきた。当研究部では、新しいパラダイムを形成する翻訳調節の分子機構を中心として、RNAによる遺伝子発現調節の仕組みや遺伝子スイッチの分子基盤の解明を目指す。

æ, 翻訳機構の研究

終止コドンの解読と新生ペプチド鎖の解離の仕組みは分子生物学に残された難問のひとつである。細菌、酵母、動物細胞を材料として、それらの分子機構を解明する。

æ,, リコーディング機構の研究

終止コドンは変則的な解読（フレームシフト、セレノシステイン、ジャンプ）をプログラムする部位として翻訳研究の新しいパラダイム（“Recoding: reprogrammed genetic decoding”）を形成しつつあり、我々も酵母と動物細胞を用いてリコーディング機構を研究している。

æ", 分子擬態の研究

蛋白質とRNAの分子擬態は生物学に新しい概念を提唱した。その構築原理を明らかにし、新たな機能性擬態分子の創成を目指す。

æ», RNA工医学

試験管内人工進化法（SELEX）を用いて生理活性物質に特異的に結合するRNA分子（アプタマー）を作成し、RNA製医薬品への応用を計る。

æ... プリオン蛋白質の研究

酵母の翻訳終結因子のひとつが、動物プリオンと同じ性質を示す。この酵母プリオンの基本特性や機能を明らかにし、プリオン病の研究に役立てる。

æ%, X線結晶構造解析

蛋白質とRNAの分子擬態を立体構造レベルで明らかにする。

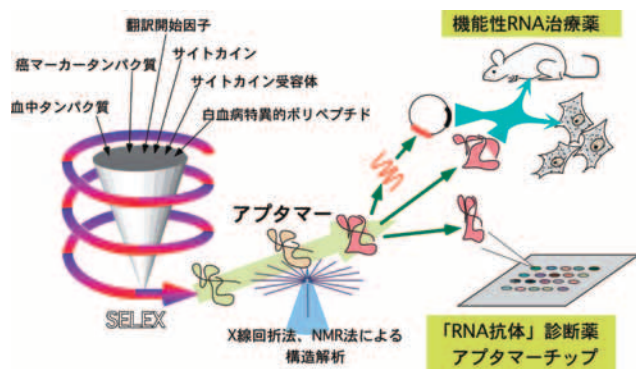


図1 人工進化RNA戦略。SELEX法を利用して標的タンパク質に特異的かつ強く結合する親和性RNA分子（アプタマー）を作成し、分子擬態の検証と創薬を目指す。

Fig. 1 In Vitro Evolution of Affinity RNAs. High affinity RNAs against target molecules are created by SELEX in order to a) develop novel RNA medicines and b) prove the molecular mimicry model.

Regulation of gene expression is a main interest in this Department. Over the past decade, molecular and cellular studies of living organisms carried out in many laboratories resulted in the identification of genes, factors and signals involved in the processing, modification, splicing, translation, transport or editing of mRNAs, and uncovered numerous novel mechanisms of gene expression. These accomplishments clearly emphasized the biological importance and interest of the regulatory role of RNA and the mechanisms underlying the post transcriptional control of gene expression. We aim to clarify these molecular bases from novel aspects in translational control as well as the fate of RNA.

æ, Translation termination.

The mechanism of stop codon recognition has been a long standing coding problem and is of considerable interest since it entails protein RNA recognition rather than the well understood mRNA tRNA interaction in codon-anticodon pairing.

æ,, Translational recoding.

The stop codon often functions as a signal for “alternate genetic decoding” (referred to as “recoding”) such as seleno-cysteine incorporation, readthrough or frameshifting.

æ" Molecular mimicry between protein and RNA.

æ» Design and selection of therapeutic RNA molecules by SELEX.

æ... Yeast prion.

One of the yeast translation termination factors shares protein properties with the mammalian prion protein, and represents a fascinating problem.

æ% X ray crystallography to investigate molecular mimicry.

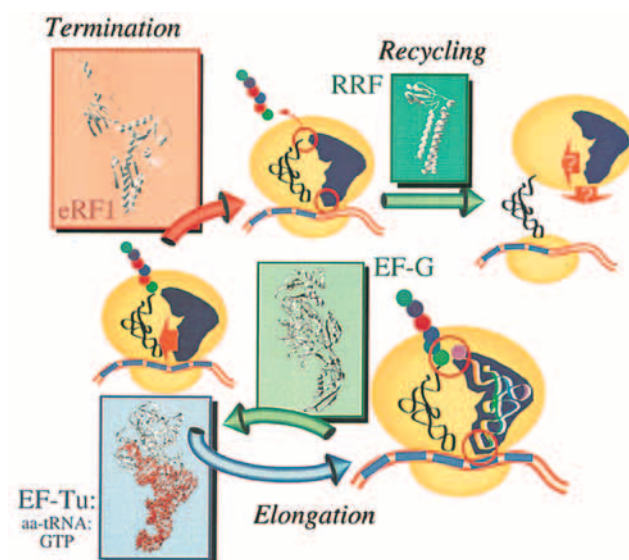


図2 tRNAを擬態する翻訳因子。高度好熱菌のリボソーム再生因子（RRF）の構造は我々の研究室で解明された。各翻訳因子は、見かけはtRNAに似ているが、作用の内容は異なる。

Fig. 2 Crystal structures of translation factors that mimic tRNA and their working steps during protein synthesis. The crystal structure of *Thermus thermophilus* RRF was solved in this laboratory. Arrows and circles mean the target or the site of action (Nakamura et al. *Cell* 101, 349-352, 2000).

助教授

理学博士 大海 忍

Associate Professor: Shinobu Imajoh Ohmi, D. Sc.

高次細胞機能をタンパク質分子の構造変化や動態に基づいて理解することを目指している。

æ, 細胞死にかかわるプロテアーゼに関する研究

アポトーシスの情報伝達にはカスパーゼ群をはじめとする種々のプロテアーゼがかかわっている。これらのタンパク質分解系の相互作用に焦点をあて横断的解析を中心に研究を進めている。特に、活性型カスパーゼ、あるいは標的タンパク質が限定分解を受けて生じたポリペプチドに対する切断部位特異抗体を作成し、細胞レベルでのプロテオリシスを解析している(図1)。また、自発的アポトーシスを呈する好中球ではアクチンが特異なプロテオリシスを受ける。好中球におけるアクチン分解と細胞死および形態変化との関係を調べている。

æ,, 合成ペプチドを活用した新しい細胞生化学的手法とプロテオミクス方法論の開発研究

タンパク質の翻訳後修飾や構造変化を細胞レベルで解析するために、合成ペプチドを利用して特殊抗体を作成している。切断部位特異抗体はプロテアーゼで限定分解された断片を、リン酸化部位特異抗体はリン酸化を受けたタンパク質を特異的に認識する。これらの抗ペプチド抗体を用いて細胞ごとの生化学反応を可視化することができる(図1)。最近、切断部位特異抗体をプロテオーム解析(図2)に活用することやペプチドを使ってタンパク質の構造変化や構造機能相関を推定することも試みている。

æ" 食細胞の増殖・分化と細胞死に関する研究

単球/マクロファージ様に分化した細胞はFas抗原やリポ多糖受容体を介した細胞死に対して耐性を示す。このとき、受容体に共役するタンパク質分解酵素であるカスパーゼ8の活性化を含めて以降の連鎖反応が抑制される。サイトカインによってアポトーシス感受性が変化し、これは細胞増殖とも関わっている。耐性化の分子機構を追究している。

æ» 細菌感染に対する応答と細胞死に関する研究

赤痢菌は、感染時に宿主のマクロファージに侵入して細胞死を惹起する。細胞は分化の状態によって異なった死に方を示す。変異株を用いた解析で、赤痢菌との相互作用によって誘導される細胞死は、菌の病原性に関わらない典型的なアポトーシス型細胞死に区別されることが判明した。したがって、細菌感染時にはこれらの細胞死が拮抗していると考えられる。赤痢菌の病原性にかかわるタンパク質とアポトーシス情報伝達系宿主分子との相互作用を中心に解析を進めている。

æ... コアラボラトリー蛋白質解析室の業務

- ・質量分析計による解析(図2)
- ・ペプチド合成
- ・タンパク質調製と機能解析

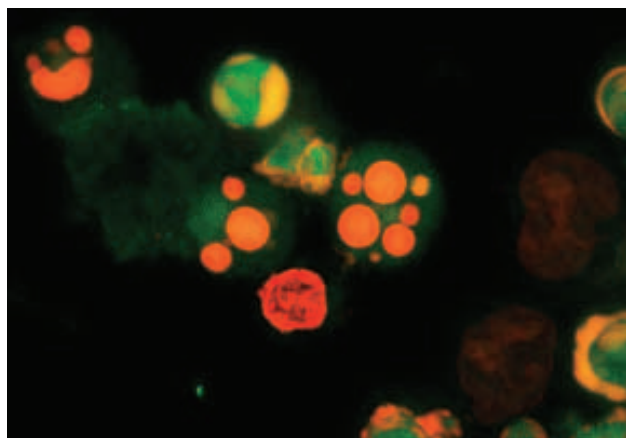


図1 細胞死を誘導したヒトT細胞Jurkatをポリ(ADP リボース)ポリメラーゼに対する切断部位特異抗体で染色した。PIによる核染色(赤色)に対してFITCで緑色に染まっているのがアポトーシス細胞。

Fig. 1 Cleavage site directed antibody against caspase 3 catalyzed poly (ADP ribose) polymerase stain apoptotic human T Jurkat cells (green). Cellular DNA is stained in red with propidium iodide.

Our major research interest is to understand cellular events on the basis of structural changes and dynamics of proteins.

æ, Various proteases such as caspases, calpain and proteasomes are involved in signal transduction for apoptotic cell death. Caspase 3/7 cleaves calpastatin, an endogenous inhibitor protein for calpain, during apoptosis. Subsequently, calpain is activated and suppresses cell death. In polymorphonuclear (PMN) leukocytes actin is cleaved by a serine protease into a 40 kDa form lacking amino terminal region essential for cytoskeletal polymerization. Proteolysis of actin in PMN apoptosis remains to be elucidated.

æ,, We have been analyzing activation of zymogens and proteolysis of substrate proteins in situ in various states of cells by means of cleavage site directed antibodies that specifically recognize a terminal region of proteolyzed polypeptides but do not bind native proteins (Fig. 1).

æ" Promyeloid cells become resistant to cytotoxic anti Fas antibodies and lipopolysaccharide after differentiation into monocyte/macrophage like cells. The differentiation may affect the cell surface expression of the apoptosis receptors, and death signaling downstream of receptor coupled protease, caspase 8 is suppressed in apoptotic response.

æ» Shigella is phagocytosed by macrophages but induces cell death of the phagocytes mobilized by innate defense system. The cell death seems to be related to host cell invading activity of bacteria as well as differentiation state of the phagocyte. Molecular mechanism of the infection induced cell death is under investigation in focus of interactions between cell death related proteins and bacterial factors.

æ... Services (Laboratory Center for Proteomics Research)

Mass spectrometric analyses.

Peptide synthesis.

Purification of proteins and their functional analyses.

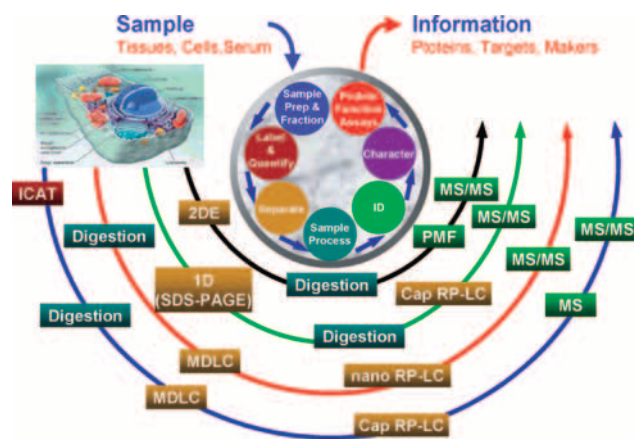


図2 プロテオーム解析の概要。

Fig. 2 Technologies for proteomics.
ICAT: Isotope Coded Affinity Tag
2DE: 2 Dimensional Electrophoresis
MDLC: Multi Dimensional Liquid Chromatography
RP LC: Reversed Phase Liquid Chromatography
PMF: Peptide Mass Fingerprinting
MS: Mass Spectrometry
MS/MS: Tandem Mass Spectrometry

助教授 医学博士 渡 辺 すみ子
助 手 工学博士 佐 藤 伸 哉

Associate Professor: Sumiko Watanabe, Ph. D.
Research Associate: Shinya Satoh, Ph. D.

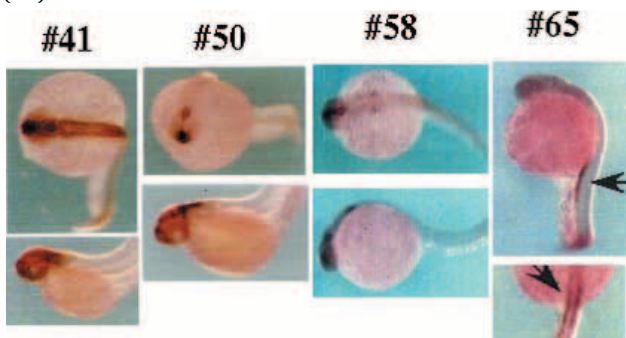
我々の研究室では血液、免疫細胞のシグナル伝達の解明、細胞分化、増殖の制御の研究業績を背景に血液、免疫細胞さらに網膜神経細胞とその幹細胞の制御について研究を行っている。モデル系として種々の遺伝子操作マウス、培養細胞、ゼブラフィッシュ等を使用し、分子細胞生物学、生化学、発生工学などの手法を駆使し、分子レベルのメカニズムから個体レベルの組織形成に至る制御機構について研究している。

具体的な研究テーマは

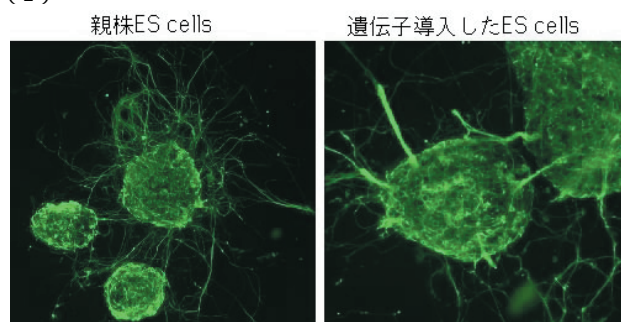
- æ, 血球、免疫細胞の発生分化における細胞系列の決定機構
- æ,, 血液幹細胞のサイトカイン受容体シグナルによる特異的増幅
- æ" マウス、ゼブラフィッシュをもちいた網膜発生機構と関連遺伝子の単離。
- æ» マウス網膜幹細胞の同定と単離、増幅
- æ... ES細胞をもちいた網膜再生、移植研究

これらの研究により幹細胞から忠実な増幅と特定の細胞系列への分化についての分子基盤を明らかにし、それらの知見をもとに幹細胞医工学や再生医学の基盤技術開発に貢献することを目指している。

(1)



(2)



図の説明

æ, 神経系に発現する新規遺伝子の単離。Differential display, degenerate PCRなどによりマウス、ゼブラフィッシュの神経網膜に特異的に発現する種々の新規の遺伝子を単離した。新規遺伝子はゼブラフィッシュで過剰発現、あるいはノックダウン実験により機能を検索し、さらにマウスに系を移してノックアウトマウスの作成を含めたさまざまな解析を行っている。図は単離された様々な新規遺伝子によるゼブラフィッシュエンブリオのwhole mount *in situ*。

æ,, 親株ES細胞と遺伝子導入したES細胞の神経系への誘導。ES細胞に網膜特異的な遺伝子を導入してフィーダー細胞上で神経系に誘導すると(SDIA法)これらは形状、遺伝子発現パターンなどがまったく異なる神経細胞に誘導される。この改変ES細胞をin vitroあるいはin vivoで網膜へ移植し、その分化能を検討している。

æ" 網膜細胞系譜の決定と幹細胞の同定、単離：未分化な網膜を様々な指標で分離しその増殖能と分化能を検討している。図はその一例で脳の神経幹細胞の指標として知られるSSEA 1が未分化網膜の辺縁部に存在していること、ほとんどのSSEA 1陽性細胞は増殖していることを示している。SSEA 1陽性細胞を単離して培養すると、他の細胞よりも強い増殖能を示すことから、SSEA 1が未分化な網膜のプロジェニター細胞の指標となることが示唆された。

Our ultimate goal is to understand molecular mechanisms underlying the signal transduction from membrane to nucleus, including induction of gene expression and DNA replication as well as the mechanisms of self renewal and differentiation into particular cell lineage and tissues of stem cells. For these purposes, we use various cell types including lymphoid, hematopoietic and neural cell lineages as well as pluripotent embryonic stem cells. We also work on mice, and zebrafish for the studies of molecular mechanisms of differentiation and development of tissues and organs.

The specific activities are as follows:

- æ, Commitment of haematopoietic and lymphoid cells to specific lineages during development
- æ,, Expansion of haematopoietic stem cells by manipulation of cytokine signals.
- æ" Development of retina in zebrafish and mouse.
- æ» Identification and isolation of mouse neural retina stem cell.
- æ... Regeneration of retina using mouse ES cells and their transplantation

Understanding basic mechanisms of cell proliferation and differentiation will help us to develop novel strategies with which to manipulate the stem cells for their amplification and differentiation into specific cell lineages.

(3)

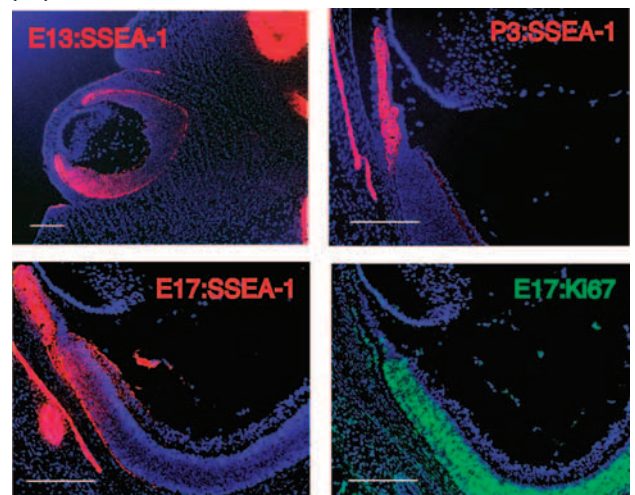


Fig. legend

æ, Isolation of novel genes expressed in retina by differential display and degenerate PCR. Whole mount *in situ* hybridization patterns of isolated genes in zebrafish embryos are shown. We usually clone zebrafish and mouse homologues simultaneously. Functions of isolated genes are analyzed by over expression or knockdown experiments in zebrafish embryos. Further detailed mechanism analyses are done using mouse system.

æ,, Neural differentiation of ES cells and their derivatives with ectopic expression of retina specific genes. Parental ES cells and modified ES cells have different morphology and gene expression patterns when they are differentiated into neural cells by SDIA method. Using these cells, we are trying to regenerate retina from ES cells. For that purpose, we established *in vitro* and *in vivo* transplantation techniques.

æ" Identification and isolation of retinal stem cell from mouse embryo: Using various markers, we examined proliferation and differentiation abilities of sub population of immature neural retina. This figure shows one of these markers, SSEA 1, which is known as a marker of neural stem cells in brain, are expressed in the ciliary marginal zone of the immature retina. SSEA 1 positive cells are proliferating and *in vitro* culture of these cells showed high proliferating activity of them, indicating that the SSEA 1 is a marker of retinal progenitor cells in the mouse.

寄付研究部門 DONATION LABORATORIES

幹細胞シグナル分子制御(アムジェン)寄付研究部門 DIVISION OF STEM CELL REGULATION (AMGEN)

客員教授 医学博士 西中村 隆 一
客員教員 医学博士 山 崎 裕 人
客員教員 理学博士 ロバート・ウィットティア

Visiting Professor: Ryuichi Nishinakamura, M. D., Ph. D.
Visiting Research Associate: Hiroto Yamazaki, M. D., Ph. D.
Visiting Research Associate: Robert Whittier, Ph. D.

我々の目的は、腎臓を中心とした臓器発生機構を分子生物学的に解明することであり、その知見を幹細胞からの分化誘導に応用していくことを目指している。

腎臓は前腎、中腎、後腎の3段階を経て形成される。哺乳類成体の腎臓(後腎)は複雑な構造を有するが、前腎は1つのネフロンからなる単純な構造であり、アフリカツメガエルでは予定外胚葉から*in vitro*で誘導できる。この系からZincフィンガー蛋白Xsal 3を、さらにマウスからSall1を単離した。Sall1ノックアウトマウスは腎臓を欠損し、Sall1が腎臓の発生に必須であることを証明した。Sall1を中心に腎臓発生の分子機構の解析を行っている。さらに腎臓再生を目指した基礎実験として、ES細胞から腎臓前駆細胞の誘導法の確立、腎臓前駆細胞の*in vitro*, *in vivo*の分化系の確立を試みている。

Our research interest is to elucidate molecular mechanisms in organogenesis, especially in kidney development. We also aim at derivation of kidney progenitors from stem cells, by utilizing knowledge obtained from molecular genetics.

The kidney develops in three stages: pronephros, mesonephros, and metanephros. Many of the genes expressed in the metanephros are also found in the pronephros. Animal caps, a presumptive ectoderm of *Xenopus* embryos at the blastula stage, differentiate into three dimensional pronephric tubules in three days *in vitro*. By utilizing this system, we identified a new zinc finger protein Xsal 3, then cloned mouse *Sall1*. We found that mice deficient in *Sall1* die in the perinatal period and that kidney agenesis or severe dysgenesis are present. Thus *Sall1* is essential for kidney development. We are currently examining molecular functions of *Sall1*. In addition we are trying to establish an induction system of kidney progenitors from a variety of cell sources, and also *in vitro* and *in vivo* assays for kidney progenitors.

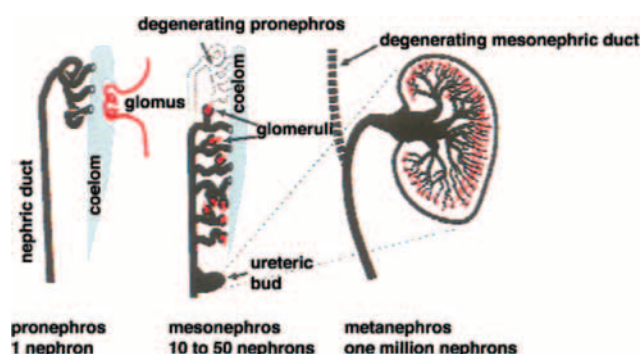


図1 腎臓の発生

腎臓の発生は前腎、中腎、後腎の3段階に分けられる。哺乳類成体の腎臓は後腎であり、尿管芽とその周囲の間葉との相互作用によって形成される。

Fig. 1 Kidney development

Kidney development is divided in three stages: pronephros, mesonephros, and metanephros. Metanephros is a final kidney in mammalian adults and is formed through interaction between ureteric buds and the surrounding mesenchyme.

Wild type Sall1 KO

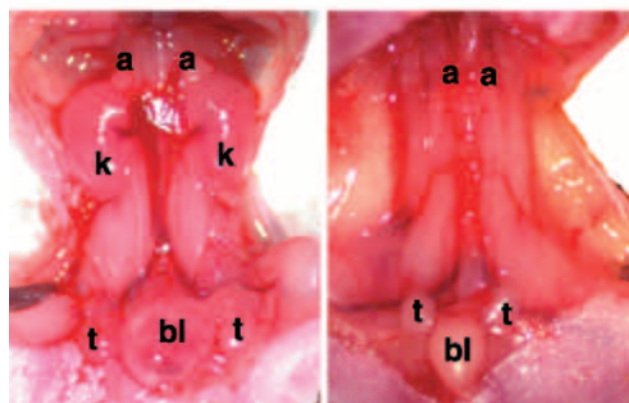


図2 Sall1 ノックアウトマウスにおける腎臓欠損
Sall1 ノックアウトマウスは腎臓を欠失し、全例が生直後に死亡する。後腎発生初期で発生が障害されている。

Fig. 2 The absence of kidneys in Sall1 knockout mice
Sall1 null mice lack kidneys and die shortly after birth. Sall1 is essential for the initial step of metanephros formation.
k: kidney, a: adrenal glands, t: testis, bl: urinary bladder

細胞プロセッシング(CERES) 寄付研究部門

DIVISION OF CELL PROCESSING (CERES)

客員教授 理学博士 高橋 恒 夫

Visiting Professor: Tsuneo A. Takahashi, D. Sc

細胞プロセッシング研究部門は、医科学研究所における細胞治療や遺伝子治療を促進する目的で、1995年9月に開設された。当部門が中心となり1997年9月に東京脐帯血バンクを設立し、脐帯血の細胞分離・凍結・保存にあたり、さらに品質管理のためにISO 9001を取得維持している。一方、海外からの要望に応え国際バンクネットワークの一つであるNETCORD, AsiaCORDの設立に積極的に関与している。研究部門の活動では、樹状細胞研究を進め、医科学研究所を支援している。また脐帯血移植の成績向上のため、脐帯血免疫細胞の増殖、脐帯血造血幹細胞の生着促進や脐帯血移植後の免疫再構築に関する研究を行っている。また新たな間葉系細胞ソースとして入手が安全に行われる脐帯・胎盤に注目し特に骨、軟骨、神経等への分化誘導研究や間葉系細胞と脐帯血幹細胞との共培養による増殖にも取り組んでいる。

・脐帯血バンクの品質管理と国際化

東京脐帯血バンクは、「脐帯血移植のための技術指針（厚生省脐帯血検討会）」および国際脐帯血ネットワークであるFACHT/NETCORDに基づいて細胞処理を行っている。これらの基準の維持管理システムとして我々は国際規格2001年3月に国内初、世界で2番目にNETCORDおよびBMDWに登録し海外からの検索に貢献している。これまで数々の利点を見出している。2004年4月までに、当該施設は保存数約5,400unitsに達し、脐帯血出庫数も順調に伸び、2004年4月までに272unitsの脐帯血を出庫している。また国際間の移植依頼もあり、国際レベルでのバンク協力体制も確立してきた。現在、東京脐帯血バンク医科学分より約3,150UnitをNETCORDおよびBMDWに登録し海外からの検索に貢献している。また2001年7月、アジア諸国とともにAsiaCORDの設立にも貢献し、アジアにおけるドナー検索の迅速化を進めている。こうしたネットワークを通じて海外へ10Unitを出庫してきた。また現時点では、成人での脐帯血移植は小児同様の成績を示しており、特に成人におけるバンク側からの脐帯血移植の予後因子の解析報告は移植医への脐帯血選択の基準を提供している。さらに2003年からはこれまでの結果を踏まえ白血病細胞株、特にこれまでの検討でNK細胞による細胞傷害活性Ph1陽性ALL株にてNKとT細胞の共同効果の誘導について検討する。

・脐帯血免疫細胞の増殖と活性化

脐帯血移植では生着不全や再発に対して、移植に伴う免疫担当細胞の制御が重要な課題である。CTLと異なり、NK細胞/NKT細胞はHLA非拘束性細胞傷害活性を有し、HLA不一致の脐帯血移植においてこれらの増殖と活性化はCTLとともにGVL反応に貢献するものと期待される。これまで我々は、脐帯血単核球よりIL15とFlt3Lを用いて増殖活性化を行い、IL15の濃度依存性のNK/T commitmentに関する新規見解を報告した。さらに2003年からはこれまでの結果を踏まえ白血病細胞株、特にこれまでの検討でNK細胞による細胞傷害活性Ph1陽性ALL株にてNKとT細胞の共同効果の誘導について検討する。

・間葉系細胞との共培養による脐帯血幹細胞の増殖

我々は、サイトカイン(SCF, Flt3L, IL3)存在下、胎盤絨毛由来(胎児)間葉系細胞をfeederとした脐帯血由来CD34陽性細胞の増殖を検討し、in vitroにおいて間葉系細胞との共培養はサイトカインのみの系に比し有意にCD34陽性細胞、特にCD34+CD38-細胞の増殖率が上がることがわかった。現在in vivoでの検討を行っている。

・脐帯血由来造血幹細胞におけるhoming関連分子の解析と骨髄内脐帯血移植

我々は、脐帯血造血幹細胞の骨髄へのhomingに関する分子群を解析し、脐帯血移植後の生着を促進する研究を進めている。脐帯血、G-CSF動員末梢血、および骨髄由来のCD34+細胞におけるhoming関連分子の発現の発現の検討ならびにstem cell factor(SCF)によるhomingについてNOD.SCIDマウスの実験結果を含めて報告した。さらに、脐帯血由来造血幹細胞のhomingを物理的に促進する目的で、同マウスの右腔骨髄内へ骨髄内脐帯血移植の検討も行っている。

・脐帯血移植後の免疫再構築の解析

脐帯血移植では、同種骨髄移植に比べてサイトメガロウイルス(CMV)などの感染症を起こしやすく、HLA抗原不一致にもかかわらずGVHDの発症頻度が低い。しかし移植後の免疫学的再構築に関して、特に成人における報告はない。われわれは移植後の少量(2ml以下)の検体からT/NK(Monocyte/B cell)の回復についてbead法での測定の開発と回復過程を系統的にモニターしている。末梢血単核球より脐帯血移植後のCMV特異的T細胞の検出、末梢血T細胞のnaïve/effector/memory phenotype、perforin発現、およびサイトカイン産生を解析し、脐帯血移植における易感染性と相関、GVL反応/GVHD病態形成との関連について研究を進めている。

・脐帯血単球由来樹状細胞の機能解析

我々は先端診療部とともに、自己末梢血単球から誘導した樹状細胞(PBMo DCs)を用いて、悪性黒色腫(10例)と甲状腺癌患者(5例)の樹状細胞療法を行い第1相臨床試験が終了した。

一方我々は、脐帯血単球由来樹状細胞(CBMo DCs)にも着目し、CBMo DCsとPBMo DCsの機能を比較検討した。未成熟CBMo DCsはPBMo DCsとほぼ同様の食細胞、遊走能を示し、CBMo DCsはPBMo DCsと同様に高い抗原提示能を持つと考えられ、移植後ウイルス感染症に対するワクチン療法などへの利用が期待される。

・ヒト胎盤由来間葉系前駆細胞の単離および同定

我々は胎盤を用い胎児細胞の絨毛からexplant cultureにより間葉系前駆細胞(PDMPs)の単離法を確立した。PDMPsは多様な細胞集団で、紡錘状および扁平な細胞形態から成り、その細胞集団の細胞表面抗原はCD13, CD44, CD73, CD90, CD105およびHLA class Iを発現していたが、CD31, CD34, CD45およびHLA DRは発現していなかった。これらの細胞は培養系で骨、軟骨、脂肪および神経系細胞に分化誘導可能であり、それ故、PDMPsは細胞治療や組織工学に利用可能な細胞ソースであると考えられた。現在、我々は動物モデルでのPDMPsの骨および軟骨形成能を検討している。また、PDMPsから分化した神経系細胞が機能的な神経細胞にも分化誘導可能かを検討するために、細胞内カルシウム流入について解析している。

一方、PDMPsは培養系で分裂能力に限りがあり有寿命であるためクローナル解析が困難である。そこで、我々はPDMPsを不死化させるために、レンチウイルスベクターを用い、ink 4aによりコードされたp16腫瘍抑制遺伝子を抑制するBmi 1遺伝子および細胞分裂に伴うテロメア短縮を阻止するための酵素であるテロメラーゼ逆転写酵素遺伝子(TERT)をPDMPsに導入した。我々はBmi 1およびTERT遺伝子を導入したPDMPsから数十のクローンを作製し分化能について解析している。

Division of Cell Processing was established in IMSUT on September 1995 to support the clinic through cell therapy. This division established Tokyo Cord Blood Bank on September 1997, since then, we have processed and cryopreserved the cord blood to ship for the patients who undergo cord blood transplantation (CBT). This department has also supporting the clinical departments through dendritic cell therapy for patients with malignancies. In the experimental part, expansion of hematopoietic stem cells including CD34+ cells, NK/T cell progenitors with or without the placenta derived mesenchymal cell. And we also established the induction of mesenchymal cells derived from placenta into tissue regeneration including bone, adipocyte, cartilage and neural cells. Quality management and internationalization of cord blood bank.

Tokyo Cord Blood Bank (Tokyo CBB) has been established in September 1997. Tokyo CBB had its management and process based on two standards; Guidelines for The Practice of Umbilical Cord Blood Transplantation (Ministry of Health, Labor and Welfare) and FACHT NetCord standards developed by the international cord blood bank network. In order to keep these standards, we adopted the international quality management system, International Organization for Standards (ISO) 9002. We got certified as ISO 9002 in March 2001 and revised ISO9001: 2000 in 2003 May. Tokyo CBB has registered 3,300 units of CB in NetCord and Bone Marrow Donor World Wide (BMDW) by April 2004, and shipped 272 units including 10 units to foreign countries. We have established AsiaCORD to get more advantage to search the appropriate donor in Asia in July 2001. In relation to AsiaCORD, we supported to establish the first national CB bank in Vietnam.

Functional characterization of cord blood monocyte derived dendritic cells.

We used autologous monocyte derived dendritic cells (PBMo DCs) as tumor vaccine for patients with malignant melanoma and thyroid carcinoma (Phase I Clinical Trial of DC Therapy).

On the other hand, we compared functional characteristics of cord blood monocyte derived DCs (CBMo DCs) and PBMo DCs. Immature CBMo DCs had almost the same capacity of endocytosis and chemotactic migratory responses as immature PBMo DCs. Cytokine mRNA levels revealed that both immature CBMo and PBMo DCs stimulated by LPS produced IFN γ , GM-CSF, IL-6 and IL-12 p40. These results suggested that CBMo DCs appear to function as well as PBMo DCs and possibly to be an acceptable source for DC therapy.

Activation and expansion of NK cells, T cells and NKT cells in cord blood.

Unlike cytotoxic T cell, NK cells and NKT cells are known as non HLA restricted, non tumor specific cytotoxic activity. Expansion and activation of NK cells and NKT cells might greatly contribute to GVL/T effects and engraftment after stem cell transplantation. We have studied the effect of IL-15 and Flt3L on the expansion and activation of NK and T cell. These expanded cells expressed perforin molecules, and cytotoxic activity against K562 was also recognized, which was inhibited by perforin inhibitor. These results indicated that CB derived NK cells and NKT cells may contribute to the clinical use for anti leukemia therapy.

Ex vivo manipulation of cord blood derived stem cells to enhance the expression levels of homing related molecules and intra bone marrow injection of cord blood cells to facilitate the engraftment of cord blood cells

We compared the expression levels of the homing related molecules on CB, mobilized peripheral blood (mPB) and bone marrow (BM) derived CD34+ cells using four color FACS analysis. Significantly lower expressions of CD49e, CD49f, CD54 and CXCR 4 on CB derived CD34+ cells were observed compared with those of mPB, and BM derived CD34+ cells. Ex vivo manipulation of cord blood cells with human stem cell factor (SCF) resulted in the enhanced expression levels of these molecules and engraftment of human blood cells in NOD.SCID mouse. To overcome the physical obstacle for engraftment of stem cells, we have been studying the intra bone marrow injection of cord blood cells using NOD.SCID mouse.

Analysis of immune reconstitution post cord blood transplantation

Several researchers reported that cytomegalovirus (CMV) infection frequently occurred in recipients post umbilical cord blood transplantation (CBT). We analyzed the CMV specific T cells using intracellular IFN γ staining post CMV antigen stimulation in recipients post CBT and bone marrow transplantation (BMT). Every CBT recipients developed CMV antigenemia and were treated with anti viral drug (DHPG). However, they did not have any clinical symptoms caused by CMV infections. CMV specific CD4+ T cells were detected around day 35 in most recipients. However, CMV specific CD8+ T cells were not detected in CBT recipients around day 30. The major population of these CMV specific CD8+ T cells belonged to CD45RA CD62L phenotype (immature effector). Taken together, the quick establishment of CMV specific CD4+ T cells might play an important role in controlling CMV infection and blocked the progression to CMV diseases in CBT recipients. We analyzed Th1/Th2 balance, Tc1/Tc2 balance, and perforin expression among T cells post transplantation. We found that CD8+ T cells showed large amount of IFN γ production and high expression level of perforin molecules around day 30 to 60 post cord blood transplantation. These findings suggested that cytotoxic CD8+ T cell activity is very strong during early stage of CBT. However, these CD8+ T cells had immature surface phenotype, CD45RA CD62L+ (central memory) and CD45RA CD62L- (immature effectors). This discrepancy between high expression level of killing related molecules and immature surface markers of CD8+ T cells post CBT might be one of the reasons why equal levels of GVL reaction occur despite of lower incidence of acute graft versus host disease post CBT compared with post BMT.

Isolation and characterization of multipotent mesenchymal progenitor cells from human placenta

We established a method of isolating mesenchymal progenitor cells (MPCs) from chorionic villi of the fetal part of the full term human placenta and the characteristics of these cells. Placenta derived mesenchymal progenitor cells (PDMPs) isolated by the explant culture method consisted of a heterogeneous cell population including spindle shaped cells and large flat cells. The PDMPs expressed CD13, CD44, CD73, CD90, CD105 and HLA class I as surface epitopes, but did not CD31, CD34, CD45 and HLA DR. Under specific induction conditions, these cells differentiated into osteoblasts, chondrocytes, adipocytes and neural cells. PDMPs may thus be considered as one of the possible sources of MPCs that can be used for cell therapies and tissue engineering. We are investigating the ability of bone or cartilage formation of PDMPs in vivo and the influx of calcium ion into neural cells differentiated from PDMPs such as a response characteristic of neuron.

On the other hand, PDMPs have a limited replicative life span when serially passaged in culture. It is difficult for us to investigate clonal analysis of PDMPs. To establish immortal PDMPs, we transduced PDMPs with cDNA encoding Bmi 1, which downregulates the p16 tumor suppressor genes encoded by the ink 4a locus and/or telomerase catalytic component (TERT), which prevents the progressive shortening of telomeres that occurs as the number of cell divisions augments, by lentiviral vector. We examine to isolate clones from these cells and analyze the differentiation ability of clones.

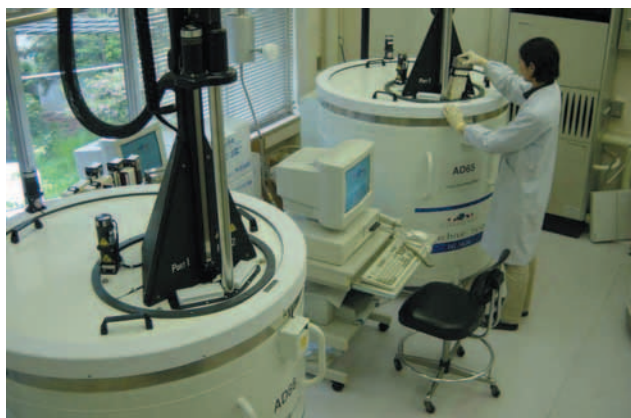


図 1
脐帯血凍結保存のためのバイオアーカイブシステム

Fig. 1
BioArchive System for cryopreservation of cord blood samples



図 2
臨床細胞工芸室での脐帯血プロセッシング

Fig. 2
Cord blood processing in the Room for Clinical Cellular Technology.

客員助教授 医学博士 野 阪 哲 哉
 客員教員 医学博士 尾 崎 勝 俊
 客員教員 薬学博士 熊 谷 英 敏

Visiting Associate Professor: Tetsuya Nosaka, M. D., D. M. Sc.
 Visiting Research Associate: Katsutoshi Ozaki, M. D., D. M. Sc.
 Visiting Research Associate: Hidetoshi Kumagai, Ph. D.

本研究部は、平成8年9月に開設された臨床プロジェクト推進のための研究部である。その役割を果たすために、効率の良いレトロウイルスによる発現スクリーニング法を利用した基礎実験を行なうと同時に、その結果を臨床の場にも応用できるような方向での研究も目指している。また、レトロウイルスベクターおよびパッケイジング細胞の改良も行ない、基礎的研究に基づく新しい遺伝子治療/細胞療法/分子標的療法を開発することも目的の一つである。具体的な研究テーマは以下のとおりである。

æ, 新しいサイトカインcDNAのクローニング

本研究部で開発したレトロウイルスによるシグナルシーケンストラップ法(SST REX)などを利用して、種々の組織から未知のサイトカインをクローニングすることを目指している。なかでも造血幹細胞を増やすことができるサイトカインのcDNAがクローニングできれば、血液学研究のブレークスルーになるばかりではなく、臨床的にも大きな意味がある。

æ,, 恒常的活性型シグナル伝達分子の同定および解析

PCRで任意突然変異を導入したシグナル伝達分子をレトロウイルスベクターにより適当な細胞内で発現させ、その遺伝子産物の機能変化を指標にスクリーニングすることによって、恒常的活性化を引き起こす突然変異を同定するという方法で、サイトカインレセプターMPLや転写因子STAT5の活性型変異を同定した。恒常的活性型STAT5の解析を通じて、STAT5が種々の標的遺伝子の発現を調節することにより、増殖・分化・細胞死など多彩な生物活性を発揮することを明らかにした。

æ'', 効率のよいレトロウイルス発現系の開発

レトロウイルスベクターpMXおよび高効率パッケイジング細胞Plat EとPlat Aを開発し、初代培養系細胞を含む多くの細胞に効率の良い遺伝子導入を可能にした。

æ>, レトロウイルス発現系によるその他の研究

レトロウイルスによる発現クローニング法によって、増殖・分化関連遺伝子、オンコジンの同定および解析を行なっている。最近我々が同定したMgcRacGAPは細胞質分裂に関与することが明らかになった。

æ..., ヒト疾患モデルマウスの作成

SST REXにより単離されたTSG遺伝子のジーンターゲットングにより侏儒症免疫不全マウスを作成した。他に染色体転座によって生じるヒト白血病のモデルマウスをレトロウイルスを用いた遺伝子導入細胞の骨髄移植により作成した。

æ%, 白血病細胞に対する分子標的療法の開発

低分子化合物ライブラリーをスクリーニングすることにより、急性骨髄性白血病の約30%においてみられる受容体型チロシンキナーゼFLT3の傍膜領域の重複変異に対する特異的阻害剤を開発した。

Our department was established in September, 1996. One of the goals of the department is aimed at the application of molecular biology in clinical projects. Currently, we run several basic research programs based on retrovirus mediated gene transfer, and expect to apply some of the results to clinical fields. We have established our own retrovirus vectors and efficient packaging cells, and plan to develop novel strategies in gene therapy, cell therapy and molecular based medicine. To achieve these goals, we are running the following projects.

æ, Cloning of cDNAs for novel cytokines.

Using a signal sequence trap method SST REX which we established based on retrovirus mediated gene transfer, we cloned several new cytokine receptors and cytokines, and are characterizing them. Identification of cytokines which can induce self renewal of hematopoietic stem cells would be of a great importance both in basic and clinical hematology/oncology.

æ,, Identification of constitutively active forms of signaling molecules.

Our strategy is to introduce random mutations into cDNAs of interest followed by screening for factor independence of IL 3 dependent cells. By this method, we identified activating forms of a cytokine receptor MPL and a transcription factor STAT5.

æ'', Development of efficient retrovirus packaging cell lines Plat E and Plat A.

We previously developed a series of retrovirus vectors, and have recently developed highly efficient packaging lines Plat E and Plat A which enable us to transfer genes to a variety of cells including primary culture cells.

æ>, Other researches based on retrovirus mediated gene transfer.

Using retrovirus mediated expression cloning, we have identified and characterized a molecule MgcRacGAP which controls cell proliferation and differentiation. Recently we have revealed that MgcRacGAP is involved in cytokinesis.

æ..., Generation of animal models for human diseases.

We generated the mice displaying dwarfism and lymphoid deficiency by gene targeting of TSG that was isolated by SST REX. We have also made model mice of human leukemia caused by chromosomal translocations by bone marrow transplantation after retroviral gene transfer.

æ%, Development of molecularly targeted therapy against leukemic cells.

By screening of a library of small molecular compounds, we identified a specific kinase inhibitor for the internal tandem duplication mutations of FLT3 that are found in 30% of patients with acute myeloid leukemia.

特任助教授 医学博士 山下 孝之
客員教員 理学博士 小田 司

Visiting Associate Professor: Takayuki Yamashita, M. D., Ph. D.
Visiting Research Associate: Tsukasa Oda, Ph. D.

近年、ゲノム不安定性や高発癌を特徴とする遺伝疾患の遺伝子が相次いで同定され、DNA修復・組換えや細胞周期の制御によりゲノムの安定性を維持する分子機構の理解が飛躍的に進んでいる。これらの機構の異常は、癌ばかりでなく、免疫不全、神経疾患、老化と密接に関係する。私達の目的は、造血疾患（再生不良性貧血、骨髓異形成症候群、骨髓性白血病など）の発症と進展に関与する遺伝因子を、特にゲノム安定化機構の異常との関連に焦点をあてて明らかにし、これに基づいた新しい診断法を開発することである。

このような問題へのアプローチとして、私達は「Fanconi貧血（FA）」という遺伝疾患について研究を行っている。この疾患は、小児期に再生不良性貧血（造血幹細胞の増殖不全）を発症し、さらに骨髓異形成症候群（造血細胞の分化異常とapoptosisの亢進）や骨髓性白血病に高率に進展する。また、骨格系などに先天奇形をしばしば合併し、固形腫瘍の頻度が高い。細胞は染色体不安定性を示し、特にDNA架橋剤に対して感受性が高い。遺伝的に異なる11群に分類され、今日までにこれらに対応する8個の原因遺伝子が同定されている。このうちFANCA, C, E, F, G, Lは核内で複合体を形成し、これに依存してFANCD2がユビキチン化により活性化される。活性型FANCD2は乳癌感受性遺伝子BRCA1蛋白複合体と相互作用する。さらに、BRCA2の変異もFAの原因となることも最近わかった（図）。BRCA1, 2は遺伝子相同組み換えによるDNA修復に関与しており、FA分子経路はこのDNA修復機構を制御していることが考えられる。FAは造血幹細胞の早期老化を特徴とする疾患と考えられる。我々は、このFA分子経路の機構を明らかにすることにより、造血疾患の本質を理解し、臨床に有用な新しい疾患マーカーを同定することを目指している。

As an increasing number of genes for hereditary diseases characterized by genomic instability and cancer predisposition have been identified, remarkable advances have been made in understanding the molecular mechanisms which maintain the integrity of genome through genetic repair and recombination and control of cell cycle. Defects in these mechanisms are closely associated with neoplasm, immune deficiency, neuronal diseases and senescence. Our purpose is to identify genetic factors for hematopoietic diseases such as aplastic anemia, myelodysplastic syndrome and myeloid leukemia and to develop a novel diagnostics, focusing on the role of genomic instability in the pathogenesis of these diseases.

To approach this problem, we study on a hereditary disease, “Fanconi anemia (FA)”. FA is characterized by aplastic anemia (growth arrest of hematopoietic stem cells), which often progresses to myelodysplastic syndrome (abnormal differentiation and increased apoptosis of hematopoietic cells) and myeloid leukemia, congenital anomalies such as skeletal defects, and high incidence of solid tumors. Cells from patients show chromosomal instability and hypersensitivity to DNA cross linking agents. There are at least 11 genetically distinct groups. To date, eight FA genes have been identified. 6 FA proteins, FANCA, C, E, F, G and L form a nuclear multiprotein complex, which is required for activation of FANCD2 into a ubiquitinated form (the FA pathway). This active form of FANCD2 interacts with the BRCA1 machinery. Furthermore, biallelic mutations of BRCA2 cause a clinical phenotype of FA (Fig.). Since BRCA1 and 2 are involved in homologous recombination repair, it is conceivable that the FA pathway regulates this DNA repair mechanism. FA can be defined as a disorder characterized by premature senescence of hematopoietic stem cells. We are trying to clarify the regulatory mechanisms and the function of this pathway, to better understand the pathogenesis of the hematopoietic diseases, and to identify novel disease markers which are clinically useful.

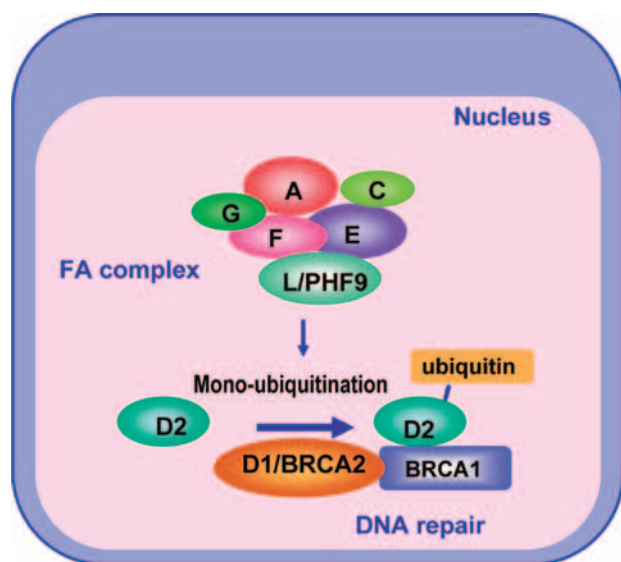


図 Fanconi貧血蛋白とBRCA蛋白が形成する分子経路のモデル；FANCA, C, E, F, G, Lが核内で複合体を形成する。FANCLはユビキチン・リガーゼであり、この複合体形成に依存して、DNA損傷あるいはDNA複製時にFANCD2をユビキチン化し活性化する。活性型FANCD2はBRCA1を含むDNA修復機構と相互作用する。これに一致して、BRCA2の両方のアレルに変異を持つ患者は重症型のFAの原因となることが判明した。

Fig. Model of the Fanconi anemia/BRCA pathway; FANCA, C, E, F, G and L assemble into a nuclear complex. FANCL encodes a novel ubiquitin ligase, which mediates DNA damage/replication triggered mono ubiquitination of FANCD2 into an active form. This active form of FANCD2 interacts with the DNA repair machinery involving BRCA1. Consistently, biallelic mutations of BRCA2 proved to cause a severe clinical phenotype of FA.

客員助教授 医学博士 井ノ上 逸 朗
客員教員 理学博士 田 嶋 敦

Visiting Associate Professor: Ituro Inoue, M. D.

Visiting Research Associate: Atsushi Tajima, D. Sc.

ゲノム情報応用診断はまず「原因を診断する」ということを目的とし、Common Disease (ありふれた疾患) の感受性遺伝子同定を研究の柱としている。人それぞれのゲノム情報の違いを調べるにより、病気に罹りやすいかどうか診断および予防、病気に進展を予測する、薬剤の選択、投与量の決定、その人にあった栄養指導などをおこなう、オーダーメイド医療を目指す。

ヒトゲノム情報解読に伴いポストシーケンス時代にはいり、ゲノム解析の重要性は増す一方であり、疾患遺伝子同定が加速されると期待される。高血圧、喘息といったCommon Diseaseは遺伝要因の関与が指摘されているものの、関連遺伝子の同定は困難をきわめている。疾患メカニズム解明のためには、関連遺伝子の同定は必須であり、治療法の開発を考えるうえでも重要である。本分野では、気管支喘息、本態性高血圧、脳動脈瘤、後縦靱帯骨化症などについて、罹患同胞対連鎖解析、ハプロタイプ解析、SNP関連解析、連鎖不平衡解析などにより、疾患感受性遺伝子同定を試みている。また集団の連鎖不平衡解析により、日本人はもとより、さまざまな集団の進化的成り立ちについても研究をおこなっている。

Our laboratory is aiming to identify susceptibility genes for common or otherwise clinically relevant diseases of metabolism such as diabetes, asthma, and hypertension, and analyze the molecular causality. Although genetic and environmental factors play equally crucial roles in the pathogenesis of the common diseases of civilization, genetic factor is directly involved in the causality and molecular mechanism. The elucidation of molecular etiology provides specific molecular targets for therapeutic drugs even at the individual level. Thus our priority is analysis of the molecular causality of the common metabolic disorders of civilization. We will identify individual and group polymorphisms in the genome relevant to the treatment of individual patients closely related to susceptibility to disease, prognosis of disease, and responses to drugs. Our laboratory should establish personalized medicine in which prevention, diagnosis, prognosis, and treatment of a patient is determined by the patient's individualized genomic information.

Diseases of our current interests are asthma, essential hypertension, subarachnoid hemorrhage (intracranial aneurysm), and ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. To determine the genetic susceptibilities we apply genetic approaches such as linkage studies with affected sib pairs and association studies using SNPs database together with haplotype analysis.

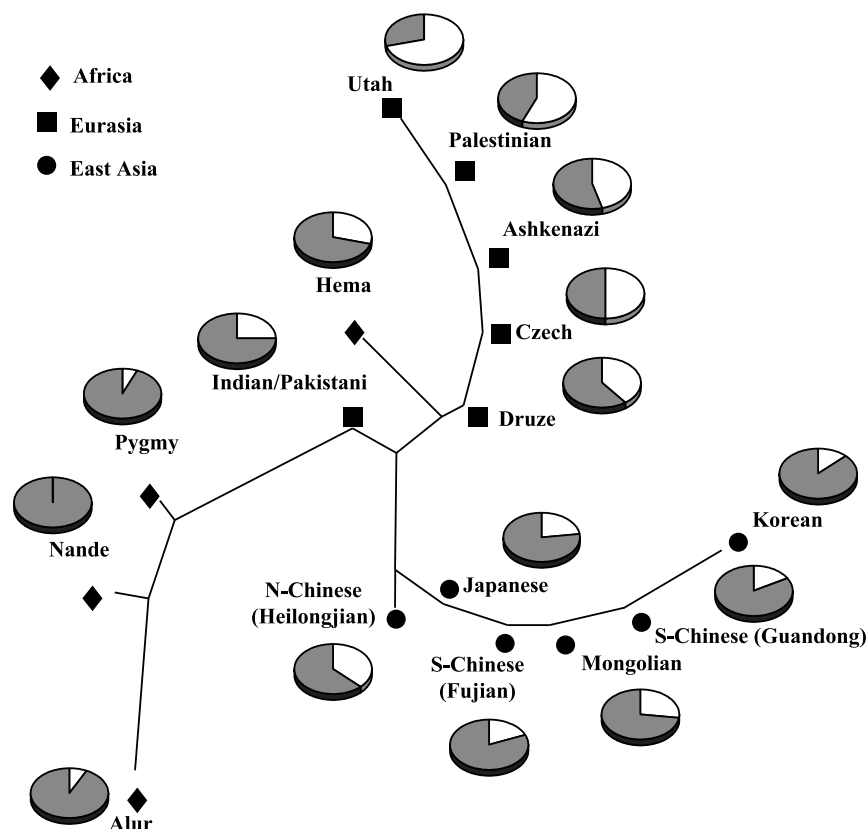


図 アフリカ、ユーラシアにおける各集団でのAGT系統樹

客員教授 理学博士 磯 辺 俊 明
客員助教授 理学博士 泉 友 則
客員教員 医学博士 長 野 光 司

Visiting Professor: Toshiaki Isobe, Ph. D.
Visiting Associate Professor: Tomonori Izumi, Ph. D.
Visiting Research Associate: Kohji Nagano, Ph. D.

細胞の機能を分子のレベルで解明する方法のひとつはタンパク質の発現と動態、相互作用の全体を大規模に解析することです。現在、これらの目的にはマイクロアレイを利用した遺伝子発現プロファイル解析や、酵母2ハイブリッド系によるタンパク質相互作用解析などが行われています。プロテオミクス研究では細胞や組織に存在するタンパク質を直接分析することで、タンパク質の発現と相互作用のダイナミズムを解析します。

典型的なプロテオミクス研究では、さまざまな刺激に対する細胞応答や疾病にともなうタンパク質の発現変動を大規模に解析します。また、細胞機能を演出するタンパク質の複合体や細胞膜上の機能ドメイン、あるいは細胞内小器官を構成するタンパク質成分を大量に同定し、その動態を解析することで、細胞機能を支える基本的なメカニズムを解析します。当研究部門では液体クロマトグラフィー(LC)と質量分析法(MS)をオンラインで組み合わせた最先端技術によって胚性幹細胞(ES細胞)についての機能プロテオミクス研究を進めています。

æ, マウスES細胞タンパク質の大規模解析: これまでに約2,000種類のタンパク質を同定し、機能情報や局在情報を付加したES細胞タンパク質カタログを作成しました。

æ,, 細胞表面タンパク質の選択的プロファイリング: サイトカインや増殖因子の受容体など、細胞表面に低レベルで発現しているタンパク質の大規模選択的解析法を開発し、未分化ES細胞で発現している多数の受容体、トランスポーター、接着分子などを同定しました。

æ" 細胞タンパク質の変動解析: 安定同位体ラベルとLC MSを利用した相対定量法により、ES細胞の分化にともなうタンパク質発現の変化を大規模に解析します。

このような大規模タンパク質発現情報に基づいて、未知分子を含む様々なタンパク質の機能解析やES細胞の未分化維持や多分化能における役割解明を進めて行きます。

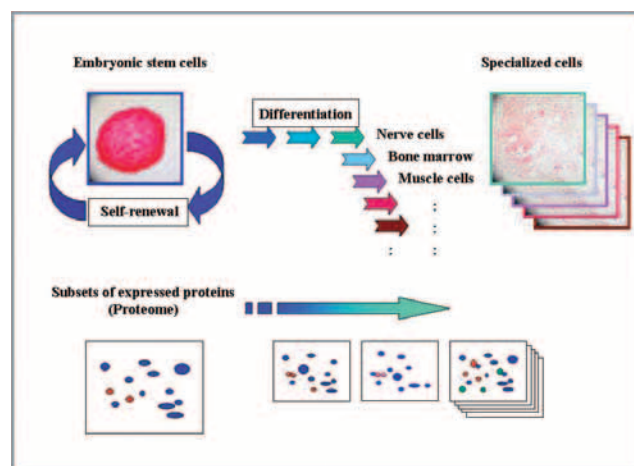


図 1 ES細胞の分化にともなう発現タンパク質サブセット(プロテオーム)の変化

Fig. 1 Change of protein subsets during differentiation of ES cells into specialized cells.

One of the major ways to elucidate cell function at the molecular level is a large scale analysis of the expression and interactions of proteins. Current methods being applied to these problems include the use of microarrays of messenger RNA transcripts for analyzing expression profiles of genes and the use of yeast 2 hybrid screens for systematic protein interaction analysis. Proteomics probes both of these problems by direct analysis of proteins in cells or tissues.

Typical studies of proteomics include large scale determination of quantitative changes in the expression levels of proteins to assess the effects of a wide variety of perturbations to cells, and comprehensive analysis of protein protein interactions by mass identification of protein components in the functional protein complexes, membrane domains, and cellular organelles. Our laboratory is equipped with advanced liquid chromatography(LC) mass spectrometry(MS) based technologies to serve for functional proteomics of embryonic stem(ES) cells.

æ, We identified ~2,000 proteins expressed in mouse ES cells. The proteomic dataset was cataloged together with the available information such as molecular function and subcellular localization.

æ,, We identified a number of receptors, transporters and adhesion molecules expressed in undifferentiated ES cells by a method developed for the selective and large scale profiling of cell surface proteins.

æ" Changes of protein expression during ES cell differentiation are investigated by a quantitative approach based on the stable isotope labeling and LC MS technologies.

By use of the information on protein expression generated by these technologies, we study on molecular function of identified proteins and their roles in maintaining the undifferentiated state and regulating the pluripotency of ES cells further.

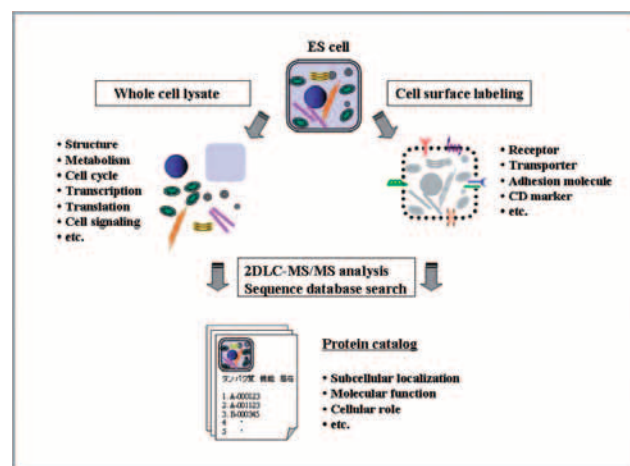


図 2 ES細胞タンパク質の大規模解析のストラテジー

Fig. 2 Strategy for large scale analysis of proteins expressed in mouse ES cells using LC MS based proteomics technology.

客員教授	理学博士	服 部 成 介
客員教員	理学博士	小 迫 英 尊
客員教員	農学博士	小 林 道 元
客員教員	理学博士	飯 田 直 幸

Visiting Professor:	Seisuke Hattori, Ph. D.
Visiting Research Associate:	Hidetaka Kosako, Ph. D.
Visiting Research Associate:	Michimoto Kobayashi, Ph. D.
Visiting Research Associate:	Naoyuki Iida, Ph. D.

プロテオミクス技術による細胞内シグナル伝達系の解析

現在プロテオミクス研究に頻用されている 2 次元ゲル電気泳動は分解能が充分でないために、シグナル伝達系のような微量因子は解析対象から漏れている。この欠点を克服するため、2 次元ゲル電気泳動の前に対象とする因子群を濃縮・精製することで、僅かな変化も効率的に解析している。

新規キナーゼ基質の同定

特定のキナーゼを活性化した細胞および阻害剤を用いて活性化を抑制した細胞からそれぞれリン酸化タンパク質を精製し、2 次元ゲル電気泳動によりそのパターンを比較した。その結果、ERK (extracellular signal regulated kinase) 基質の候補として数十のスポットを同定した。これまでに30個のスポット中のタンパク質の決定したが、約半数はERKキナーゼカスケードの構成因子や既知の基質であり、このアプローチの有効性が示された。残り半数のタンパク質は新規ERK基質と考えられ、その機能解析を行っている。

同様な方法で、p38 MAPキナーゼの新規基質としてBAG2 (Bcl 2 associated athanogene 2) を同定している。

またこれまでリン酸化ペプチドの精製に適用されてきたIMAC (immobilized metal affinity chromatography) の条件を検討し、リン酸化タンパク質の精製に応用できることを示している。

T細胞シグナリングの解析

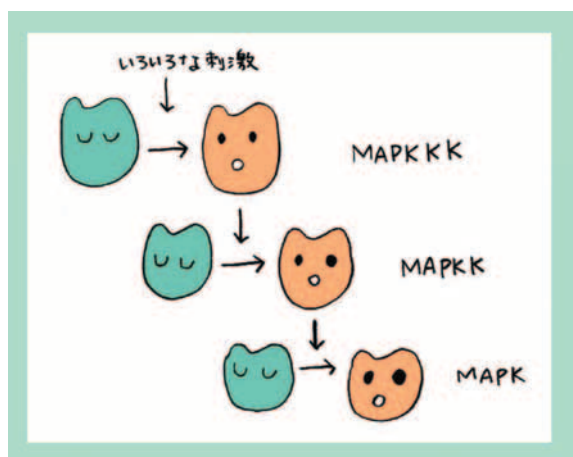
T細胞と抗原提示細胞の間には免疫シナプスとよばれる構造が形成され、効率的なシグナル伝達を行なう。この際にT細胞受容体を中心とした免疫シナプスはラフト画分において形成される。したがってラフト画分の構成タンパク質を網羅的に解析することにより、どのようなタンパク質が免疫シナプス形成の関与するか検討している。これまでにAktキナーゼ、Gap1m、SWAP70、DEF 6などの因子を同定している。これらの因子はいずれもPH領域を持ち、PIP3結合活性を有する因子なので、PI3 キナーゼの下流で機能すると考えられる。

Signal transduction studies by proteomic analyses

Two dimensional gel electrophoresis is a general tool for proteomic studies. However, proteins of low abundance such as factors involved in signal transduction have been overlooked hidden behind huge spots of proteins of cytoskeleton or metabolic enzymes. To overcome this problem, we combined pre-fractionation techniques with 2 D gel. One method is phospho-protein purification. By this approach we succeeded in the identification of novel substrates of ERK and p38 MAP kinase. Also, we isolated raft membrane fractions from activated or quiescent T cells, which revealed that proteins having PH domains are recruited to raft fractions upon activation. Since this fraction contains T cell receptor, components for T cell immunosynapse formation will be identified by this approach.

文献

Ueda, K. Kosako, H. Fukui, Y., and Hattori, S. Proteomic identification of Bcl2 associated athanogene 2 as a novel MAP kinase activated protein kinase 2 substrate. J. Biol. Chem. in press



客員教授 (併) 医学博士 上 田 実
客員助教授 歯学博士 朝比奈 泉
客員教員 医学博士 本 田 雅 規

Visiting Professor: Minoru Ueda, DDS, PhD
Visiting Associate Professor: Izumi Asahina, DDS, PhD
Visiting Research Associate: Masaki Honda, DDS, PhD

当研究部門は組織工學的手法を用いた口腔組織の再生，特に歯胚幹細胞による歯の再生を研究テーマとして，平成15年7月1日に設立された。この研究部門は医科学研究所の持つゲノム解析や幹細胞研究などの基礎生物學的基盤技術を歯胚幹細胞の研究に集結させることで，歯胚再生の研究を加速させることをねらいとしている。

具体的な目的として，1) 歯胚の上皮あるいは間葉組織に存在する幹細胞の同定と解析，2) 歯胚幹細胞の増殖・分化に影響を及ぼす分子の探索，3) 歯胚再生に適した幹細胞の足場となる生体材料の探索，が挙げられる。

現在，ブタ臼歯歯胚から分離した細胞を生体吸収性ポリマーに播種することによって歯の再生に成功しており，この系を用いた幹細胞の同定を進めている。また，遺伝的，細胞生物學的情報の豊富なマウスを使った系を確立し，歯胚幹細胞に関する細胞・分子的生物學的解析を試みている。

歯胚再生の他，口腔粘膜や骨組織の再生も試みており，特に間葉系幹細胞および骨形成たんぱく質 (BMP) を用いた組織再生研究を進めている。

Our division has been established in July 2003 to accelerate the research on oral tissue regeneration, especially tooth regeneration, with the support of accumulated knowledge about genomic science and stem cell biology at IMSUT.

Our main research project is to regenerate tooth using the methods of tissue engineering. To accomplish this goal, we are focusing on the following subjects; 1) identification and characterization of stem cell in either epithelial or mesenchymal tissue from tooth germ, 2) search for molecules to affect the growth and differentiation of the stem cell, 3) search for suitable biomaterials as the scaffold to assemble these stem cells on.

We succeeded in tooth regeneration using the cells separated from pig tooth germ, which were assembled on bioresorbable synthetic polymer. We are trying to identify the stem cell using this system. We are also making the same system using mouse, on which there are abundant genomic and cell biological information, for cellular and molecular biological analysis.

We are also trying to regenerate mucous membrane and bone tissue by focusing on mesenchymal stem cells and bone morphogenetic protein (BMP).



図 1 再生した歯の組織像 (HE染色)
ブタ歯胚から分離した細胞を足場と共にラット腹腔内に移植して再生した歯。エナメル質，象牙質，歯髄が再生されている。

Fig. 1 Regenerated tooth (HE staining)
Tooth was regenerated by the implantation of the cells, which were separated from porcine tooth germ, on the scaffold into rat omentum. The regenerated tooth has either enamel, dentin or dental pulp.

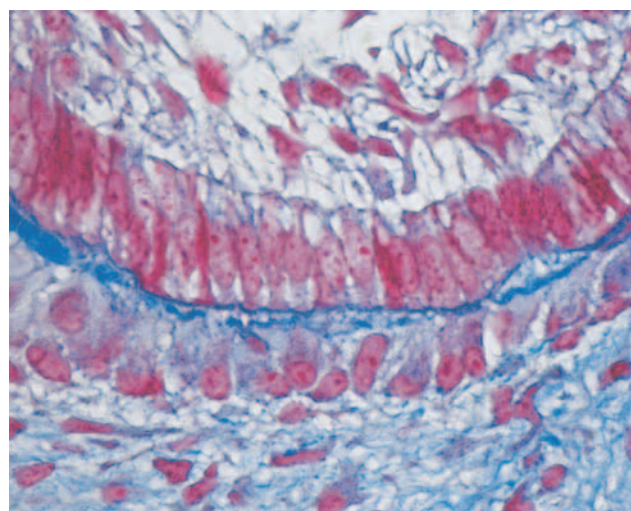


図 2 再生した歯の組織像 (アザン染色・強拡大)
エナメル芽細胞が基底膜上にきれいに配列している。

Fig. 2 Regenerated tooth (Azan staining)
Ameloblasts form a line on the basement membrane.

特任教授 理学博士 堀 本 勝 久
特任教員 農学博士 油 谷 幸 代

Professor: Katsuhisa Horimoto, Ph. D.
Research Associate: Sachiyo Aburatani, Ph. D.

われわれの研究室は、さまざまな統計的アプローチによって分子レベルにおける生物学的知見を発見することと、統計手法の適切な適用ができるように研究者を教育することを目的としている。現在の主な研究課題は、以下に示すように、理論生物学の広い範囲に渡っている。

- 1) グラフィカル・ガウシアン・モデリングの適用による、遺伝子発現プロファイルからの遺伝子制御関係の推定
- 1) Directional Statisticsの適用による、巨視的なゲノム構造比較
- 1) 時系列解析の適用による、DNA繰り返し配列の探索手法の開発
- 1) Hidden Markov Modelの適用による、蛋白質折りたたみ予測法の開発
- 1) Distance Geometry法の適用による、アミノ酸残基距離情報からの立体構造決定
- 1) 統計解析web siteの作成

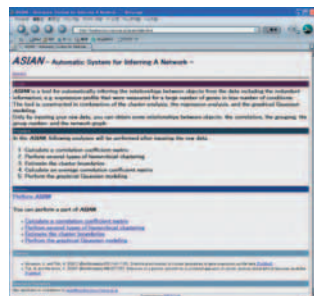


図1 ネットワーク自動推定web site
web site上に公開しているネットワーク推定プログラム, ASIAN (Automatic System for Inferring A Network), のフロントページ (URL: <http://eureka.ims.u-tokyo.ac.jp/asian/>)
Fig. 1 Web site for automatically inferring a network
The front page of the web site for network inference is described, which is named ASIAN (Automatic System for Inferring A Network) (URL: <http://eureka.ims.u-tokyo.ac.jp/asian/>).

特任助教授 理学博士 藤 本 一 朗
特任教員 理学博士 白 壁 恭 子

Associate Professor: Ichiro Fujimoto, Ph. D.
Research Associate: Kyoko Shirakabe, Ph. D.

当研究室は、物質工学とバイオサイエンスの融合を目指し2003年4月に開設された。本研究所とNTT物性科学基礎研究所の双方に研究スペースを設置し両研究所の利点を生かした研究を推進している。この研究ユニットは生体機能の分子情報伝達機構を分子イメージング、原子間力顕微鏡 (AFM)、分子生物学および細胞生物学を用いて明らかにするための実験を行っている。

1) イノシトール三リン酸レセプター (IP3R) は四量体を形成しており、最近、電子顕微鏡解析によりカルシウムを加えると構造変化を起こし、四面体型から風車型になることが明らかとなっている。我々はAFMを用いて溶液中で膜を観察し、生体内により近い状態でIP3Rチャネルの表面構造解析を行った。ビデオレートの高速スキャンAFMを開発中であり、カルシウム添加に伴う構造変化を経時的に解析することを次の目標としている。

2) ナトリウム/炭酸水素共トランスポーター (NBC) には、腎臓タイプ、膵臓タイプ、脳タイプの3種類が知られているが、一番興味深い脳タイプはごく最近に見つけられたこともあり、その機能が明らかになっていない。我々はNBCと上記のIP3Rに結合する新規のタンパク質に着目しており、その結合部位や結合様式の解析を行った。さらに*Xenopus oocyte*に強制発現させNBCの活性が結合タンパク質存在下で7倍近く増強されることも明らかにした。NBCの3種類に対するそれぞれの特異的抗体を作製し、脳内局在を調べた。その結果、脳幹のように共通発現領域と小脳のように発現領域が全く異なる部位があることが明らかとなった。このことはNBCがサブタイプ別に違う機能を行っている可能性を示すものである。

Division of Neural Signal Information was established in April 2003 to pursue a fusion of nanotechnology and biotechnology. In addition to IMSUT, we have a lab space at Basic Research Laboratories in NTT Corporation. Our research interest is to characterize functional and structural changes of molecules involved in neural signaling pathway. We employ techniques of molecular and cellular biology along with latest molecular imaging devices such as atomic force microscope (AFM). We are taking advantage of respective specialties in both institutes, and studying the following subjects.

1) The inositol 1,4,5 trisphosphate receptor (IP3R) form a tetrameric receptor channel in the ER membrane, and is one of the key proteins regulating Ca^{2+} concentrations in the cell. Recently, it was shown that structure of the channel changes depend on Ca^{2+} concentrations, but those observations were made with electron microscope using fixed samples. We have been using samples in solution without any fixation to observe the change with AFM. Next goal is to demonstrate the structural change using a video rate fast scanning AFM.

2) We are characterizing a new protein which binds to both IP3R and a Na^+/HCO_3^- co transporter (NBC) protein (a) identifying binding sites of the binding protein, (b) functional analysis of the binding protein in *Xenopus oocyte* expression system and (c) characterizing mRNA and protein expression patterns of NBC isoform(s) in developing mouse brain.

研究拠点形成 治療ベクター開発室

CORE FACILITY FOR THERAPEUTIC VECTORS

教授(室長) 医学博士 田原 秀晃(併)
 特任助教授 医学博士 佐々木 勝則
 特任教員 歯学博士 片野 尚子

Professor: Hideaki Tahara, M. D., D. M. Sc.
 Associate Professor: Katsunori Sasaki, Ph. D.
 Research Associate: Hisako Katano, D. D. S., Ph. D.

遺伝子治療は、各種疾患に対して画期的・根本的治療となる可能性があると考えられている先端の治療法の一つである。この遺伝子治療臨床応用の発展を支援する目的で2001年8月、東京大学医科学研究所附属病院に治療ベクター開発室が開設された。当開発室は、遺伝子導入ベクター作製とそれを体系的に貯蔵できる「ベクターユニット」および遺伝子治療に関連する細胞操作を行なうことができる「セルユニット」から構成されている。各部屋の室温、湿度、清浄度は集中管理による24時間モニタリングおよびデータ記録が行なわれている。一方、運営に関しても全製造工程と品質管理工程を文書化した「標準作業手順書(SOP)」を完備している。さらに2002年8月には、国際標準化機構が提唱し品質管理体制を国際的に認証する制度であるISO9001:2000を、国立大学の附属施設としては初めて取得した。その認証範囲は、「細胞および遺伝子治療の製品の開発と生産」である。また、臨床用アデノウイルスベクター作製時に必要となる293細胞のMaster Cell BankおよびWorking Cell Bankの確立に成功し、その品質検証も完了しており、最終産物のGMPグレードのアデノウイルスベクターを調製確保できる体制を整えている。現在、遺伝子(Interleukin 12)導入樹状細胞療法を始めとする臨床研究開始に向けて準備中である。さらに、他施設からの依頼に対しても高い水準で支援出来る「全国共通利用施設」としての運営体制作りを進めている。

The primary function of the Core Facility for Therapeutic Vectors (CFTV) is to support clinical trials that require the genetic modification and/or ex vivo manipulation of patients tissues under current Good Manufacturing Practice (cGMP) conditions. The CFTV is organized with two distinct units; 1) vector unit; 2) cell unit. The design of the facility accommodates the applicable specifications of cGMP. The cGMP compliance is maintained using written Standard Operating Procedures (SOPs) which codify all aspects of laboratory activities, including facility design, personnel practices, and operations. Quality management system of the CFTV has been assessed and found to be in accordance with the requirements of the quality standards detailed ISO9001:2000; in the scope of development and manufacture of cell and gene therapy products. The master cell bank and working cell bank of the producer cell line have been established and certified for the cGMP compliance. These cells enable us to produce adenoviral vectors used in clinical gene therapy trials. We are currently in the process of preparation for clinical trials including cancer gene therapy using IL 12 transduced dendritic cells. The CFTV services will be provided to the clients outside of IMSUT in the near future.

研究拠点形成 ゲノム医療プロジェクト推進

PROMOTION OF GENOME BASED MEDICINE PROJECT

特任教授 医学博士 古川 洋一

Professor: Yoichi Furukawa, M. D., Ph. D.

本研究プロジェクトは、ゲノムの情報を医療へ応用することを目的として開始されたCOEプログラムの一つである。ヒトのがんの発生・進展には、がん抑制遺伝子やがん遺伝子の遺伝子変異のみならず、数多くの遺伝子の発現異常が関与している。我々はがん治療への臨床応用を目指して、cDNAマイクロアレイを用いたゲノムワイドな遺伝子発現プロファイルのデータを基に、次の2つのプロジェクトを展開している。

①、慢性骨髄性白血病に対する抗がん剤グリベックの効果や、非小細胞肺癌に対する抗がん剤イレッサの効果のデータと、それぞれの腫瘍細胞の遺伝子発現プロファイルの検討から、これらの病気の患者さんの、それぞれの抗がん剤に対する感受性を予測し、結果を患者さんに報告し、治療法の決定に利用するプロジェクトを、医科研付属病院と共同で開始した。

②、大腸がんや肝がんを高発現する遺伝子SMYD3を同定した。SMYD3がコードするタンパクは新規のヒストンメチルトランスフェラーゼであり、RNA helicaseとRNA polymerase IIとの複合体を形成して転写を活性化し、腫瘍の増殖を促進することが明らかとなった。この分子をターゲットとした治療法開発のため、さらなるSMYD3タンパクの機能の解析と、転写活性化により増殖が促進するメカニズムの解明を行っている。

In order to apply the information of human genome to the treatment of human cancer, our research unit has been investigating genome wide expression profiles of human cancers using cDNA microarray. Following two projects, which are established as one of the COE (Center of Excellence) programs, have been executed: Using the data obtained by cDNA microarray, we have started to apply the information of human Genome to patients.

①、 We analyzed expression profiles of chronic myeloid leukemia (CML) cells with high sensitivity and those with low sensitivity to Imatinib (Glivec), and expression profiles of lung adenocarcinomas with high sensitivity, and those with low sensitivity to Gefitinib (Iressa). Based on these data, systems to predict sensitivities of these tumor cells to each treatment have been developed. As a prospective study in collaboration with department of medicine in Institute of Medical Science Hospital, we have started to apply these systems to patients who are going to be treated with Glivec or Iressa.

②、 We have identified SMYD3, a gene frequently upregulated in the colorectal carcinomas and hepatocellular carcinomas. SMYD3 encodes a protein containing histone methyltransferase activity, which forms a ternary complex with an RNA helicase and RNA polymerase II. This association with RNA polymerase II suggests that SMYD3 activates transcription of downstream genes. We are now investigating its function and role in human carcinogenesis. Information concerning SMYD3 will be useful for the development of novel anticancer drugs targeting SMYD3.

特任助教授

医学博士 中 島 秀 明

Associate Professor: Hideaki Nakajima M. D., Ph. D.

当プロジェクトでは、間葉系幹細胞の他、造血幹細胞の自己複製メカニズム・血球特異的転写因子による分化制御機構の解明とその臨床応用をめざして研究を進めている。

1. 胎盤をソースとした間葉系幹細胞分離法および分化誘導法の確立

間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) は筋・骨・軟骨・脂肪・心筋細胞などに分化する能力を持つ細胞であるが、その分離・培養・分化誘導技術は未熟であり臨床応用には依然として障壁が多い。本研究では、MSCのソースとして胎盤を用い、MSCを分離・培養する技術と各種組織細胞への分化誘導法の確立をめざしている。

2. 骨髄間質細胞による造血幹細胞の自己複製制御メカニズムの解明

骨髄間質細胞により構成される造血微小環境 (niche) は造血幹細胞が生着し、自己複製を行う場として極めて重要である。我々は間質細胞に発現し造血幹細胞の自己複製を支持する分子として、ISFとmKirreの2つを同定した。現在これら分子がどのように造血幹細胞の自己複製を促進しているのか、その分子メカニズムの解析を進めている。これらを通じて造血幹細胞の自己複製を制御するシグナル・遺伝子ネットワークの解明をめざしている。

3. 血球特異的転写因子による細胞分化の可塑性の解明

血液細胞の分化は系列特異的転写因子により制御されているが、その分子メカニズムには不明点が多い。本研究では活性誘導型転写因子を全ての血球に発現するトランスジェニックマウスを作成し、転写因子を異所性に発現させたときの細胞分化の方向転換を詳細に検討している。これらより分化の可塑性を明らかにし、将来的な血球分化の人為的制御法開発をめざしている。

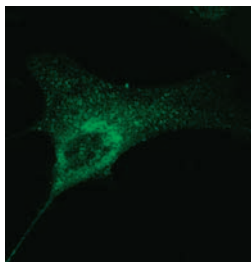


図 mKirreの細胞内局在

Fig. subcellular localization of mKirre protein

Our current work is focused on mesenchymal stem cells (MSC), the molecular mechanism of self renewal of hematopoietic stem cells (HSC) and the regulation of hematopoietic cell differentiation by lineage specific transcription factors.

1. Isolation and characterization of placental MSC

MSC is a cell that has a capacity to differentiate to muscle cells, bone, cartilage, adipocytes or cardiomyocytes. The methods for isolation, culture and differentiation induction of MSC are still not fully established for clinical application. This project focuses on the development of novel methods for placental MSC handling. These new methods will pave way to their application in the clinical settings.

2. Regulation of HSC's self renewal by bone marrow stromal cells

Bone marrow stromal cells are a population of mesenchymal cells that resides in the marrow. These cells are important components for bone marrow niche, a microenvironment for nurturing HSC. We have previously cloned novel membrane proteins, ISF and mKirre that support self renewal of HSC from bone marrow stromal cells. We are currently investigating how these factors regulate self renewal of HSC by using cDNA microarray, gene disruption in mice, expression cloning by retrovirus. These studies will lead to the better understanding of the molecular mechanism of signaling networks in HSC physiology.

3. Mechanism of hematopoietic cell differentiation by lineage specific transcription factors

Differentiation of hematopoietic cells is regulated by lineage specific transcription factors. We generated transgenic mice that ectopically express inducible form of those transcription factors and analyzing their effects on hematopoietic differentiation. This study will reveal the plasticity of hematopoietic cells at various differentiation stages, and eventually help to develop the method to manipulate hematopoietic cell differentiation.

文部科学省 再生医療の実現化プロジェクト 幹細胞探索領域 Project of Developmental Stem Cells

特任助教授

医学博士 依 馬 秀 夫

Associate Professor: Hideo Ema M. D., Ph. D.

幹細胞を用いた新しい再生医療を実現化するための基礎研究を行っています。本領域では特にマウス造血幹細胞をモデルとして「幹細胞の運命決定機構」の解明を目指しています。最近、造血幹細胞は非対称性分裂によって自己複製と分化を同時に起こすことが実験的に検証できました。本研究を通して細胞が細胞周期を経て分化するという事象を分子レベルで理解したいと考えています。また、発生学的観点から造血幹細胞の前駆細胞を同定することによって造血幹細胞の増幅機構を明らかにし再生医療に役立てたいと思います。

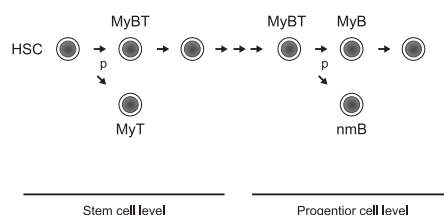


Fig. 1 Asymmetric differentiation of hematopoietic stem cells

Stem cell biology provides basic knowledge and tools for regenerative medicine. Hematopoietic stem cells (HSCs) have served as the best stem cell model, founding researches of other stem cells. However, the molecular basis of their self-renewal and differentiation remains poorly understood. In this project, we attempt to clarify how the fate is determined in HSCs, intrinsically and extrinsically. Recently we obtained evidence for that HSCs can self-renew under a certain culture condition. HSCs asymmetrically give rise to themselves and lineage restricted precursor cells through their early divisions (Fig 1). Presumably, epigenetic changes are involved in this differentiation step, associated with cell cycle progression. We will look for molecular mechanisms underlying the initiation of this event.

Ex vivo expansion of HSCs is the most wanted procedure to innovate stem cell therapies. Adult HSCs seem to have limits in self-renewal potential as we have recently suggested. We thus rather make efforts to find out what molecules restrict this potential. We also seek more primitive cells than HSCs. From the developmental point of view, there should be precursor cells capable of giving rise to HSCs, likely arising from the mesoderm layer in a developing embryo. These presumptive cells may contribute to a robust expansion of HSCs in vivo. We want to identify them to test the hypothesis.

助教授 医学博士 服 部 浩 一
特任教員 医学博士 ハイジーニ・ベアーテ

Associate Professor: Koichi Hattori, M. D., Ph. D.
Research Associate: Beate Heissig, M. D., Ph. D.

造血幹細胞の骨髄から末梢血への動員は、造血幹細胞が骨髄中の造血微小環境（骨髄Niche）を離脱し、血管領域へと遊走し血管内へ侵入するという一連の過程で成立していると考えられている。現在、各種成体組織幹細胞のNicheの所在解明は、幹細胞生物学における重要課題の一つとなっているが、骨髄組織中に造血幹細胞が存在することはかなり以前から実証されていたことから、ある意味で骨髄は組織幹細胞の局在性について最も掘り下げて研究が進められた組織の一つであり、加えて、近年極めて可塑性に富んだ細胞集団が骨髄中に存在することが示唆され、再生医療に対する衆目の過剰とも言える期待と相まって、骨髄内の多能性幹細胞の存在と性状をめぐる論議は一層白熱化してきている。

本研究室では、こうした生体内幹細胞/前駆細胞の再生、動員機序の解明とその制御を主題としており、ある種の組織幹細胞が臓器構成細胞へと分化成熟し、臓器構築へと関与していく一連の組織再生過程の詳細を解析し、最終的にはその成果を何らかの形で臨床へフィードバックすることを目標としている。生体内組織再生の中でも、様々な生理学的ストレスによってダメージを受けた代表的な造血組織である骨髄そして血管の再生・新生機構の解明は本研究室が特に力を入れて取り組んでいる研究分野の一つであり、これまで骨髄細胞の再生におけるマトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）の活性上昇及びこれによって促進されるKit ligandのプロセシングの重要性を指摘、さらにG-CSFをはじめとする造血因子、ケモカイン、さらには一連の血管新生因子がMMPを活性化することを通じて各種幹細胞/前駆細胞を動員し、その一部は異常な血管新生を誘導することについても報告した。これに加え一連のケモカイン、血管新生因子と様々な接着分子との相互作用及び腫瘍増殖に伴う異常血管新生の機序の分析、さらにはこれらの基礎実験結果を踏まえた癌治療法の開発までをその本研究室主題の範疇と捉えている。

Everyone thought that stem cells randomly hang around in the bone marrow, but this is not the case. There is the surface of the bone, the osteoblastic niche, which under steady state conditions provides a safe haven for resting quiescent stem cells. The bone marrow microenvironment dictates maturation and survival of stem and progenitor cells by providing e.g. cytokines. We showed that activation of a proteinase, metalloproteinase 9 (MMP 9), by making the stem cell active cytokine, Kit ligand (also known as Stem Cell Factor) bioavailable can control stem cell fate. To put it simply, physiological stress, as may occur during tissue injury, activates MMP 9 in bone marrow cells, promoting the release of Kit ligand, which leads to the proliferation and recruitment of stem cells from the dormant microenvironment of the bone marrow to an environment that promotes their expansion, differentiation, and mobilization into the bloodstream. This cascade of events leads to significant expansion of stem cells that move cells in large numbers into the peripheral circulation facilitating recovery for future use. These exciting results lay the foundation for developing strategies whereby activation of enzymes such as MMP 9 or other as yet unrecognized organ specific proteases can function as molecular switches to expand and recover a large population of autologous hibernating stem cells for use in tissue regeneration and gene therapy. On the other hand, we showed that these bone marrow derived cells have the capacity to promote tumor cell growth through local incorporation into tumor tissue by contributing to tumor vessel cell growth (angiogenesis).

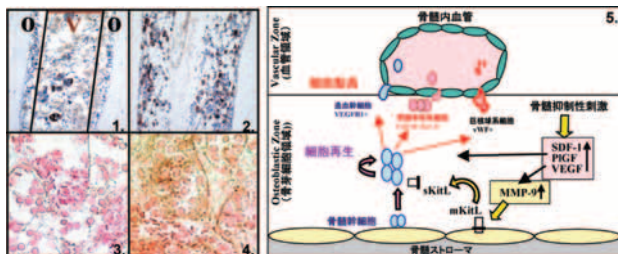


図 1 . 2

抗癌剤投与後 6 日後 (1 .) と 10 日後 (2 .) のマウス骨髄組織。骨髄再生は骨芽細胞領域 (0) から血管領域へと移行していく。

図 3 . 4

実験対照群と血管新生因子投与群との三日後の骨髄MMP 9免疫組織染色の結果。MMP 9は主に骨髄ストローマで活性化（褐色部分）されていることが解る。

図 5

骨髄組織再生動員機構仮説。MMP 9の活性化はKit ligandのプロセシングを誘導し、骨髄細胞の再生と動員を促進する。

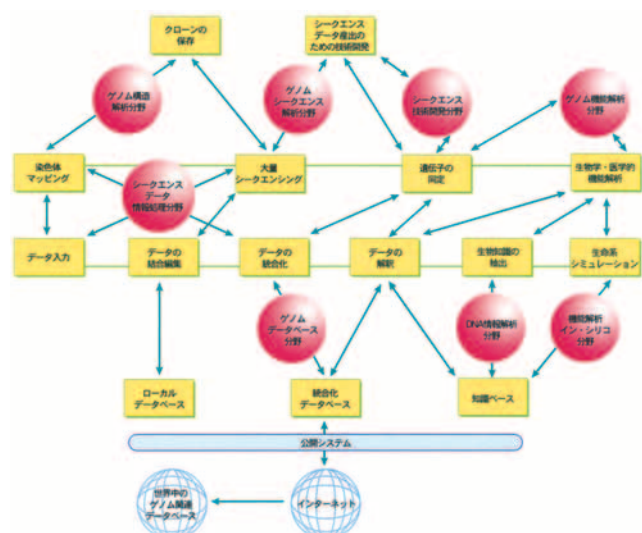
ヒトゲノム解析センター HUMAN GENOME CENTER

ヒトゲノム解析研究は疾病の診断，予防，治療法の開発などを通し人間社会に大きく貢献することを目的とするものであり，また，生物学の発展に欠かすことのできない基盤研究である。東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターは，このような医学・生物学研究の将来にとって欠くべからざるプロジェクトを推進していくためのわが国の中心拠点として平成3年度に設置され，その後の整備により平成12年度からは8分野体制となっている。

ヒトゲノム解析センターの各分野においては世界的なレベルでの先端的研究と共に，研究資材の提供や技術指導などの講習会の開催，あるいは，国内・国外からゲノム研究を目指す若手研究者を受け入れ，その教育指導なども行っている。さらに，情報系の分野においては，国際的な協調のもとにデータのバンキングやデータベースなどの構築を行っている。

The aim of the Human Genome Project is to contribute to our society through development of diagnostic methods, novel treatment, and prevention for diseases. The project also provides very important and fundamental information for molecular and cell biology. Our Genome Center was established in 1991 as a central research center for the Japanese Human Genome Project and now consists of eight research laboratories as indicated below.

Each laboratory of Human Genome Center conducts the advanced research in human genome analysis, particularly the field related to genes susceptible to diseases, and also provides resources and information for genome research. We also have seminars to transfer technology as well as to use various computer programs.



教授 理学博士 金 久 實
 助手 片 山 俊 明
 助手 川 島 秀 一

Professor: Minoru Kanehisa, Ph. D.
 Research Associate: Toshiaki Katayama
 Research Associate: Shuichi Kawashima

本研究分野では、ヒトをはじめ様々な生物種のゲノム解析プロジェクトから得られたゲノムの情報をもとに、ゲノムに書かれた遺伝子の組み合わせからなる生命システムの設計図を解読することを目的とし、以下の研究開発を行っている。

æ, 遺伝子ユニバースの系統的解析に基づく遺伝子機能分類
 全ゲノム塩基配列が決定されたすべての生物種に含まれるすべての遺伝子間の配列類似関係は、遺伝子ユニバースとよばれる膨大なグラフ（ネットワーク）オブジェクトである。これに準クリーク探索というグラフ解析の方法を適用して、生物種間で共通のはたらきをする遺伝子（オースログ遺伝子）のグループを見だし、さらにKEGGのパスウェイと対応づけることにより、遺伝子アノテーションの標準化と遺伝子機能分類の体系化を行っている。

æ, 知識集約のためのコミュニティデータベースの開発
 ゲノムの情報は従来からの生物学・医学の広範な分野で活用され、その発展に寄与してきた。同時に、新たに獲得された生物学・医学の知識は、様々な生物種のゲノム解読に活用することができる。コミュニティデータベースとは、特定分野の研究コミュニティと連携して構築するデータベースで、ゲノム解読のために研究コミュニティの知識を集約することを目指し取り組んでいる。

æ, 病気のパスウェイとオントロジー
 感染症、がん、代謝異常などの病気、また関連するシグナル伝達系、免疫系、代謝系などの知識を集積し、KEGGのパスウェイとしてデータベース化を行っている。また、これを二項関係の集合から構成されるBRITEデータベースにも登録し、分子レベルの情報を病気の情報につなぐオントロジー（推論のための枠組み）を開発している。

æ, KEGG利用システムの開発
 KEGGデータベースの国際標準化の一貫として、KEGG API (Application Programming Interface) の開発と、KEGGの全生物種に対する分散ゲノムアノテーションサーバー KEGG DAS (Distributed Annotation System) の開発・運用を行っている。

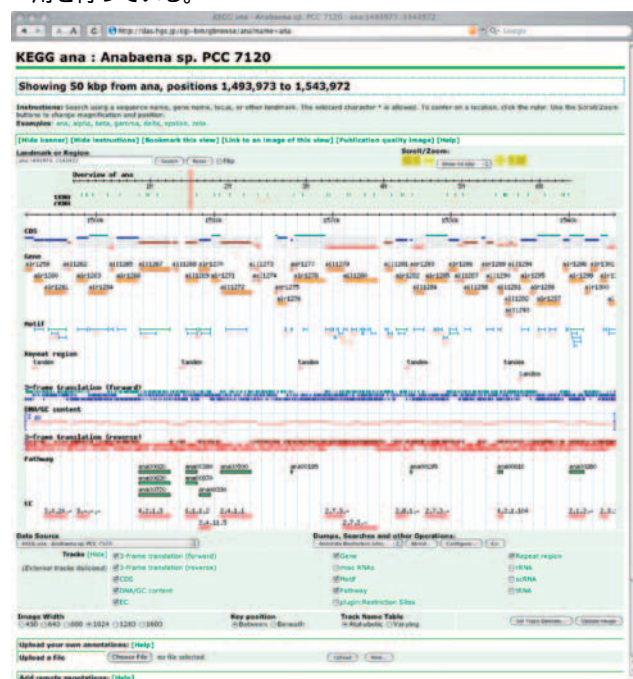


図 1 KEGG DAS分散ゲノムアノテーションサーバ (<http://das.hgc.jp/>)

Fig. 1 DAS (Distributed Annotation System) server for KEGG

In this laboratory, we study post genomic analysis of life systems consisting of molecular networks by utilizing genomic information obtained from genome sequencing projects. Our current projects include:

1. Systematic analysis of the gene universe for classification of gene functions

The gene universe is a huge graph object representing sequence similarity relations among all the genes in the completely sequenced genomes. By developing a graph based method for finding quasi cliques, the KEGG GENES database (a gene universe database) is decomposed into ortholog clusters (OCs) in a fully automated manner and on a continuous basis. The OCs are then manually related to KEGG pathways to define the KEGG orthology (KO) grouping for hierarchical classification of gene functions.

2. Community databases for experts' knowledge acquisition

The availability of genomic information is a great boon to all researchers in biomedical sciences accelerating their research on understanding higher level functional properties of many species. At the same time, new knowledge gained in one species can be used to understand other species once the knowledge is properly computerized. This Laboratory helps to develop community databases for selected fields, in which the knowledge is computerized by experts from the field as a whole.

3. Disease pathways and disease ontology

Current knowledge on molecular mechanisms of selected diseases is accumulated and represented as KEGG pathways, including those for infectious diseases, cancer, and metabolic disorders, as well as related pathways for signal transduction, immune system, and metabolism. In addition, the knowledge is stored in the BRITE database consisting of binary relations and an ontology is being developed for inferring diseases from genomic and chemical information.

4. New interfaces to KEGG

As part of the standardization efforts in KEGG, we now offer the KEGG API (Application Programming Interface) service and the DAS (Distributed Annotation System) service for all the species in KEGG.

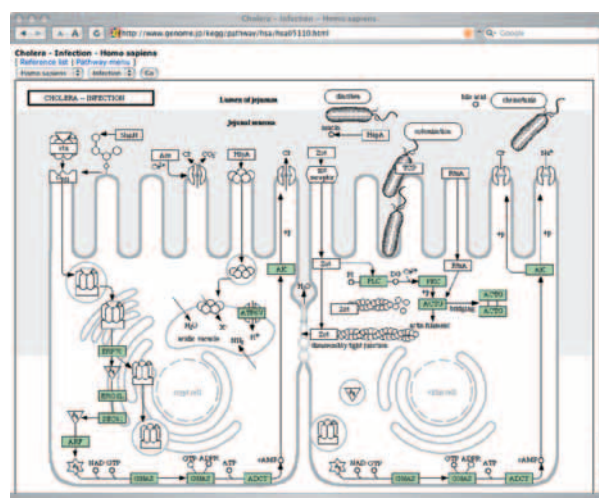


図 2 KEGG PATHWAYによる感染症のパスウェイ

Fig. 2 Infectious disease pathway in KEGG PATHWAY
<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>

教授 理学博士 宮野 悟
助手 理学博士 井元 清哉
助手 理学修士 坂内 英夫
特任教員 Ph. D. Michiel Jan Laurens de Hoon

Professor: Satoru Miyano, Ph. D.
Research Associate: Seiya Imoto, Ph. D.
Research Associate: Hideo Bannai, M. Sc.
Research Associate: Michiel Jan Laurens de Hoon, Ph. D.

この分野は、システムバイオロジーにおける計算戦略の構築をミッションとして、ゲノムワイドな様々な遺伝子関連情報から生命をシステムとして理解し、それを医学・生物学に応用するための研究を行っている。スーパーコンピュータシステムはそのために不可欠のインフラで、このシステムを用いて主に次の3つのテーマを柱に研究を行っている。

- æ, 遺伝子ネットワーク研究: DNAマイクロアレイを用いて得られる遺伝子発現データと様々なゲノムワイドな遺伝子関連情報(タンパク質相互作用, タンパク質細胞内局在情報など)を使って遺伝子ネットワークを同定するための種々の方式, 特に, ペイジアン・ネットワーク, ブーリアン・ネットワーク, 微分方程式系による遺伝子ネットワークのモデル化と推定方式を開発している。そして推定された遺伝子ネットワークを用いて, ドラッグターゲット遺伝子の探索や, 病気や薬剤応答に関する遺伝子探索についても成果を挙げている。
- æ,, 知識発見方式の研究: ゲノム配列データ, SNPデータ, 遺伝子発現データ, アミノ酸配列及び構造データなどから, 生命システムの部品やスイッチに関わっているものを探すための方式を研究している。その一つとして, 遺伝子の制御に関わっているモチーフとよばれる特殊な配列を効率よく探索するためのアルゴリズムを開発している。
- æ" 生命システムのモデル化とシミュレーションの研究: 生命をシステムとして捉え, 遺伝子の制御情報, シグナル伝達系, 代謝系等についての生物・医学知識をシミュレーション可能な形でモデル化することにより, システムとしての遺伝子の機能などを予測したり, 新たな仮説を作りだせるソフトウェアの研究を行っている。そしてGenomic Object Netというモデル化とシミュレーションのためのツールを開発している。

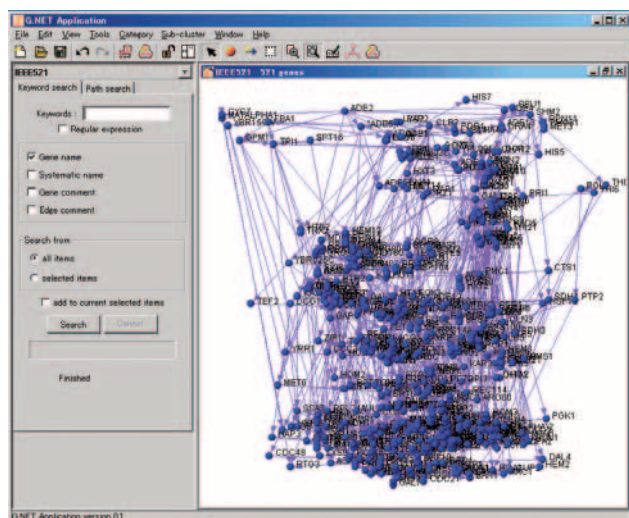


図 1
パン酵母の120の遺伝子(78個は転写因子)を破壊して得られたマイクロアレイデータから推定されたネットワーク。

Fig. 1
Network of 521 genes estimated from 120 *S. cerevisiae* microarrays obtained by disrupting 120 genes, where 78 of them are transcription factors.

The mission of this laboratory is to create "Computational Strategy for Systems Biology". With this mission, we are developing computational methods for understanding life as a system and applying it to medicine and biology based on various genome wide information on genes and their products. The supercomputer system is an indispensable infrastructure for this mission. The following three topics are rigorously investigated with this supercomputer system.

- æ, Gene networks: Various computational methods are developed for estimating gene networks from DNA microarray gene expression data and various genome wide information such as protein protein interactions, protein subcellular localizations, etc. Bayesian networks, Boolean networks, and systems of ODEs are employed for modeling gene networks. With the gene network strategy, we have developed a method for searching drug target genes and make their validation. Computational analysis of disease and drug response genes is also in our scope.
- æ,, Computational knowledge discovery: Computational methods for searching the parts and switches in the life system are developed. DNA sequences, SNPs, gene expression profiles, amino acid sequences of proteins and their structures are investigated for this topic. The research on algorithms for searching motifs which are related to gene regulations is a typical topic.
- æ" Modeling and simulation of biological systems: Towards the understanding of life as system, the first computational step is to develop a software tool with which we can model and simulate various pathways in cells such as gene regulatory networks, signaling pathways, metabolic pathways. This strategy will create predictions of gene functions and new hypotheses on computers. We have developed a software tool "Genomic Object Net" (<http://www.genomicobject.net/>) for modeling and simulation of biological systems.

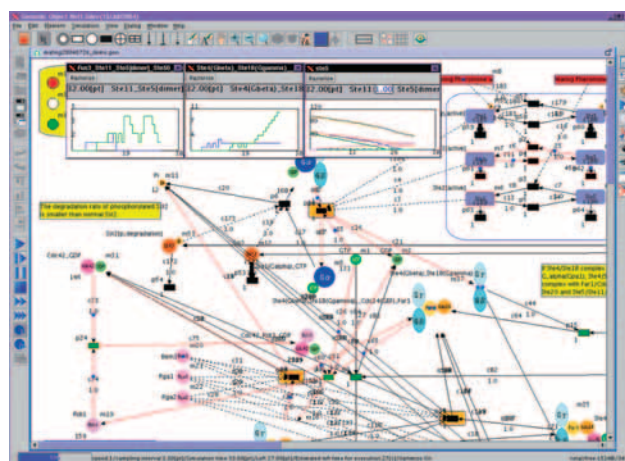


図 2
Genomic Object Netを用いて遺伝子制御, 代謝系, シグナル伝達などのネットワークのモデル化をスムーズに行うことができ, XMLを使ったパーソナライズドな可視化環境でシミュレーションできる。図は分裂酵母のフェロモン応答による接合のMAPK経路のモデル化とシミュレーション。

Fig. 2
Genomic Object Net realizes smooth modeling of gene regulatory networks, metabolic pathways, signaling pathways, etc. The picture shows a modeling and its simulation of the MAPK pathway of the mating process of fission yeast by ferromon response.

教授 医学博士 中村 祐輔
 助手 医学博士 醍醐 弥太郎
 助手 医学博士 中川 英刀
 助手 医学博士 松田 浩一

Professor: Yusuke Nakamura, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Yataro Daigo, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Hidewaki Nakagawa, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Koichi Matsuda, M. D., Ph. D.

ヒトゲノム解析研究の第一段階であるヒトゲノムのDNA塩基配列の解読が完了し、今後はこのゲノム上に存在する遺伝子の機能解析、特に疾患関連遺伝子解析研究が重要となってくる。当研究室では、体系的多型情報解析および体系的発現情報解析による、がんをはじめとした疾患に関する遺伝子の同定・機能解析を通じて、臨床的な観点から疾患の画期的診断法および治療法の開発につながる基盤的研究を行っている。現在までに32,256個の遺伝子を配置したcDNAマイクロアレイを独自に構築しており、これを用いたヒトの種々のがんにおける遺伝子発現情報解析から、抗がん剤や放射線感受性に関する遺伝子群を同定し、これらの発現情報に基づいた感受性予測システムの開発を行っている。また、SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) 解析では、易罹患性や薬の効果・副作用に直接関連する遺伝子を同定し、その成果を元に、薬の効果や副作用の予測システム開発を目指している。最終的には、これらの予測システムを用いて、様々な疾患の患者に対して、治療前に適切な治療方法を行うオーダーメイド医療の実現を目指している。さらに、われわれは、ヒトのがんで最も重要ながん抑制遺伝子であるp53の標的遺伝子を単離し、その生理的機能を解明することによって、がん発症の機序解明と、それを応用した遺伝子治療の開発を目指している。

- 1) SNPsを利用した疾患遺伝子研究(慢性糸球体腎炎(ループ腎炎)・クローン病(Crohn's disease)・脳梗塞・筋萎縮性側索硬化症(ALS)など)
- 2) SNPsを利用した易罹患性や薬の効果・副作用に関連する遺伝子の同定および予測システムの開発
- 3) ゲノムワイドcDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現情報解析による薬剤・放射線感受性予測システムの開発
- 4) がん抑制遺伝子p53標的遺伝子の単離とその機能解析によるp53の生理機能の解明および遺伝子治療の基盤的研究

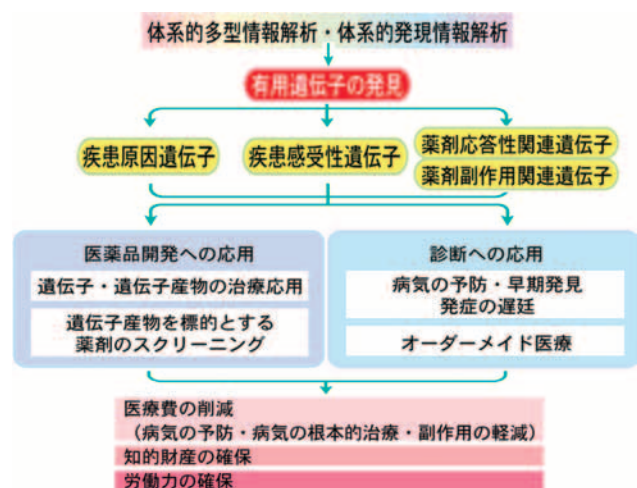


Fig. 1 Strategy for establishment of personalized medicine and development of molecular targeted anti cancer drugs using genome wide cDNA microarray or whole genome SNPs analyses.

We are working on the identification of clinically useful data from human genome sequence as a post genome sequence project. To develop novel diagnostic and/or therapeutic strategies to human diseases including cancer, we are carrying out the identification and functional analysis of genes associated with the human diseases. Through genome wide expression profile analyses in various human cancers by means of cDNA microarray containing 32,256 genes, we have identified genes related to the sensitivity of their treatment such as chemotherapies and radiotherapies. Using these data, we have been further exploring systems to predict the sensitivity of treatment. In addition, we are searching for genes associated with their adverse effect using whole genome SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) analysis, which may facilitate the development of prediction systems of the adverse effect. The final goal of our study is the application of these prediction systems into clinics and the realization of personalized medicine. Additional projects include the identification of downstream target genes of tumor suppressor p53. The characterization of the target genes may be useful not only for the clarification of human carcinogenesis but also for its clinical application for therapies. The main projects are as follows;

- 1) Isolation of genes associated with human disease such as lupus nephritis, Crohn's disease, cerebral infarction, Amyotrophic lateral sclerosis, by comprehensive SNPs analysis,
- 2) Establishment of prediction systems of the effectiveness and adverse effects of treatment including anti cancer drugs and radiotherapies using whole genome SNPs analysis or cDNA microarray,
- 3) Identification and functional analysis of p53 target genes.

オーダーメイド医療 (personalized medicine)



Fig. 2 Personalized medicine

教授 医学博士 中村 祐輔
 助教授 医学博士 片桐 豊雅
 助手 医学博士 浜本 隆二

Professor: Yusuke Nakamura, M. D., Ph. D.
 Associate Professor: Toyomasa Katagiri, Ph. D.
 Research Associate: Ryuji Hamamoto, Ph. D.

ヒトゲノム解析研究の第一段階であるヒトゲノムのDNA塩基配列の解読が完了し、今後はこのゲノム上に存在する遺伝子の機能解析、特に疾患関連遺伝子解析研究が重要となってくる。数万種類もの遺伝子について一度に発現情報を得ることができるマイクロアレーを利用した解析は、とりわけ、がん研究において威力を発揮し、臨床的な観点からのがん研究を進める上でも重要な役割を担うと考えられる。当研究室ではヒトの全遺伝子数の90%以上に当たる32,256個の遺伝子を配置したcDNAマイクロアレーを独自に作製し、これを用いてさまざまな種類の癌における遺伝子発現プロファイルの解析を行っている。また、癌組織の組織学的不均一性を考慮して、LMM (Laser Microbeam Microdissection) 法により、選択的に癌細胞を採取し、より正確な癌の遺伝子発現情報を取得している。さらに、われわれは、約30種類のヒト正常臓器の遺伝子発現情報データベースも構築しており、これらの発現プロファイルを比較することで、正常臓器には発現を認めず、癌細胞のみで発現亢進を認める遺伝子を、それぞれの腫瘍に対する新たな診断・治療法開発のための分子標的候補遺伝子として、その機能解析を行っている。

現在、cDNAマイクロアレーを用いた下記のヒト癌における遺伝子発現プロファイルの解析を通じて、分子標的候補遺伝子の単離およびその機能解析を行っている。

- 1) 大腸癌・肝癌・胃癌・肝内胆管癌
- 2) 肺癌 (非小細胞・小細胞)・食道癌
- 3) 膵癌・前立腺癌
- 4) 乳癌・腎癌・膀胱癌・軟部肉腫・白血病

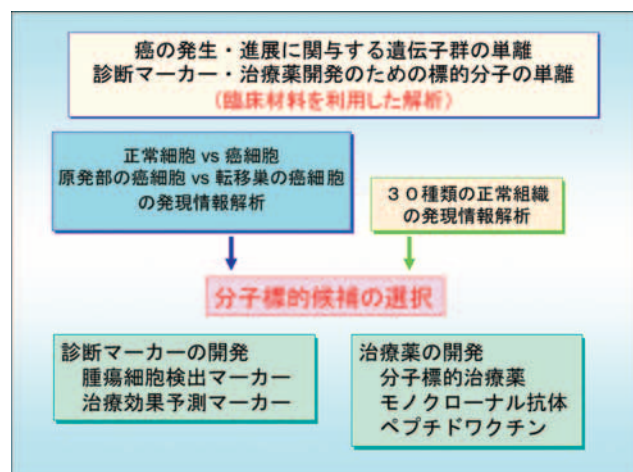


Fig.1 Strategy of development of novel molecular targeted anti cancer drugs.

The determination of human genome sequence has been completed as a result of human genome project. It is now crucial to clarify the function of genes in the genome. Particularly functional analysis of genes associated with human diseases is a matter of great importance. Microarray that enables to detect expression of thousands of genes with an experiment is a powerful tool for the research of carcinogenesis in terms of basic research as well as clinical research. We fabricated our in house microarray slides containing 32,256 genes that correspond approximately 90% of genes in the human genome. We have been performing expression profile analyses in a wide range of human cancers using the microarray slides in combination with LMM (Laser Microbeam Microdissection). To obtain the precise expression profiles of human cancers, we have been selectively collecting cancer cells by LMM from clinical tissues that are a mixture of cancer cells, stromal cells, endothelial cells, and infiltrating lymphocytes. We have also analyzed expression profiles of 30 normal human tissues. Utilizing these microarray data, we have identified genes that are overexpressed in cancer cells and not expressed in important vital organs, as candidates for novel molecular targets of treatment and/or diagnosis of human cancers. We are currently carrying out the functional analyses of these genes.

We have accomplished genome wide expression profile analyses of the Tumors as follows.

- 1) colorectal cancer, hepatocellular carcinoma, gastric cancer (intestinal type and diffuse type), and intrahepatic cholangiocellular carcinoma,
- 2) lung cancer (non small cell lung carcinoma, small cell lung carcinoma), esophageal cancer,
- 3) pancreatic cancer, prostate cancer,
- 4) breast cancer, renal cell carcinoma, bladder cancer soft tissue tumor, leukemias

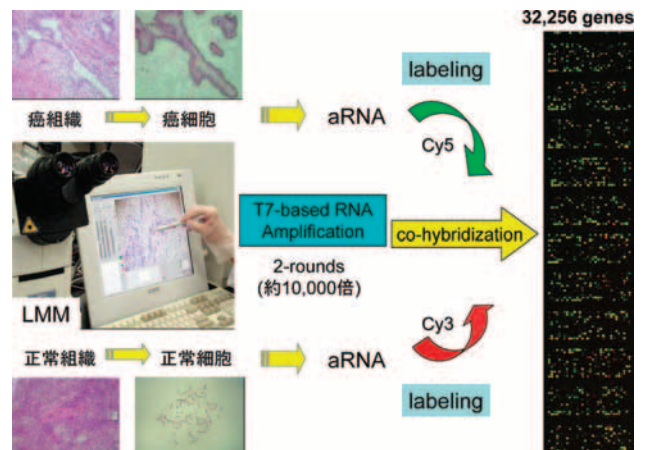


Fig. 2 cDNA microarray analysis using cancer and normal cells purified by laser microbeam microdissection (LMM)

教授 理学博士 金 久 實
 講師 理学博士 渋谷 哲 朗
 助手 薬学博士 荒 木 通 啓

Professor: Minoru Kanehisa, Ph. D.
 Lecturer: Tetsuo Shibuya, Ph. D.
 Research Associate: Michihiro Araki, Ph. D.

ゲノムの情報から生命のシステムを理解し医療や産業へつなぐには、遺伝子やタンパク質の網羅的な解析と同時に、化合物や化学反応の網羅的な解析が必要不可欠なことは言うまでもない。代謝経路データベースKEGGでは当初よりこれらケミカル情報を蓄積し、公共的に利用可能なLIGANDデータベースとして広く提供してきた。

近年この分野の競争がますます激しさを増してきたが、我々は次の戦略として、低分子化合物とその反応だけでなく、糖鎖、脂質、さらに特に活性ペプチドなどの生体高分子も含めた化学反応系の統合的なデータベース構築を開始し、そのために化合物、糖鎖、ペプチドの構造を統合的に入力できるKegDrawツールも開発している。

ゲノムが直接的に規定する遺伝子と遺伝子産物の総体である「遺伝子ユニバース」に対して、ゲノムが間接的に規定するこれら化学反応系を「ケミカルユニバース」と呼び、両者の融合によるケミカルユニバースの網羅的解析をケミカルゲノミクスと呼んでいる。ケミカルゲノミクスのための基本的な情報技術として、化合物の化学構造（グラフ）や糖鎖の一次構造（ツリー）を解析するアルゴリズムと実用的なソフトウェアの開発を行っている。

また、ゲノムの情報から生命のシステムを理解し、医療や産業につないでいく課程においては、ケミカルゲノミクスの問題以外にも様々な計算機で扱わないといけない問題がある。例えば創薬、一塩基多型解析、マイクロアレイ解析、ゲノム解析といった様々な局面で計算機を用いた解析が必須である。しかしそれらの問題は情報科学的に見て、解くことが非常に困難であることが多い。本研究室では、そのような多くの問題に対し、グラフ理論、組み合わせパターン照合アルゴリズム、学習理論の研究を中心として、それらの解析アルゴリズムの構築やその解析を行っている。

To understand biological systems from the genome information and develop medical and other practical applications, it is necessary to perform an integrated analysis of chemical information on substances and their reactions, added to the analysis of genes and proteins. The integration of genomics and chemistry has been emphasized in the pathway database KEGG and the LIGAND database has been made publicly available for many years.

We are now extending the KEGG LIGAND database to include not only small compounds and reactions but also glycans, lipids, and peptides, especially active peptides synthesized both in the ribosome and non ribosome systems. The Chemical Genomics Project aims at developing a new picture on the whole reaction network consisting of small chemical compounds to biological macromolecules. We are currently developing computational technologies for chemical genomics, such as graph based methods for analyzing chemical compounds and reactions, tree based methods for analyzing glycan structures, and KegDraw, a tool for drawing structures of compounds, glycans and peptides.

There are many other problems to solve with computers other than chemical genomics when we analyze genomes to understand biological systems or to develop medical and industrial technologies. These include drug design, SNPs analyses, genome sequence analyses, microarray analysis, etc. But many of these problems are very difficult to solve from a viewpoint of computer science. We also focus on the development and analysis of algorithms for these problems, through research on graph theory, combinatorial pattern matching theory, and learning theory.

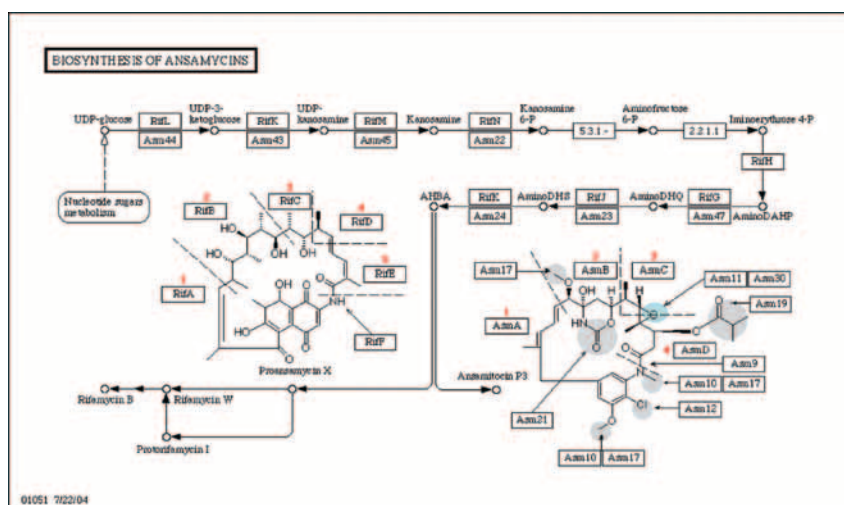


図 1
ケミカルゲノムデータベース

Fig. 1
Chemical genome database.

教授 中井 謙太
助教授 木下 賢吾

Professor: Kenta Nakai
Associate Professor: Kengo Kinoshita

本研究分野名における「イン・シリコ」とは、生物学でよく用いられる *in vivo* (生体内で), *in vitro* (試験管内で) などの用語のアナロジーから生まれた言葉で、「シリコンチップ内で」、つまり「計算機で」という意味である。すなわち、当研究室は、生物のゲノムにコードされた遺伝子の機能をコンピュータを使って解析する目的で、2000年より設置され、2003年から現在の体制がスタートしている。

「遺伝子の機能」という用語はあいまいさを含んでおり、遺伝子産物であるタンパク質の性質特異性などの素子としての機能(生化学的機能)と、発生や糖代謝などの生物学的機能の二つに大きく分類できる。つまり、個々の遺伝子は、生化学的機能と生物学的機能の二つの側面から理解されるべきものであるが、本研究分野においても、その二つの側面からの研究を有機的な形で連携しつつ行うことを目標としている。

教授の中井は配列解析の専門家であり、最近では遺伝子の転写制御領域の配列解析に力を入れている。たとえば、比較的単純で、かつゲノム比較解析のやりやすい、バクテリアの転写制御情報を網羅的に解析したり、東大新領域の菅野純夫研究室との共同研究で、ヒトやマウスのプロモータ領域の解析を行っている。これらの研究の基礎として構築したデータベースDBTBSとDBTSSは世界的に利用されつつある。転写制御領域の情報は機能的に関連する遺伝子を組織的に制御する仕組みを含むので、遺伝子の生物学的機能の解明に役立つ。

一方、助教授の木下はタンパク質の立体構造解析の専門家であり、タンパク質表面の三次元形状から機能を予測する研究などを行ってきた。この研究は、リガンド結合などの生化学的機能解明に直接結びつくだけでなく、タンパク質-タンパク質相互作用部位などを通して、生物学的機能解析にも道を拓くものである。

両者の研究が今後さまざまな局面で接点をもちつつ、それぞれ発展していくことにより、また種々の実験系研究室との共同研究を通して、いわゆるポストゲノム研究において、着実な貢献を果たしていくことを目指している。

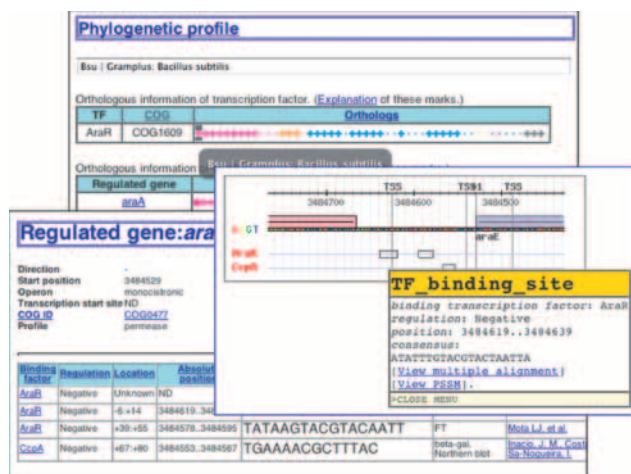


Fig. 1
DBTBS: database of transcriptional regulation in *Bacillus subtilis*

The term "*in silico*" in the name of our laboratory may not be so familiar; it is analogously used with more commonly used terms in biology, such as "*in vivo*" (in the living organism) and "*in vitro*" (in the test tube). Namely, "*in silico*" means "in the silicon chip", which means "with computers". Thus, the mission of our laboratory is to computationally analyze the function of genes, which are encoded in genome sequences. Our laboratory was founded in 2000; the current organization started in 2003.

The term "function of genes" may also need some explanation. It means two things: one meaning is the biochemical function, which is the function of each gene product by itself (say, substrate specificity), while the other is the biological function, which is the global process in which each gene product participates (say, development or glycolysis). Thus, the function of genes must be understood both from the two directions. We aim a cooperative effect by undertaking these two lines of research activity within one laboratory.

More specifically, Prof. Nakai is an expert of sequence analysis, with an emphasis on the analysis of transcriptional regulatory regions. For example, his group has systematically analyzed the transcription factor binding sites in bacterial promoters, which are simpler in structure and are more convenient for phylogenetic comparison. Collaborative studies with Prof. Sumio Sugano's group are also under way to analyze the promoter structure of higher organisms. DBTBS and DBTSS, which are transcriptional databases constructed through these studies, are now becoming more and more popular. The analysis of transcriptional regulation is useful to understand the biological function of genes because it clarifies the way on how a set of genes are regulated in a coordinated way.

On the other hand, Assoc. Prof. Kinoshita is an expert of protein structure analysis, with an emphasis on the prediction of protein function through its surface 3D structure. His study will be useful for the understanding of not only the biochemical functions of genes, such as ligand protein binding, but also their biological functions through the clarification of protein-protein interaction networks.

We expect that the above two lines of studies will interact/stimulate each other in many aspects. Through such an interaction as well as through many collaborations with experimental groups, we wish to make steady and significant contributions to the post genome analyses.

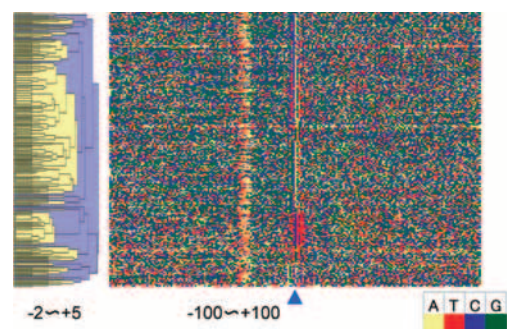


Fig. 2
Sequences around TSSs of human genes that have well defined TSSs

ヒト疾患モデル研究センター CENTER FOR EXPERIMENTAL MEDICINE

ヒト疾患モデル研究センターは、旧獣医学研究部、旧癌生物学研究部を改組転換し、1研究分野を加えた3研究分野をもって、平成10年4月、医科学研究所の10年の時限付き付属研究施設として発足した。

研究センターの目的は、現代の医学研究に欠かせないヒト疾患のモデルを開発し、解析することである。また、遺伝子操作を始めとする新たな胚操作法を開発し、実施することによって、医科学研究所における動物実験システムを、ゲノム医科学からゲノム医療の開発につなげる科学的実証的なシステムにすることを目的とする。

ヒトの病気の研究は、古くから様々に行われてきた。目的は、個体に起こる苦痛の原因の解明と、その除去法の探求とである。苦痛は、通常、個体の部分の異常から生じるが、治療は、常に個体を対象として行われる。また、部分に原因があっても、その影響は、個体全体に及ぶことが常であることから、研究の対象は、ヒトの個体である。しかし、ヒトは実験の対象にはならない。そこで、科学的実証的な医学研究は、動物実験を通して行われてきたのである（実験医学）。これまで用いられた動物は、疾患の「症状モデル」がほとんどであり、ヒト疾患と同一の原因をもつものは、きわめて希であったといえる。

この長い研究の歴史上に、近年、画期的な進歩がもたらされた。遺伝子工学の進歩によって、ヒトの多くの疾患が、何らかの遺伝子の機能異常に原因があることが明らかにされ、ヒト疾患の研究に、遺伝子機能の研究が不可欠になった。即ち、ヒト疾患モデルとして、個体の遺伝子操作によって作られる実験動物が、動物実験の中心的役割を担うことになったのである。

現在の処、マウス個体の特定の遺伝子を欠失させたり、過剰発現させたり、特定の時期にだけに発現をONやOFFにさせたりすることなどが出来る技術が確立されている。さらに、体細胞の核移植が、様々な動物種で可能であることから、体細胞の遺伝子操作を経た核を、個体にすることは、それ程難しい技術ではなくなってきた。即ち、実験動物は、遺伝子操作を経て、ヒトと原因を同じくする疾患のモデル（ヒト疾患モデル）となりうるのである。

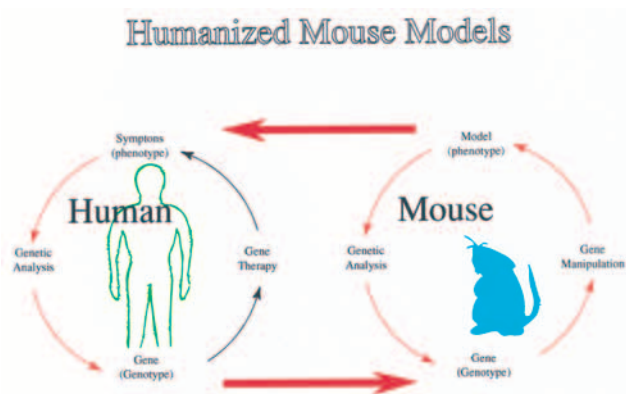
ヒト疾患モデル研究センターでは、個体を対象とする医学研究の実証的研究の最も重要な動物実験システムの創造を、実験動物の開発を通して行い、また幹細胞治療などの先端医療研究も優れた実験動物の系を用いて行うものである。

センターの運営は、密接に関係する実験動物研究施設と一体になって行われ、動物実験の指導、動物センターの運営と実験動物の管理とを分担する。

The Center for Experimental Medicine was established in April, 1998. It consists of three laboratories, Laboratory of DNA Biology and Embryo Engineering, Laboratory of Cellular Biology and Laboratory of Gene Expression and Regulation, restructured from the Department of Veterinary Medicine and the Department of Oncology. The operation of this center is carried out with the Laboratory of Experimental Animals, since all the four laboratories share the closely related jobs such as the instruction of the handling of animals, teaching how to make the schedules of animal experiments and how to perform the experiments, operation and management of the animal center, etc.

The Center for Experimental Animals will be working for ten years from the establishment and will have to be renewed in 2008.

The purposes of the center are to develop animal models for human diseases and regeneration medicine to analyze those models. For accomplishing these purposes, we try to devise the animal experimental systems by developing the embryo engineering technologies as well as recombinant DNA technologies that link the genome science and genome medicine.



教授 理学博士 岩 倉 洋一郎
 講師 理学博士 保 田 尚 孝
 助手 理学博士 千 田 大
 助手 獣医学博士 角 田 茂
 助手(休職) 理学博士 宝 来 玲 子

Professor: Yoichiro Iwakura, D. Sc.
 Lecturer: Hisataka Yasuda, Ph. D.
 Research Associate: Dai Chida, Ph. D.
 Research Associate: Shigeru Kakuta, Ph. D. D. V. M.
 Research Associate: Reiko Horai, Ph. D.

多くの病気は外来性の遺伝子の侵入（感染）や内在性の遺伝子の異常によって引き起こされる。発生工学的手法によってこれらの遺伝子进行操作した個体を作製することにより、個々の遺伝子の機能と疾病との関係を理解することを目的とする。自己免疫疾患や、癌、感染症などを対象として、種々のサイトカインの発症における役割を中心に解析を進めている。

æ, 関節リウマチモデルの作製と発症機構の解析

成人T細胞白血病の原因ウイルスであるHTLV Iのトランスジェニックマウスを作製し、このウイルスが自己免疫性の慢性関節炎を引き起こすことを初めて明らかにした。また、IL 1レセプターアンタゴニストを欠損させたマウスも、同じく関節リウマチによく似た関節炎を発症することを見いだした。自己免疫、および骨破壊のメカニズムを明らかにし、関節炎の治療と骨再生を試みる。

æ,, エイズモデルの作製と発症機構の解析

HIV遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製し、HIV遺伝子の活性化機構や、ヘルパーT細胞の減少メカニズムを解析している。また、HIVの感染・増殖に関するヒト型宿主遺伝子の導入によりHIV感受性マウスの作製を目指す。

æ” 体細胞初期化メカニズムの解明と新規再生医療技術の開発

最近体細胞の核を受精卵に移植することにより体細胞を初期化できることが分かり、特定の体細胞を自由に種々の臓器細胞に変換できる可能性が示された。体細胞初期化のメカニズムを明らかにすると共に、関与する因子の同定、単離を目指す。

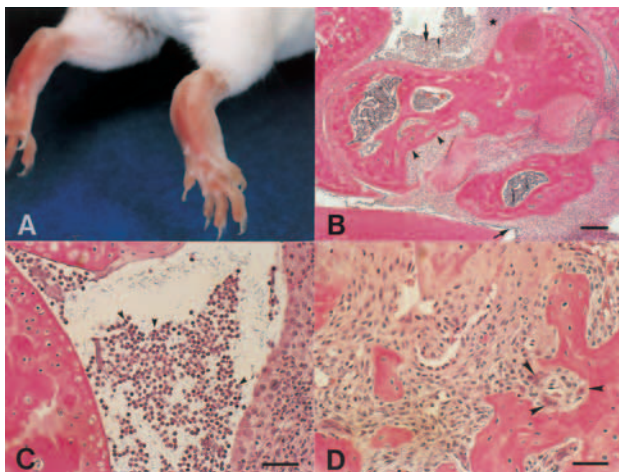


図1（左側） IL-1レセプターアンタゴニストノックアウトマウス(A)と関節の病理像(B, C, D)
 高い頻度で関節炎を発症し、自己免疫疾患モデルとして有用である。

Fig. 1 IL-1 receptor antagonist knockout mouse (A) and the histopathology of the joint. These mice develop inflammatory arthropathy at high incidence and are useful as a model for rheumatoid arthritis.

図2（右側） IL 1過剰シグナルによる自己免疫性関節炎の発症

Fig. 2 Excess IL 1 signaling causes autoimmune arthritis.

Recent development of transgenic techniques has made it possible to directly analyze the functions of a particular gene in a living animal. These techniques have also made it possible to produce various animal disease models. Autoimmune diseases, tumors, and infectious diseases are our major concerns, and by producing transgenic mice as well as gene knockout mice, we are attempting to elucidate pathogenesis at the molecular level, especially in correlation with the roles of cytokines.

æ, Production and analysis of rheumatoid arthritis models

By producing transgenic mice carrying the HTLV I genome, we have first shown that this virus can cause chronic arthritis in animals. Recently, we have also found that IL 1 receptor antagonist-deficient mice develop arthritis resembling rheumatoid arthritis in humans. We are now elucidating mechanisms of the autoimmunity and bone destruction, trying to cure inflammation and reconstruct the bone lesion.

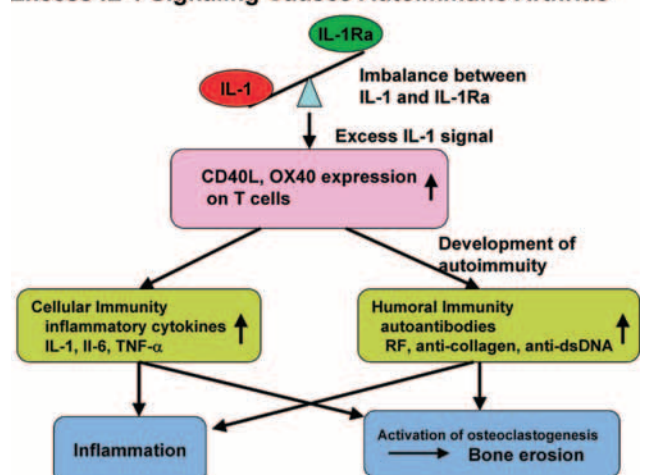
æ,, Production and analysis of AIDS models

We have produced HIV genome introduced-transgenic mice as a model for healthy HIV carriers in humans, and are now studying the mechanisms of HIV gene activation and helper T cell depletion. We are also trying to produce mice that are susceptible to HIV by introducing the receptors and other human specific host factors for HIV infection.

æ” Reprogramming of adult somatic cells into pluripotent stem cells and its application to organ reconstitution.

Successful production of cloned animals by nuclear transplantation has demonstrated that maternal cytoplasmic factors are capable of reinitialize differentiated somatic cells into undifferentiated state. Moreover, it was shown that adult somatic stem cells had still high developmental potential. These stem cells could differentiate into all the three embryonic germ layers when they formed chimeras with normal blastocysts. We are now analyzing the molecular mechanisms of reprogramming of somatic cells.

Excess IL-1 Signaling Causes Autoimmune Arthritis



教授 医学博士 吉田進昭
 助手 獣医学博士 市瀬広武
 助手 医学博士 佐藤充治
 助手 医学博士 市瀬多恵子

Professor: Nobuaki Yoshida, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Hirotake Ichise, D. V. M., Ph. D.
 Research Associate: Mitsuharu Sato, Ph. D.
 Research Associate: Taeko Ichise, Ph. D.

当研究分野のキーワードはジーンターゲティング、ES細胞、リンパ管であり、ポストゲノムとして重要な遺伝子機能解析を行うとともに、再生医療に向けたES細胞の自己複製能の解析、モデルマウスを用いたリンパ管の発生分化の研究を行っている。

æ, ノックアウトマウスを用いた遺伝子機能の解析

ヒトゲノムにおいて遺伝子は約3万個と予想され、そこから非常に多くのたんぱく質が作られていると考えられている。従って遺伝子を自在に改変してその機能を解析するという遺伝子改変マウスの作成が重要であり、その手法も複雑になってきている。当研究分野ではノックアウトマウス作成をベースに、Cre-loxPシステムを用いた点突然変異の導入や組織特異的な遺伝子欠損マウスの作成、誘導型の遺伝子不活性化などのコンディショナルジーンターゲティングを用いて、遺伝子機能の詳細な解析およびヒトの疾患モデルの開発を行っている。

æ,, ES細胞の自己複製能の解析

ES細胞（胚性幹細胞）は、すべての組織・細胞に分化し得る幹細胞であり、その幹細胞としての自己複製能の解明は、体性幹細胞の分離とex vivoでの増殖への応用へとつながる。我々は未分化ES細胞で発現しているRex-1遺伝子の発現調節にOct 3/4とともに関わるRox-1を同定、これを手がかりにして解明しようとしている。一方、RNAをもターゲットにした網羅的アプローチでES細胞の未分化能維持に関わる新規分子の同定を試みている。

æ” リンパ管の発生分化の解析

当研究分野で発見されたリンパ管発生異常を呈する突然変異マウスなどを用いて、現在まであまり解明が進んでいないリンパ管の発生分化の研究を行っている。リンパ管研究は、癌組織におけるリンパ管新生やリンパ性転移の解明にもつながる重要な研究課題でもある。変異遺伝子座の決定のほか、リンパ管を標識するトランスジェニックマウスの作成、リンパ管特異的なノックアウトマウス作成などを通じて、リンパ管の発生分化、その機能を多角的に研究している。

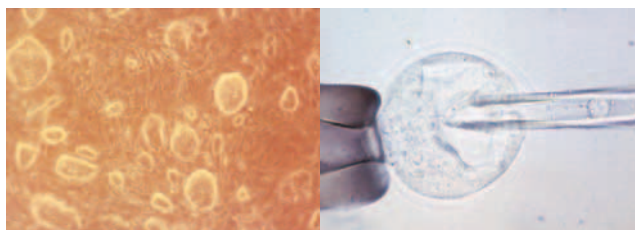


図1 支持細胞上の未分化ES細胞

図2 ES細胞のblastocystへのマイクロインジェクション

Fig. 1 Undifferentiated ES cells on feeder cells

Fig. 2 Microinjection of ES cells into the cavity of blastocyst

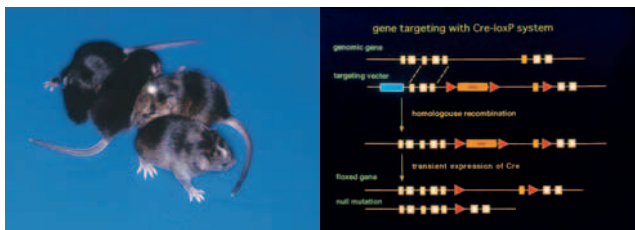


図3 キメラマウス（右2匹）と対照マウス（左2匹）

図4 Cre-loxPシステムを用いたジーンターゲティング

Fig. 3 Chimeric mice (right two) and control mice (left two)

Fig. 4 Gene targeting with Cre-loxP system

æ, There are many genes being isolated, including the ones whose functions are not clearly understood, through the recent development of molecular biology. Gene targeting technology has revealed many aspects of gene functions in vivo. Knock out mice offer the opportunities of not only analyzing the complex gene function in vivo, but also presenting various human disease models, where new therapeutic approaches can be explored. To allow more detailed dissection of gene function, we introduce a point mutation or to disrupt gene in certain lineages (or stages) using Cre-loxP system, a method of conditional gene targeting.

æ,, ES cells, which are used for gene targeting, are the only stem cells being cultured in vitro. To elucidate the molecular mechanism that regulates self renewal of pluripotent ES cells, we have tried to identify a factor(s) cooperatively with Oct 3/4, the critical transcription factor for maintaining of undifferentiated state of ES cells. We have identified Rox-1 which binds to the promoter region of Rex-1 gene expressed only in undifferentiated cells.

æ” The lymphatic development in mammals has been poorly understood because of the lack of a suitable model mouse showing lymphatic abnormalities. We recently found and maintained a new spontaneous mutant mouse line which develops chylous ascites and lymphedema. In order to understand the mechanism of lymphatic development and functions in more detail, we are also generating various knock out/knock in mouse lines including a conditional knock out mouse.

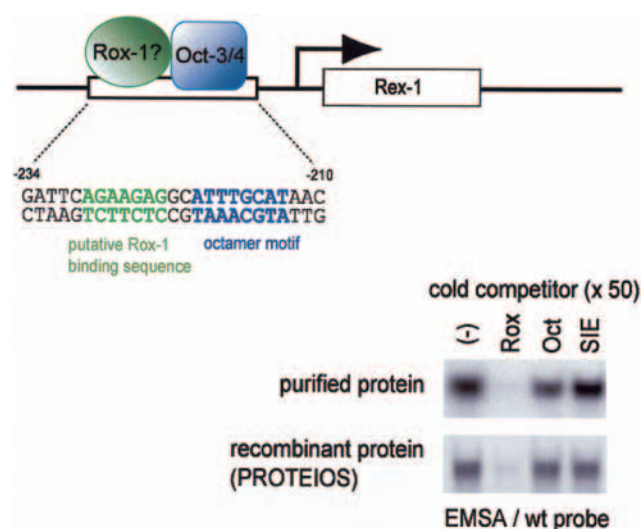


図5 未分化ES細胞に特異的に発現しているRex-1のプロモーターに、Oct 3/4とともに結合、発現調節を行っているRox-1分子の同定

Fig. 5 Identification of Rox-1, which binds to the promoter region of undifferentiated cell specific Rex-1 gene, cooperatively with Oct 3/4.

教授 医学博士 中内 啓光
 講師 医学博士 岩間 厚志
 助手 医学博士 江藤 浩之

Professor; Hiromitsu Nakauchi, M.D., Ph. D.
 Lecturer; Atsushi Iwama, M. D., Ph. D.
 Research Associate; Koji Eto M. D., Ph. D.

本分野は、免疫学、分子生物学、細胞生物学、発生工学などの基礎医学の知識や方法論を臨床医学と結びつけることにより、新しい病気の発見、病態の解明、治療法の開発に貢献することを最終的な目標としている。現在は、骨髄、肝臓、神経系など、いろいろな組織に存在する幹細胞を同定し、その分化と自己複製を制御することにより、臓器再生という治療戦略を確立することを目指して研究を進めている。

æ, 幹細胞制御と再生医学

現在、臓器不全の治療には臓器移植や人工臓器の使用が試みられている。しかし、複雑な人間の臓器の機能を完全に代償できるような人工臓器を作成することは困難であり、また、臓器移植はドナー不足、脳死移植、感染、拒絶反応など多くの問題を抱えている。その一方で、最近の分子生物学、発生工学の進歩は著しく、個々の細胞のもつ特性や遺伝情報を利用して、臓器や生物個体を再生することも夢ではなくなっている。なかでも種々の細胞系譜に分化できる能力「多能性」と、多能性を保持したまま増殖する能力「自己複製能」を兼ね備えた幹細胞は体内で組織・臓器の発生・修復・維持に重要な役割を果たしている。そこで、臓器再生の鍵となる幹細胞に焦点を絞り、すべての血液細胞のもとである造血幹細胞や、肝臓の幹細胞を取り出すことを試み、成功している。こういった幹細胞は神経、筋、皮膚、骨、血管など、いろいろな組織・臓器に存在することが明らかになってきており、幹細胞を分離同定してその分化と自己複製を制御することにより、最終的には「試験管の中で臓器を再生する」ことを夢見て研究を続けている。

æ, 幹細胞を利用した疾病モデル・治療モデル

自己複製能および多分化能を有する幹細胞は、遺伝子治療や細胞療法の分野で極めて有用な細胞である。将来的に臨床医学にトランスレーションすることを目指し、幹細胞を利用した新しい治療概念のデザインを試みている。たとえば、免疫系が確立される前の胎児に幹細胞を移植する経子宮的胎児幹細胞移植、血液キメラによる免疫寛容の導入と臓器再生、核移植技術を利用した疾病モデルブタなど、発生工学や免疫学、血液学の手法を駆使した疾病モデル、治療モデルを作成している。

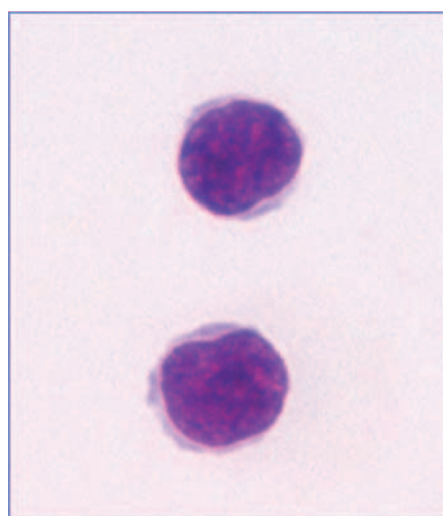


図1
マウス骨髄から分離した造血幹細胞のメイギムザ染色写真。

Figure. 1
May Giemsa staining of the mouse hematopoietic stem cells purified from mouse bone marrow.

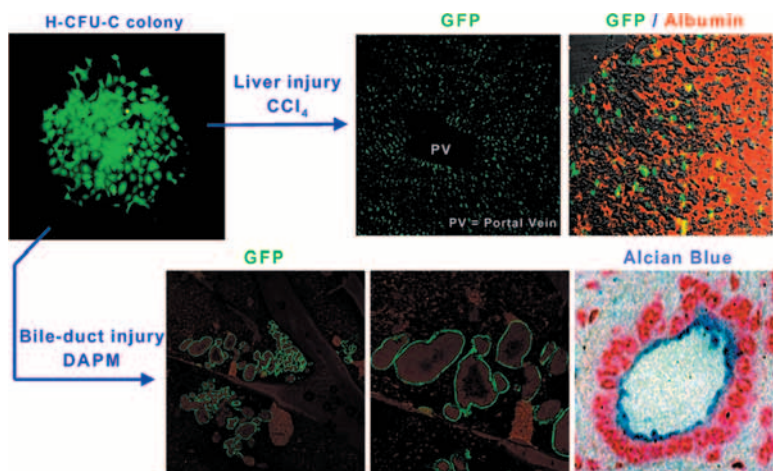


図2
レトロウイルスによってGFPマーキングされた肝幹細胞によるin vivoにおける幹細胞ならびに胆管上皮細胞の再生

Figure. 2
In vivo reconstitution of hepatocytes and biliary epithelial cells by GFP-marked liver stem cells

先端医療研究センター ADVANCED CLINICAL RESEARCH CENTER

3大基幹部門，ヒトゲノム解析センター，ヒト疾患モデル研究センターと協力し，基礎と臨床（附属病院）の橋渡しとなる目的志向型の研究を遂行するセンターである。分子療法，細胞療法，臓器細胞工学，感染症，免疫病態の5つの研究分野，および，細胞プロセッシング（セレス），造血因子探索（中外製薬），ゲノム情報応用診断（大塚製薬）の3つの寄付支援研究部門で構成される。対象疾患や研究内容は時代とともに変化しているが，現時点では造血器腫瘍，HIV/AIDS，自己免疫疾患，固形癌などを対象として，病態解析研究，新しい細胞・遺伝子治療やゲノム医療の開発研究を遂行している。附属病院の少ない診療スタッフを応援しながら，探索的臨床研究（トランスレーショナルリサーチ）の具体的な提案をなし，それらを附属病院において遂行する際の臨床業務にも積極的に加担している。

The Advanced Clinical Research Center (ACRC) performs the purpose oriented research that bridges basic science to clinical medicine through the collaboration with IMSUT Basic Research Divisions, Human Genome Center, and Center for Experimental Medicine. ACRC consists of five Divisions of Molecular Therapy, Cellular Therapy, Infectious Diseases, Bioengineering, and Immunological Pathology, in addition to three donated laboratories of Division of Cell Processing (CERES), Hematopoietic Factors (Chugai), and Genetic Diagnosis (Otsuka). ACRC aims at innovation of clinical technology utilizing newly obtained outcomes from basic researches especially in genomics and regenerative sciences. ACRC proposes definite plans of translational research and actively gets involved in the clinical studies in the Research Hospital. Our diagnostic and therapeutic technologies which we should promote will be changed from time to time. Currently, ACRC has been involved in the translational researches targeting immuno hematological disorders, AIDS and solid tumors.

助教授 医学博士 東 條 有 伸
 助 手 医学博士 曾 田 泰
 助 手 医学博士 大 井 淳

Associate Professor: Arinobu Tojo, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Yasushi Soda, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Jun Ooi, M. D.,

当研究室は臨床部門として医科研付属病院血液・腫瘍内科を抱え、主に白血病・リンパ腫など難治性血液疾患に対する細胞・遺伝子・タンパク質・低分子化合物を利用した新規治療法の開発を目指している。また、その基盤的研究として、細胞生物学および分子生物学的な手法を用いて正常造血機構やその破綻に起因する白血病やリンパ腫など各種病態の解析に取り組んでいる。

æ, 各種ウイルスベクターによる治療遺伝子の導入とその効果に関する前臨床研究：

染色体転座に起因する融合遺伝子の機能は、それを有する白血病細胞の生存維持に重要である。このような白血病特異的融合遺伝子mRNAを選択的に切断するマキシザイムやshRNAの効果を培養細胞のシステムで検討している。例として、BCR ABL mRNAを特異的に切断するマキシザイムやshRNAをレンチウイルスベクターによってPh染色体陽性白血病細胞に導入し、生物学的作用を調べている。レトロウイルスやアデノウイルスなど他のウイルスベクターによる造血細胞への遺伝子導入も検討している。

æ,, 抗体やサイトカインなどのリガンドを用いて標的細胞へ薬剤を特異的に送達するターゲティング技術の開発ならびに分子標的治療薬の前臨床研究：

特定の組織・細胞に発現する接着分子や表面抗原、サイトカイン受容体を指標として抗ガン剤・生理活性物質を供給する細胞標的療法やサイトカインと融合させた細菌毒素を用いてそのレセプター発現細胞のみを駆逐する標的トキシン療法の開発に取り組んでいる。また、白血病細胞に対する新規シグナル伝達阻害剤の効果や移植後の移植片対宿主病に対するサイトカイン合成阻害剤の効果を検討し、これらの臨床応用を模索している。

æ" キメラ遺伝子やテロメラーゼ逆転写酵素遺伝子など腫瘍特異的遺伝子発現を指標とする腫瘍幹細胞の動態解析と治療における分子標的の探索：

悪性腫瘍の効果的・根治的治療のためには腫瘍幹細胞の排除が必要である。そこで、造血器腫瘍、特に白血病の幹細胞の同定とその性状解析を目的としてウイルスベクターによるマーキング技術やフローサイトメトリーを利用した研究を行っている。

æ» 幹～前駆細胞と間葉系細胞の相互作用に基づく正常および異常造血機構の解析：

生体内での造血は正常・異常を問わず、造血微小環境との相互作用によって維持されている。これを試験管内で模倣するため、造血支持能力を有する骨髓由来ストローマ細胞と正常ないし異常造血細胞との共培養系を利用した解析を行っている。薬剤に対する反応性や分化・増殖に及ぼす外来遺伝子発現の影響をこの系で検討している。

The main theme of our research is toward the development of novel therapeutic options against intractable hematological disorders including leukemia and lymphoma. For this purpose, we are making every effort to master the mechanisms of normal and neoplastic hematopoiesis on the basis of molecular and cellular biology.

æ, *Preclinical study of therapeutic gene transfer mediated by various viral vectors:*

We have two main research projects in this field. One is a murine therapeutic model of tumor vaccine secreting GM-CSF (GVAX) in combination with nonmyeloablative allogeneic HSCT. The other is a human experimental model of ribozyme technology for inactivation of leukemogenic fusion mRNA such as BCR ABL.

æ,, *Preclinical study of targeted drug delivery using various cell targeting strategies and novel molecular target agents:*

We are developing various cell targeting strategies using cytokines, adhesion molecules as well as monoclonal antibodies. PEG liposome has been applied for this purpose. In addition, we have made two types of cytokine derivatives by genetic engineering for preclinical study. We are also studying anti leukemic effects of a novel signal transduction inhibitor and anti GvHD effects of a novel cytokine synthesis inhibitor for the future clinical trial.

æ" *Analysis of tumor stem cells and search for molecular targets for their elimination:*

Cure of malignant tumors requires eradication of tumor stem cells. As a representative model for tumor stem cells, we are studying the identification and characterization of leukemia stem cells using cell tracking strategies and flow cytometry.

æ» *Analysis of normal and neoplastic hematopoiesis based on their interaction with microenvironments:*

Not only normal but also neoplastic hematopoiesis can be supported by the specific interaction between stem/progenitor cells and bone marrow microenvironments. To simulate this cell to cell contact *in vitro*, we are using a co culture system in which stem/progenitor cells are overlaid on the layer of hematopoiesis supporting stroma cells. This co culture system is applied for determination of drug sensitivities and gene transfer effects.

教授 医学博士 北村 俊雄
 助教授 医学博士 辻 浩一郎
 助手 医学博士 川島 敏行
 助手 北浦 次郎

Professor: Toshio Kitamura, M. D., D. M. Sc.
 Associate Professor: Kohichiro Tsuji, M. D. D. M. Sc.
 Research Associate: Toshiyuki Kawashima, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Jiro Kitaura

当研究部ではレトロウイルスを利用した効率の良い遺伝子法と機能性発現クローニング法を利用して種々の研究を行っている。現在の研究課題は造血系悪性腫瘍、造血幹細胞、血液細胞の分化増殖などであり、これらの研究を通じて細胞の分化・増殖・癌化の分子機構を明らかにし、分子標的療法など白血病や癌の新しい治療法の開発につなげるのが当研究部の目標である。

æ, 白血病, 骨髄異形成症候群 (MDS), 骨髄増殖性疾患 (MPD) の分子生物学: 白血病, MDS, MPD のモデルマウスを作成し、解析することによって、これらの疾患の発症メカニズムを調べる。最近、MDSにおいて転写因子 AML 1 の突然変異が高率に検出されることが報告された。我々はマウス骨髄移植モデルにおいて変異 AML 1 がどのような病態を引き起こすかを調べている。MDSおよびMPDに関しては、機能性発現クローニング法によって、原因となる遺伝子異常を同定する試みも行っている。

æ, 骨髄ストローマ細胞による造血幹細胞の増幅: 骨髄ストローマ細胞から機能性発現クローニング法により同定した ISF と mKIRRE の過剰発現は骨髄ストローマ細胞に造血幹細胞の増幅活性を賦与する。ISF はプロトンポンプのサブユニット, mKIRRE は免疫グロブリンスーパーファミリーの分子である。ISF と mKIRRE を解析することにより、幹細胞複製の分子機構を調べている。

æ, 低分子 G 蛋白質による細胞分裂と分化の統合的調節: 我々は機能性発現クローニング法によりマクロファージ系細胞の分化関連遺伝子として MgcRacGAP を同定した。その後の研究で、MgcRacGAP は midbody において Aurora B によりリン酸化され、サイトキネシスの終了に重要な働きをすることが明らかになったが、細胞分化との関連は不明であった。最近、我々は MgcRacGAP が転写因子 STAT3 と結合してその転写活性を高めることにより細胞分化を誘導することを見いだした。この結果は MgcRacGAP および Rho ファミリー分子が細胞周期において異なる役割を果たすことを示している。

æ, マスト細胞に発現する新しいレセプター分子群の解析: アレルギーのメカニズムを理解し治療法を開発することを最終的目として、骨髄由来マスト細胞が発現する膜蛋白質および分泌蛋白質をシグナルシーケンストラップ法によりスクリーニングした。NK レセプターファミリーに類似した 6 つのレセプター LMIR1 6 を同定し現在解析中である。

æ, 間質系幹細胞の同定と分化増殖機構の解析: 血管内皮細胞, 骨細胞, 軟骨細胞, 筋細胞等の間質系細胞に分化し得る能力を有する間質系幹細胞は、移植医療における新たな移植片の供給源として注目されている。我々は、骨髄、臍帯血、胎盤中の間質系幹細胞を同定し、その分化増殖機構を解明することにより、種々の間質系細胞の誘導法を開発することを目指している。

Our major interest is to elucidate the mechanisms of leukemogenesis, self renewal of hematopoietic stem cells, and the control of cell division and differentiation. We use retrovirus mediated efficient gene transfer and functional expression cloning for the experiments. Purposes of our research projects are to clarify the underlying mechanisms of cell differentiation, proliferation and transformation, and eventually develop new strategies in the molecular targeted therapy of leukemia and cancer.

1. Molecular aspects of leukemia, myelodysplastic syndromes (MDS) and myeloproliferative disorder (MPD): We are making model mice for leukemia, MDS, and MPD to investigate the etiology of these diseases using the model mice. Recently, it has been reported that mutations in a transcription factor AML 1 are frequently found in MDS patients. We are now setting up experiments in which the mutant AML 1 is transduced to mouse bone marrow cells via retrovirus infection in mouse BMT model. We are also trying to identify causative gene mutations of MDS and MPD by functional expression cloning.

2. Expansion of hematopoietic stem cells by bone marrow derived stroma cells: We identified molecules called ISF and mKIRRE from bone marrow derived stromal cells by expression cloning, both of which endowed stroma cells with the capability to support self renewal of hematopoietic stem cells. Interestingly, ISF turned out to be a subunit of vacuole type ATPase associated proton pump. mKIRRE is a member of the Ig superfamily. The purpose of this project is to understand the molecular mechanisms of self renewal of hematopoietic stem cells through the analysis of ISF and mKIRRE.

3. Co ordinate control of cell division and differentiation by small GTPases: Using retrovirus mediated functional cloning, we identified a GTPase activating protein (GAP) MgcRacGAP/Cyk4 that enhances macrophage differentiation of mouse leukemic M1 cells and human leukemic HL 60 cells. We later found that MgcRacGAP plays critical roles in cell division, completion of cytokinesis. However, the relationship between MgcRacGAP and differentiation was elusive. We have recently found that MaRacGAP binds STAT3 and enhances transcriptional activation of STAT3, implicating STAT3 in MgcRacGAP induced differentiation of M1 cells. Overexpression of MgcRacGAP enhanced transcriptional activation of STAT3 while knockdown of MgcRacGAP by siRNA profoundly suppressed it. Thus, MgcRacGAP/small GTPases play dual roles during cell division and interphase, thereby controlling the cell fate.

4. Analysis of a novel receptor family expressed on mast cells: We searched for membrane and secreted proteins by retrovirus mediated signal sequence trap. The purpose of this project is to understand the mechanisms of allergy and eventually to develop the new therapy. Among 2,400 SST clones, we decided to focus on an NK inhibitory receptor like molecule harboring four ITIM motifs in the intracellular domain. We also identified several related receptors, and named these receptors LMIR1 6.

5. Mesenchymal stem cells, which can differentiate into mesenchymal organ system, such as endothelial cells, osteocytes, chondrocytes and myocytes, are attracting attention as a novel source of therapeutic grafts. We aim at identification of the mesenchymal stem cells in bone marrow, cord blood and placenta, and clarification of the mechanism regulating their proliferation and differentiation to establish a method which supports the development of various mesenchymal cells.

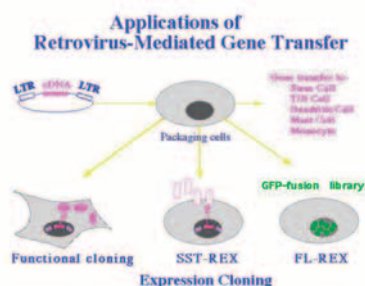


図1 レトロウイルスによる遺伝子導入法への応用

Figure 1 Applications of retrovirus mediated gene transfer

教 授	医学博士	岩 本 愛 吉
助教授	医学博士	北 村 義 浩
助 手	医学博士	藤 井 毅

Professor: Aikichi Iwamoto, M.D., D.M.Sc.,
Associate Professor: Yoshihiro Kitamura, M.D., D.M.Sc.,
Research Associate: Takeshi Fujii, M.D., D.M.Sc.

先端医療研究センター・感染症分野は、附属病院・感染免疫内科の感染症診療に深く関わりながら、微生物学、免疫学、ゲノム医学等の手法を駆使し、感染病態の解析、診断や治療に関する技術開発などを行っている。現在の研究の中心は、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染症とその関連疾患である。日本人の間で流行しているHIV 1の解析を通して、細胞性免疫を賦活する治療ワクチンの臨床試験を附属病院において行っている。また、当研究所で独自に開発されたセンダイウイルスベクターを用いた独自の技術開発や新たな免疫遺伝子治療法の開発を目指している。

æ, HIV 1の感染病態

感染個体内におけるHIV 1の制御には、HIV 1特異的細胞傷害性T細胞(CTL)が重要だと考えられている。CTLは、感染細胞内で分解されたHIV 1由来のたんぱく質のうち主要適合抗原(HLA)クラスⅡ分子上にペプチドとして提示されたものだけを認識する。日本人の約7割が発現しているHLA A24によって提示されるHIVのCTLエピートブ(約12ヶ所)のうち、*nef*遺伝子内部に存在する強いCTLエピートブ(Nef 138-10)に着目し、感染者血漿中のHIV 1の遺伝子断片を解析した。A24の陽性率が20%以下の外国人由来HIV汚染血漿により感染した血友病患者を解析したところ、A24陰性の感染者全員でこのエピートブの2番目のアミノ酸は野生型のチロシン(Y)であり、A24陽性の感染者では1名を除いてフェニルアラニン(F)に変異していた[Nef138-10(2F)]。性感染者においてもA24陽性のほぼ全員において2番目のアミノ酸はFに置換していた。ところが、A24陰性の性感染者の5割で2番目のアミノ酸がFに置換しており、A24陰性のHIV 1感染血友病患者との間に統計的有意差を認めた。この知見は、Y→Fのアミノ酸置換がCTLの選択圧のもとで増殖するために有利な変異であり、この変異を持ったHIV 1が性行為を通じて国内で高頻度に感染していることを示唆している(図)。

æ,, HIV 1関連疾患

HIV 1感染のリスクファクターが血友病と性行為である2群において、他の感染症のマーカーを検索したところ、梅毒HHV 8、HSV 1、CMV、EBV、Toxoplasmaなどの感染既往が、HIV 1性感染者で有意に高かった。一方、HCV、HBVに対する抗体陽性率は血友病患者で有意に高かった。HBV抗原の陽性率に優位差はなかったが、性感染者(15/138=10.9%)、血友病患者(6/102=5.9%)とも一般人口よりはるかに高い陽性率を示した。HIV 1/HBV重感染した性感染者のHBVジェノタイプを解析したところ、アジア型のCではなく、ほぼ全員欧米型のAジェノタイプに感染していた。この結果は、HIV 1のみならず、HBVも性感染により欧米型のウイルスが国内で伝播していることを示唆している。

ae” 医科研で開発されたセンダイウイルスベクターを用いて、HLA A24重鎖を発現するベクター及びCTLエピトープとミクログロブリン遺伝子をリンカーで連結したベクターをそれぞれ構築した。この2つのベクターをCV1などの細胞に重感染することにより、培養上清中にHLA A24複合体のモノマーが分泌され、そこから容易にHLAクラス1、テトラマー分子を作製できる。HIV 1特異的CTLの解析に応用している。

æ, Although Japan is classified as a country with a low prevalence of human immunodeficiency virus type 1 (HIV 1) domestic sexual transmission has been increasing steadily. Because 70% of the Japanese population expresses HLA A24 (genotype HLA A*2402) we wished to assess the effect of the dominant HLA type on the evolution and transmission of HIV 1 among the Japanese population. Twenty three out of 25 A24 positive Japanese patients had a Y to F substitution at the second position [Nef138 10 (2F)] in an immunodominant A24 restricted CTL epitope in their HIV 1 *nef* gene (Nef 138 10). None of 12 A24 negative Japanese hemophiliacs but 9 out of 16 patients infected through unprotected sexual intercourse had Nef138 10 (2F) ($P < 0.01$). Two of two A24 positive but none of six A24 negative Australians had Nef138 10 (2F). Nef138 10 (2F) peptides bound well to the HLA A*2402 heavy chain; however, Nef138 10 (2F) was expressed poorly on the cell surface from the native protein. Thus, HIV 1 with Nef138 10 (2F) appears to be a cytotoxic T lymphocyte escape mutant and has been transmitted frequently by sexual contact among the highly A24 positive Japanese population.

æ₁₁. We compared serological infection markers in two groups of HIV 1 infected individuals; hemophiliacs and sexually transmitted cases. Syphilis, HHV 8, HSV 1, CMV, EBV toxoplasma were more prevalent among sexually transmitted HIV 1 (+) cases, while antibodies against HBV and HCV were more prevalent among hemophiliacs. Although the incidence of HBV antigenemia was not significantly different between the two groups, both had higher incidence than general population. We analyzed HBV genotype in the HIV 1/ HBV (+) individuals and found that the great majority was infected by genotype A instead of genotype C which is the most prevalent HBV genotype in Asian countries including Japan. Genotype A HBV is popular in north America and Europe. Therefore, our results suggest that HBV from western hemisphere was introduced and is circulating in Japan.

a" We cloned the extracellular domain of a human MHC class I heavy chain, HLA A*2402, or human β_2 microglobulin (2m) fused with HLA A*2402 restricted human immunodeficiency virus type 1 (HIV 1) cytotoxic T lymphocyte (CTL) epitopes (e 2m) in separate SeV vectors. When we coinfect nonhuman mammalian cells with the SeVs, naturally folded human MHC class I/peptide complexes were secreted in the culture supernatants. Biotin binding peptide sequences on the C terminus of the heavy chain were used to tetramerize the complexes. These tetramers made in the SeV system recognized specific CD8 positive T cells in peripheral blood mononuclear cells of HIV 1 positive patients with a specificity and sensitivity similar to those of MHC class I tetramers made in *Escherichia coli* system.

Japanese hemophiliacs

HLA-A24 (+)

HLA-A24 (-)

HLA-A24 (+)

HLA-A24 (-)

Pu's ID	nef138-10
	RYPLTFGWCF
A24-0041	-F-----
A24-0030	-----Y
A24-0031	-F-----
A24-0010	-F-C-----
A24-0034	-----C-----
A24-0036	-F-----
A24-0005	-F-----
A24-0029	-F-----
A24-0025	-F-----
A24-0037	-F-----
A24-0035	-F-----
A24-0036	-F-----

Pu's ID	nef138-10
	RYPLTFGWCF
A24-0037	-----
A24-0035	-----
A24-0031	-----
A24-0041	-----
A24-0032	-----
A24-0030	-----C-----
A24-0040	-----
A24-0033	-----
A24-0029	-----
A24-0034	-----
A24-0039	-----C-----
A24-0004	-----C-----

Pu's ID	nef138-10
	RYPLTFGWCF
A24-0004	-----
A24-0007	-F-C-----
A24-0009	-F-----
A24-0010	-F-----
A24-0012	-F-----
A24-0013	-F-----
A24-0016	-----C-----
A24-0017	-F-C-----
A24-0018	-F-----
A24-0021	-F-----
A24-0024	-F-----
A24-0025	-F-----
A24-0026	-F-----

Pu's ID	nef138-10
	RYPLTFGWCF
A24-0025	-----C-----
A24-0023	-----C/Y/F-----
A24-0021	-----
A24-0018	-Y/F-C-----
A24-0017	-Y/F-----
A24-0014	-----
A24-0015	-F-----
A24-0012	-----
A24-0011	-F-----
A24-0010	-----
A24-0009	-F-----
A24-0008	-F-----
A24-0007	-F-----
A24-0005	-F-----
A24-0003	-----
A24-0002	-----

图 1

日本人の極めて多数がHLA A24を発現しており、HLA A24陽性の個体内ではnef遺伝子内のCTLエピトープ(Nef138-10)の第2位のアミノ酸に変異が生じる(Y→F)。HLA A24陰性の個体では、血友病患者と比べて性感染者で高頻度にこの変異が認められた($P<0.01$)。

Fig. 1

The great majority of Japanese expresses HLA A24. HIV 1 replicating in HLA A24(+) individuals has an amino acid substitution at the 2nd position (Y → F) of a CTL epitope in *nef* gene (Nef138-10). The same amino acid substitution was found in HLA A24(-) individuals infected through unprotected sexual intercourse but not in hemophiliacs ($P < 0.01$).

教授 医学博士 田原 秀 晃
講師 医学博士 角 田 卓 也
助手 医学博士 伊 藤 精 彦

Professor: Hideaki Tahara, M. D., Ph. D.
Lecturer: Takuya Tsunoda, M. D., Ph. D.
Research Associate: Akihiko Itoh, M. D., Ph. D.

当研究分野は、付属病院外科診療科および先端医療研究センターの他研究部門と緊密な連帯を持ち、1) 固形腫瘍に対する遺伝子治療および免疫療法の開発、2) 同種移植免疫における寛容誘導法の開発、を主題として研究している。これらの研究成果を基に、がん患者を対象とした早期(第1, 2相)の臨床試験を付属病院において施行することが研究目的である。

固形腫瘍に対する新規遺伝子治療および免疫療法の開発

1. 新規サイトカインを用いた遺伝子治療の開発

我々はこれまでに、インターロイキン18(IL18)は、インターフェロン(IFN)やIL12とは異なった機序で、CD4陽性T細胞やNK細胞を活性化し、強力な抗腫瘍効果をあげたことを証明してきた。IL18を利用した免疫遺伝子治療の開発を目的に、IL18を組み込んだリコンビナントアデノウイルスを腫瘍内に投与し、抗腫瘍効果を検討した。マウス肉腫細胞株であるMCA205を接種した7日後の腫瘍に、IL18リコンビナントアデノウイルスを腫瘍内投与し、抗腫瘍効果およびその作用機序を解析する手法で新しい癌の遺伝子治療の可能性を検討している。

2. In vivo electroporationを用いたFLT3 ligand導入樹状細胞の解析

樹状細胞(DC)を活性化することが知られているFLT3 ligandに注目し、in vivo electroporation法でFLT3 ligandを導入し、DCに対する作用(運動能、増殖能、成熟化、免疫反応)を解析した。In vivo electroporation法でFLT3 ligandを導入すると、10日間血中の高い濃度のFLT3 ligandが維持されることがわかった。脾細胞中および骨髄細胞中のDC数は、コントロール群と比較して有意に増加していた。また、腫瘍近傍のDC数も増加した。これらの結果は、本手法の臨床応用への可能性を示唆するものであり、さらに解析を進めている。

3. DCの効果的な成熟化の解析

DCは腫瘍拒絶抗原を用いた腫瘍免疫療法の中心的な存在である細胞障害性T細胞(CTL)を誘導する強力な抗原提示細胞であることが知られている。エピソードペプチドを用いた臨床試験やその基礎的解析からDCの成熟化が重要であることがわかってきた。成熟化したDCは、共刺激分子を強発現し、IL12などのサイトカインを産生することで強力にCTLを誘導することがわかっていく。しかし、臨床使用可能な成熟化因子は多くないのが現状である。そこで、本邦でBiological Response Modifier(BRM)としてすでに臨床使用されているOK432について、DCの成熟化能を検討し、さらに腫瘍拒絶抗原を用いてCTL誘導能を解析した。コントロールとして、従来DCの成熟因子として使用されているTNFとLPSを用いて、比較検討した。ヒト末梢血単核球(PBMC)よりプラスティック付着細胞を用い、GM-CSFとIL4で未熟DCを誘導し、90%以上の純度のDCであることを確認した。細胞表面抗原の解析では、共刺激分子(CD40, CD80, CD86)は未熟DCと比較して強発現していることがわかった。IFN α およびIL12の産生能は、TNFやLPSを用いて刺激したDCと比較して、OK432刺激DCでは有意に多く産生していることが明らかとなった。一方、IL4やIL10は全く産生していなかった。さらに、CEA由来HLA A24拘束性エピソードペプチドを用い腫瘍特異的CTLの誘導における効果を細胞障害活性およびHLA24ペプチドを用いて検討したところ、OK432刺激DCは有意に強い細胞障害活性を示すCTLを誘導でき、テトラマーでも高頻度に特異的CTLを誘導できていることがわかった。一方、OK432はtoll like receptor(TLR)2やTLR4を用いず、CD18を部分的に用いることでその反応を惹起していることが明らかとなった。以上の解析より、OK432はDCを効果的に成熟化するGMPグレードの刺激因子であることが明らかとなり、臨床的にも応用可能であることがわかった。

4. Th1誘導タイプDCの解析

DCを利用した腫瘍免疫療法において、Th1タイプのサイトカインを産生させるDCを用いることはとても重要である。さらに、in vivoでDCがT細胞を刺激するために、所屬リンパ節に遊走することが重要である。しかし、従来のDC刺激因子であるMCMミミックOK432による刺激だけでは、CCR7の発現が高くなく、遊走能は限られていると考えられる。そこで、OK432刺激DCをさらにプロスタグランジンE2にて刺激することで、DCの共刺激因子の発現やサイトカイン産生能を抑制することなく、CCR7の発現を高め、in vivoにおける最適化DCを誘導できる可能性が示唆された。これらの結果から、世界的に用いられているMCMミミックよりすぐれたDC刺激物質である可能性があり、GMPグレードに対応可能なことから臨床的に有用である可能性が示唆された。

5. RNA導入DCの至適条件の解析

DCに腫瘍抗原を提示し、腫瘍免疫を高める方法として、最近RNAをDCに導入する方法が注目されている。しかし、至適導入法や強い免疫反応を惹起する成熟化DCに導入する条件は確立したものがないのが現状である。そこで、EGFPとlacZをモデル抗原としてRNAのDCへの導入をelectroporation法にて施行し、その条件を検討した。また、導入するDCも成熟化させたDCを用いた。モデル抗原の発現と細胞自身に対する傷害活性から解析すると、300V、500microsecが至適条件であり、24時間後に発現の最大値が得られた。この条件を基に、腫瘍抗原の導入と特異的CTLの誘導を解析している。

6. S1とレンチナンによる新しい免疫化学療法

腫瘍縮小は認めても、化学療法単独では生存に寄与する結果を得ることは困難である。最近注目されている強力な抗腫瘍剤であるS1に免疫部活剤であるレンチナンを併用する免疫化学療法の効果を解析した。Balb/cにColon26を接種したマウスモデルで、レンチナン単独治療ではコントロールとほぼ同じ生存期間であったが、S1を併用すると、S1単独治療と比較すると、優位に生存期間が延長した。これは、ラットを用いた実験でも同様の結果を得た。この抗腫瘍効果を免疫学的に解明する目的で、腫瘍局所のDCを解析したところ、DC数はS1単独治療群とS1+レンチナン治療群で差はなかったが、DCの活性化のマーカーであるCD86陽性DC数がS1+レンチナン治療群で有意に増加していた。また、併用群の脾細胞由来DCのT細胞刺激能も有意に強力であることがわかった。以上より、免疫化学療法の抗腫瘍効果増強にはDCが関与している可能性が考えられた。

Our department has two major goals in basic research; 1) Development of innovative cancer therapy using immunologic approaches and gene therapy strategies, and 2) Mechanistic study on transplantation immunology to further develop clinical transplantation.

Development of innovative cancer therapy

1. Induction of anti-tumor immunity using intra-tumor administration of adenoviral vector expressing biologically active IL 18
We have reported that interleukin (IL) 18 has potent antitumor effects mediated by CD4⁺ T cells and NK cells, but in IFN- γ - and IL 12 independent pathways. In order to develop IL 18 cancer gene therapy, we have investigated the in vivo antitumor effects of intratumoral administration of an adenoviral vector expressing biologically active murine IL 18. Substantial antitumor effects were observed when established MCA205 fibrosarcoma was treated in syngeneic immunocompetent mice with intratumoral injection of Ad.PTH.IL 18. This study suggests that intratumoral administration of an adenoviral vector expressing biologically active murine IL 18 could be a new strategy of gene therapy in the clinical setting to treat patients with cancer.

2. In vivo electroporation of human FLT3 Ligand plasmid DNA induce effectively mobilize and activate dendritic cells in situ
We have established the genetically modified DC to regulate the immune response. We have also focused on FLT3 Ligand, a recently reported cytokine, is a stimulator for proliferation and differentiation of DC not only in vitro but in vivo. In this study, we evaluated the effects of FLT3 Ligand on DC mobilization, proliferation, maturation and immune response using in vivo electroporation (IVE). After FLT3 Ligand transfection using IVE, significantly high level of FLT3 Ligand was detected in the serum during 10 days after IVE. The frequency of DC both in spleen and bone marrow significantly was increased after FLT3 Ligand IVE when compared with those of control group. In mouse tumor model, FLT3 Ligand IVE induced the migration of dendritic cells to local tumor site that was associated with proliferation and mobilization of DC. These results implied that FLT3 Ligand gene transfer using IVE could utilize to the clinical application for cancer gene therapy.

3. Dendritic cells stimulated with a bacterial product, OK 432, efficiently induce cytotoxic T lymphocytes specific to tumor rejection peptide

Dendritic cells (DC) are potent antigen presenting cells which has recently been used for cancer immunotherapy using epitope peptides derived from tumor rejection antigens. Accumulating results of the clinical trial of such strategy suggest that maturation of the DCs applied is one of the key factors which influence the outcome of the vaccination. It has been suggested that DCs need to have "mature" phenotype which is capable of inducing cytotoxic T cells (CTL) efficiently. The characteristics of the mature DCs (mDCs) include high expression of MHC and co-stimulatory molecules and the production of IL 12. In this study, we examined the effects of penicillin-killed *Streptococcus pyogenes* (OK 432, clinical grade in Japan) on DC maturation. Furthermore, we also examined the potency of OK 432 stimulated DCs on the induction of CTLs specific to the epitope peptide. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained from healthy donors, selected by the adherence, and cultured in AIM-V medium supplemented with 1000U/ml of GM-CSF and 1000U/ml of IL 4 for 5-7 days. Phenotypic analysis on them showed that more than 90% of prepared cells showed the immunophenotype consistent with immature DC (iDC). These iDC were divided into 4 groups and cultured further in AIM-V containing following agents: A. AIM-V alone, B. TNF- α (100ng/ml), C. LPS (100ng/ml), D. OK 432 (10 μ g/ml) (OK-DC). After 72 hours, cells were harvested and surface phenotypes and cytokine production using FACS and ELISA respectively. DCs in groups B, C, and D showed significantly higher CD83 expression (B, 85.9%; C, 84.7%; D, 61.0%) when compared with control (A, 3.82%). Furthermore, DCs in group D showed significantly higher production of IL 12 (40.7 \pm 3.1ng/ml) and IFN- γ (976.8 \pm 272.6pg/ml) when compared with those of other groups. These results indicate that OK 432 could promote the maturation of iDC to produce significant amount of Th1 type cytokines. To examine the influence of the OK 432 on the induction of peptide specific CTLs, CE3 (HLA-A*2402 restricted 9mer peptide derived from Carcinoembryonic antigen, TYACFVSNL) was used for inducing peptide specific CTLs. The ⁵¹Cr-chromium-releasing assay and the tetramer assay of the CD8⁺ T cells showed that highest cytotoxic activity and highest CTL frequency were induced with OK-DC stimulation. Furthermore, we investigated the signaling pathway of OK 432 using the TLR indicator cell lines and the blocking antibodies. These results showed that OK 432 does not use either TLR2 or TLR4, but the α 2 integrin for the stimulation. These results strongly suggest that OK 432 could be a useful agent for peptide-based cancer vaccine using DCs.

4. Generation of mature dendritic cells fully capable of T helper type 1 polarization using OK 432 combined with prostaglandin E2

Dendritic cell (DC) administration appears to be a very promising approach as the immunotherapy of cancer. The results of clinical studies have been suggested that the nature and the magnitude of antitumor immune responses are critically affected by DC functions including production of Th1-inducing cytokines, activation of the T cell subsets and NK cells, and migration from peripheral tissues to T cell area of the draining lymph nodes. Administration of immature DCs could fail to fully stimulate antigen-specific immune responses and might induce tolerance in some conditions. In this study, we developed the measures to obtain fully mature DCs and compared in detail with the effects of maturation stimulus termed MCM-mimic, which is a mixture of recombinant cytokines and PGE2 mimicking the content of monocyte-conditioned medium. Using DCs derived from monocytes of advanced cancer patients in this study, we have shown DCs stimulated with OK 432 alone showed phenotypes similar to those of mature DCs induced using MCM-mimic with secreted level of IL 6 and IL 12. However, these DCs were found to have poor migratory capacity associated with the marginal expression of CCR7. When OK 432 was combined with PGE2, CCR7 expression and migratory capacity of DCs were significantly improved without impairing other immuno-stimulatory functions. These results suggest that OK 432 stimulation combined with PGE2 could be applicable as an alternative to MCM-mimic in clinical trials, which require fully matured DCs to induce Th1-type immune responses against tumor cells even in the patients with advanced cancer.

5. Optimal condition for RNA transfection of dendritic cells using electroporation

Dendritic cells are professional antigen presenting cells that can efficiently activate antigen-specific T cells. Various strategies have been investigated to load antigens on the dendritic cell for efficient CTL induction. Recent reports have shown that strong immune responses can be induced by dendritic cells transfected with RNA coding tumor-associated antigens using electroporation. However, the optimal condition of RNA transfection with electroporation is still controversial. We examined various conditions of RNA electroporation for dendritic cells to determine the optimal conditions for expression. We used EGFP RNA transcribed in vitro from pTNT/EGFP and pGEM4Z/EGFP/A64, and lacZ RNA transcribed in vitro from pTNT/lacZ and pGEM4Z/lacZ/A64. In vitro transcribed RNA was transfected into day 7 bone marrow derived dendritic cells of C57 BL/6 mouse with electroporation. The 5x10⁶ cells in 200 microliter Opti-MEM (Invitrogen) were electroporated with RNA in 0.2 cm gapped cuvette. Multiple conditions of voltage, pulse length, number of pulse and RNA amount were examined ranging between 200-1000V, 150-3000 microsec, 1-5 pulses and 0-50 microg, respectively. Effects of OK 432 or LPS on EGFP expression in transfected dendritic cell were also examined. Flow cytometry and X-gal staining showed the expression of EGFP and β -galactosidase in dendritic cells electroporated with EGFP and lacZ RNA transcribed in vitro, respectively. The EGFP expression was better with capped RNA than with RNA including β -globin leader sequence or with uncapped RNA. The best efficiency with minor cell damage of electroporation was obtained under conditions of 300V, 500 microsec and one pulse. The EGFP expression reached a plateau in DC transfected with 25 microg of capped of EGFP RNA. The EGFP expression was detected at 12 hr after electroporation, and was at its peak at 24 hr after electroporation. Stimulation with LPS or OK 432 was associated with increased EGFP expression. We demonstrated that RNA of interest could be efficiently transfected and expressed with electroporation only with well-examined specific conditions.

6. Development of novel chemotherapeutic therapy using S1 and Lentinan

Cancer chemotherapy has limitations that it is difficult to obtain survival benefit, even if the tumor regression was accomplished temporarily. Combine usage of biological response modifier with anti-cancer drug, so called "chemoimmunotherapy", has been paid attention to these effects and benefits. However, little is known about the mechanisms. This investigation was conducted to clarify the mechanisms of synergistic effect of α -glucan, Lentinan, and a novel oral anti-cancer drug, S1, in cancer cachexic mouse model. On the hypothesis that α -glucan, Lentinan will be able to enhance the phagocytic efficiency of dendritic cells, we have been trying to break the peripheral T cell tolerance toward tumor self antigen, CEA, expressed by MC 38 stably transduced with CEA in C57BL/6J mice transgenic for CEA.

教授 医学博士 森 本 幾 夫
 助教授 医学博士 田 中 廣 壽
 助手 医学博士 河 崎 寛 治
 助手 医学博士 細 野 治

Professor: Chikao Morimoto, M. D., D. M. Sc.,
 Associate Professor: Hirotohi Tanaka, M. D., D. M. Sc.,
 Research Associate: Hiroshi Kawasaki, M. D., D. M. Sc.,
 Research Associate: Osamu Hosono, M. D., D. M. Sc.,

平成12年4月先端医療研究センターに新設された免疫病態分野は、膠原病を中心とする自己免疫疾患、免疫異常症、免疫不全症などの診療や先端治療開発をめざす。研究面では特にリンパ球表面に発現される機能分子の構造と機能及び炎症に関する転写因子や核内レセプターの免疫機能制御機構を細胞生物学、分子生物学手段や遺伝子工学的手段を用いて明らかにする。得られた知見を切り口として上記の難治性疾患の病態を細胞・分子・遺伝子レベルで明らかにし、それに基づく先端医療開発に努める。現在進行中のプロジェクトは以下のとおりである。

1) CD26/DPPIVの構造と機能の解明と創薬への応用

CD26分子の結合蛋白としてマンノース6リン酸/インスリン様増殖因子 受容体(M6P/IGFIR)、カベオリン、CD45、さらに自己抗原であるRo52/SSAを見出した。それらの結合ドメインの決定、その結合による生物学的意義及びそれらの蛋白-蛋白相互作用の阻害による免疫制御薬の開発をめざす。さらにヒト型CD26抗体を用いたCD26陽性腫瘍、自己免疫疾患、GVHDの治療開発、及び抗原特異的免疫増強作用及び化学療法剤の感受性増強作用の存在する可溶性CD26の免疫不全症及び悪性腫瘍への治療をめざした先端治療開発をめざす。

2) Cas L (Crk associated substrate lymphocyte type) の生物学的機能の解明とその治療応用

リンパ球において、1インテグリンの下流に位置する細胞内シグナル伝達蛋白である、Cas L (Crk associated substrate lymphocyte type) と相互作用する系として、TGF betaからのシグナル伝達系と、NF kappaB経路を見出した。これらの経路を構成する蛋白質とCas Lとの相互作用・構造活性相関の解析を通じて、種々の癌や、自己免疫疾患、骨粗鬆症への治療応用の可能性を探索する。また、Cas Lノックアウトマウスを作成し、その生物学的作用を検討する。

3) 核内レセプターの分子生物学的研究と創薬への応用

グルココルチコイドレセプターなどの核内レセプターによる転写調節機構を解明し、作用分離型核内レセプター作動薬を創成することをめざす。

4) 酸素分圧による遺伝子発現制御機構の解明と臨床応用

低酸素応答性転写因子などをモデルに、酸素分圧による転写制御機構を究明し、虚血性心疾患、悪性腫瘍、糖尿病性網膜症、関節リウマチなどの疾患病態の理解をめざす。

5) NF B活性化機構の解明

炎症、免疫応答に関連する遺伝子の発現をコントロールする転写因子の代表であるNF Bに焦点をあて、新たな活性化機構を究明し治療薬開発へと展開させる。

6) IL 12受容体、IL 23受容体の構造と機能

IL 12受容体に対する単クローン抗体を作製し、マクロファージ、樹状細胞にも機能的IL 12受容体が存在し、広範に分布することを指摘した。さらにIL 23受容体機能の統御を通じて免疫応答調節を目標とする。

7) ケモカイン受容体等 7 回膜貫通型受容体の構造と機能

受容体への単クローン抗体の作製により、樹状細胞にも多くのケモカイン受容体が発現し、炎症反応の進展維持に寄与していることを報告した。同様の見地からプロスタグランジンの炎症への関与を追求すべく、プロスタグランジン受容体の免疫担当細胞での発現を解析する。

Our division was founded in 2000 at the Advanced Clinical Research Center to provide medical treatment and care for autoimmune diseases and other immune mediated disorders as well as to develop the advanced therapy to cure the above diseases. Our research purpose is to determine the structure and function of cell surface molecules expressed by human lymphocytes as well as the regulatory mechanisms of transcriptional factors involved in immune function and other important cellular functions and thereby to understand how the immune systems work. Through such novel insights, we attempted to elucidate immunopathophysiology of the above immunological disorders on the cellular, molecular and genetic levels and ultimately to establish the novel rational therapies for them. Ongoing projects are as follows;

- 1) We have identified M6P/IGFIR receptor, Caveolin, CD45 and Ro 52/SSA as the binding protein for CD26. We are now determining the precise binding domain of CD26 with these proteins and the biological significance of these proteins. Utilizing the above system, we will develop the immunoregulatory drugs which inhibit these interactions. Moreover, we are developing human CD26 monoclonal antibodies to treat CD26 positive tumors, autoimmune diseases and GVHD. Moreover, we plan to establish the novel therapy to treat immune deficiency diseases for restoring antigen specific immune response and malignant tumors with enhancing sensitivity to chemotherapeutic agents utilizing soluble CD26.
- 2) Cas L (Crk associated substrate lymphocyte type) is a docking protein downstream to beta 1 integrins. We have found that Cas L is associated with TGF beta mediated signaling pathway and NF kappaB pathway. Through the analysis on the protein-protein interaction between components of these two signaling pathways and Cas L, we aim at exploring the possible therapeutic application of Cas L or its related products in the treatment of malignancies, autoimmune diseases, and osteoporosis. By utilizing gene targeting approach, we aim at determination of further the biological functions of Cas L.
- 3) Molecular biology of nuclear receptors: We have been working with transcriptional regulation of gene expression by nuclear receptors. Mainly we will focus on the glucocorticoid receptor and pharmacologically develop selective modulator of receptor function.
- 4) Conditional regulation of gene expression by the hypoxia inducible factor: We are currently working with the hypoxia inducible factors, which are members of the basic helix loop helix PAS transcription factor. Our aim is identification of its activation pathway and application to various angiogenic diseases including ischemic vascular diseases, cancers, diabetic retinopathy, and rheumatoid arthritis.
- 5) Transcriptional regulation by NF kappaB: NF kappaB is considered to be a major player which activates a set of genes in inflammatory conditions and immune reactions. We have recently identified novel activation mechanism of NF kappaB. Further studies will merit to develop novel antiinflammatory and/or immunosuppressive drugs.
- 6) Structure and function of human IL 12 and IL 23 receptors: We developed a panel of monoclonal antibodies against the IL 12 receptor and elucidated the expression of this receptor in macrophage and dendritic cell lineage. We plan to manipulate immune response through controlling this interesting receptor system.
- 7) Structure and function of human chemokine receptors and other 7 spanner type receptors: We showed the expression of chemokine receptors was crucial to antigen presentation by dendritic cells. Preliminarily, receptors for prostaglandins, similar 7 transmembrane spanner type receptor to chemokine receptor were expressed in various inflammatory sites. Analysis of prostaglandin receptors in immunocytes is under extensive study.

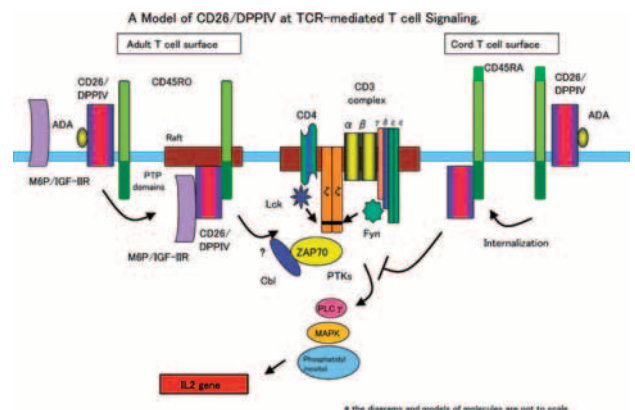


図 CD26/DPPIV分子の成人及び臍帯血T細胞受容体由来シグナルモデルについて

Fig. A model of CD26/DPPIV at TCR mediated T cell signaling in adult and cord blood

教授 理学修士 清水 哲 男

Professor: Tetsuo Shimizu, M.Sc.

æ, 病院情報化システムの研究

遺伝子診断や遺伝子治療を含む、いわゆるオーダーメイド医療においては、現在の病院情報システム（HIS：Hospital Information System）を中心として、臨床情報システム（CIS：Clinical Information System）を含めた情報処理ネットワーク管理技術が不可欠です。また、日常の医療業務の安全や、先端医療のための治験の安全を確保するためにも、正確な投薬や治療実施履歴の管理を行い、薬剤の過剰投与や副作用を防止し、また医療ミスを事前にチェックする「しくみ」を工夫し実現しなければなりません。こうした医療応用情報処理ネットワーク技術の根幹として、患者さんのプライバシー情報の秘匿技術や、EBM（Evidence Based Medicine：科学的根拠に基づく医療）を目指したデータウェア・ハウスシステム技術の研究を行います。

æ,, 血液・免疫系生体シミュレーション技術開発に関する研究

血液系免疫系疾患の病理解明のために、医科学研究所内外に蓄積されつつある遺伝子データベースおよびタンパク質データベースを活用し、血液系の細胞分化や免疫系の機能発現のpathwayのBioinformaticsシミュレーションを行います。こうした技術は、Bioinformaticsの臨床応用の先駆けとなるものであり、また、この技術の発展形であるin silicoでの多細胞シミュレーション実験システムは、将来の巨大なIT分野となるであろうBioGRIDコンピューティングの重要なコンテンツとなると予想されます。

æ", 細胞内ネットワークの実験的解析研究

遺伝子診断や遺伝子治療を含む将来の最先端医療においては、患者さんの安全を確保するために、その一部の細胞を利用した細胞スクリーニングによる検査や治験を行う必要があります。そのために、細胞形状の自動認識技術や、細胞へのcDNA等の生体分子のインジェクションシステムの研究、あるいは、血液系免疫系細胞のフローを利用した分離制御技術を研究します。これらの技術は、将来の血液工場やワクチン製造のための基本となることが期待されています。

The purpose of the Division of Medical Data Processing Network System for the Research Hospital is to research and develop advanced system methodology and computer technology suitable for the 21 th century type research hospital. Some conceptual research programs and targets of our division are described as follows.

Systematic Research for the Ideal 21 the Century type Hospital.

National cost for Japanese health now amounts up to 3000 billion yen per year. Medical accidents and insufficient or surplus medical cares cause serious social problems. These facts need EBM (Evidence Based Medicine) and need to research and develop the most appropriated clinical database and their processing system.

Systematic Research for Genomic Diagnoses.

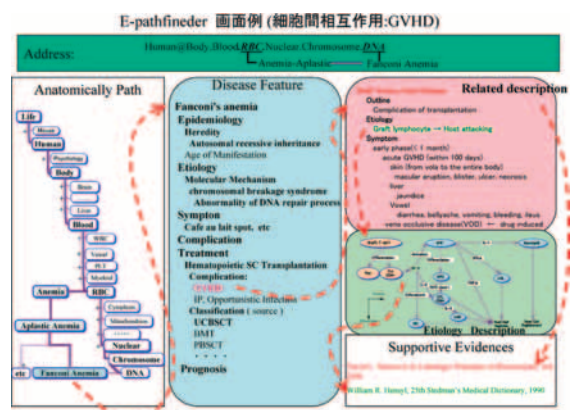
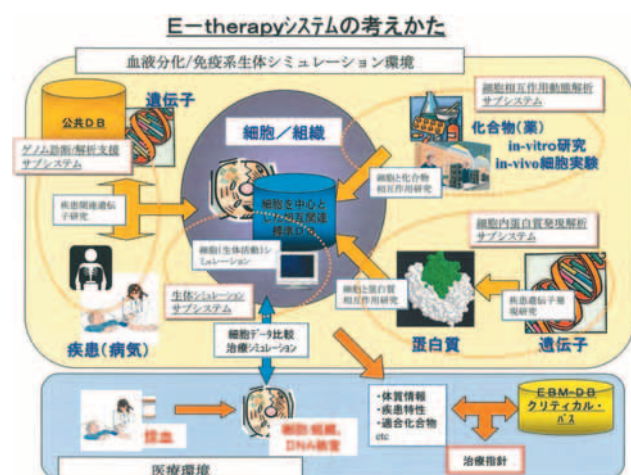
Many research projects started to study genomic disease in Japan. For the clinical application of these results, systematic studies are necessary how to integrate the genomic database and clinical data as well as new computer simulation algorithm.

Systematic Research for Data Processing of Advanced Medical Instruments.

Cancer or infection disease are main target of medical science, although mechanism of genomic diseases are gradually made clear. Data processing methodology and algorithm for MRI, X ray CT, and PET are important research targets.

Systematic Research for Human Cell Engineering Technologies.

Pattern recognition and control technologies of human cell and microscopic cell organs are very important for genomic sciences to be useful for clinical applications.



教授 農学博士 甲 斐 知恵子
講師 農学博士 小 原 恭 子
助手 農学博士 三 浦 竜 一
助手 農学博士 米 田 美佐子

Professor: Chieko Kai, D. V. M., Ph. D.
Lecturer: Kyoko Tsukiyama-Kohara, D. V. M., Ph. D.
Research Associate: Ryuichi Miura, Ph. D.
Research Associate: Misako Yoneda, D. V. M., Ph. D.

RNAウイルスの病原性発現機構および種特異性決定機構を解明し、ウイルス病の発症や流行を防御することを目指している。そのためにウイルスの複製や伝播機構、それに必要な生体内因子などについて、分子レベルから個体レベルに至る一連の研究を手掛けている。さらに新しいワクチンやウイルスベクターの開発も行っている。一方では遺伝的疾患モデルを用いた神経病変発現機構の解析を行っている。具体的テーマは以下に示した。

ae, モノネガウイルス感染症の病原性および種特異性の分子機構
我々は、(鎖一本鎖RNAウイルス(モノネガウイルス)であるモービリウイルス(麻疹ウイルス: MV, 牛痘ウイルス: RPV, 犬ジステンパーウイルス: CDV)においてcDNAからウイルスを作出し、遺伝子操作を可能にしている。特にイヌや宿主域を越えて野生動物界でのエマージングウイルスとして問題となったCDVではこのリバースジェネティクス系の樹立に初めて成功しMV, RPVでも確立した。モービリウイルスは致死率も高く、免疫抑制や免疫攪乱、持続感染と再活性化、種を越えた伝播など多くの問題を持ち、それぞれの宿主で最も重要な疾病の一つである。我々はそれぞれに対して自然な病態を再現する世界でもまれな動物感染実験モデル系を確立し、これらの比較研究によりヒトの疾患を総合的に理解する基礎研究を行っている。最近新しい遺伝子操作系を開発したことによって、遺伝子から個体に至る病原性発現や種特異性機構の研究を可能にした。これらを用い、ウイルス複製機構や病原性発現機構に関わるウイルス遺伝子および生体側因子の解明を目指して研究を進めている。

ae,, モービリウイルスを用いた新しいウイルスワクチンおよびベクターの開発

モノネガウイルスの特徴を生かし、新手法の遺伝子改変により人為的弱毒化、多価ワクチンおよび新型ワクチンの開発、さらに新しいウイルスベクターの可能性も研究している。

ae" C型肝炎ウイルス(HCV)の腫瘍原性発現機構の解析
宿主遺伝子に組込まれることなく持続感染し高率に肝癌に結び

つくHCVの発症機序解明をめざしている。

ae>> 遺伝的疾患ラットを用いた海綿状脳症発現機構の解明

附属する実験動物センターではトランスジェニックやノックアウトマウスを中心とした約3万頭のマウスが維持され、技術スタッフが飼育管理し、受精卵による凍結保存、微生物学的クリーニングを行っている。

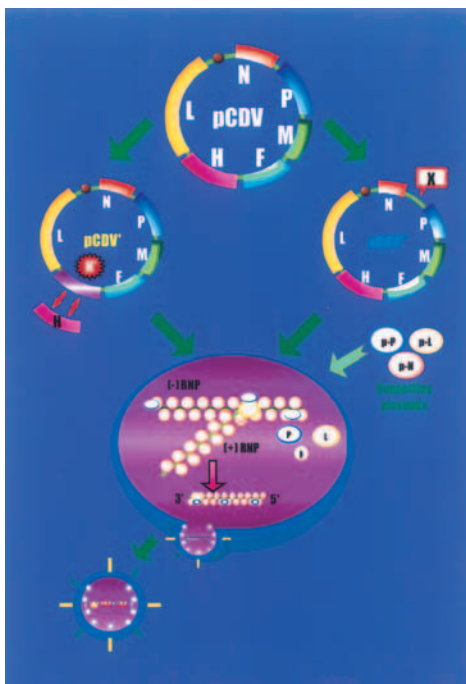


図1 CDVのリバースジェネティクス系の概略図

Fig. 1 Model of reverse genetics for CDV

Our major research interests are to elucidate molecular mechanisms of pathogenicity and species specificity of negative and single strand RNA viruses (*Mononegavirales*) and to control the viral diseases. For these purposes, we are studying viral replication and identifying viral and host factors important for the expression of pathogenicity using a reverse genetics technique novel in this field and experimental animal models. We are also developing new virus vaccines and virus vectors through genetic engineering.

ae, Molecular mechanisms of pathogenicity and species specificity of mononegavirales.

We are using our novel system which allows morbillivirus (measles virus: MV, rinderpest virus: RPV, canine distemper virus: CDV) generation from cDNA and thus enables engineering of the mononegavirales. Morbilliviruses are highly contagious. They show various pathogenicity and are considered one of the most important causative agents of disease in each host. We are investigating the roles of virus components and host factors including virus receptors in viral replication, pathogenicity and species specificity. These mechanisms were also analyzed in experimental animal models, which show typical symptoms usually observed in naturally affected hosts.

ae,, Development of new virus vaccines against morbilliviruses and of virus vectors.

Using our novel technique of genetic engineering, we are developing attenuated and/or polyvalent vaccines. We are also attempting to use the viruses as novel vectors.

ae" Molecular analysis of hepatocarcinogenesis suffered by hepatitis C virus (HCV).

ae>> Mechanisms of developing pathological degeneration in the central nervous system.

Using rodent models which genetically show nervous symptoms with spongy form degeneration in CNS, we are analyzing the mechanisms of cell death and the molecular basis.

In the animal research center, more than 30,000 mice, mainly transgenic and knockout ones, are kept for the research of IMSUT. The technical staffs support their breeding, frozen storage and microbiological cleaning.

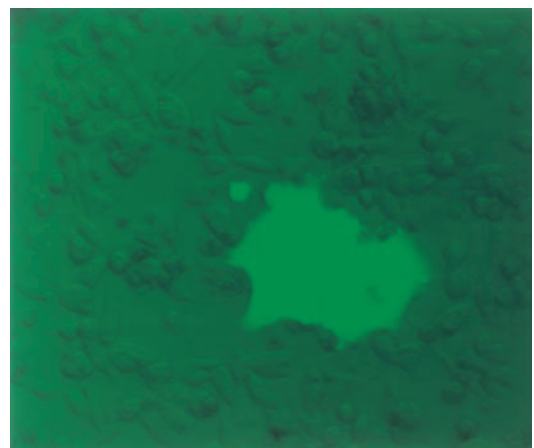


図2 GFP遺伝子を挿入した組換えCDVの感染によって形成された多核巨細胞に見られたGFPの発光。

Fig. 2 Induction of fluorescence in syncytium infected with recombinant CDV with GFP gene

教授 医学博士 斎藤 泉
 助手 医学博士 鐘ヶ江 裕美

Professor: Izumu Saito, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Yumi Kanegae, D. V. M., Ph. D.

当施設は組換えDNA研究の推進に資するためのサービス部であり、また先導的研究として、ゲノムプロジェクトなどにより分離同定された遺伝子をいかに社会に役立てるか、特に遺伝子治療の基礎を確立する新しい技術の開発を中心研究課題としている。

æ, 非増殖型アデノウイルス発現ベクターの遺伝子治療への応用
 アデノウイルスベクターは、極めて広い範囲の動物種・組織で目的遺伝子を高効率・同期的に発現させる事ができ、錠剤性ワクチンへの応用も行われてきている。1) 癌の遺伝子治療の開発。2) AIDS等感染症の遺伝子治療・ワクチン化の基礎研究。3) 遺伝病治療の動物実験。4) 神経・免疫組織等で発現できるベクターの作成。5) 迅速な組換えウイルス作成法の確立, などを所内外との共同研究で進めている。

æ,, 業務

組換え実験の安全確保を業務として行っている。

This laboratory has two main aims: Developing efficient expression vectors for gene therapy and for basic research, and offering general services to promote recombinant DNA technology.

æ, Basic research for gene therapy: application of adenovirus expression vectors. Adenovirus vectors are useful to express a foreign gene in a considerably wide range of species and tissues. This vector is also valuable in animal experiments and in development of live vaccine administrated by tablets. Collaborative projects are going on aiming the following respects by supplying recombinant adenoviruses from this laboratory: a) basic research on gene therapy against cancer, infectious disease such as AIDS and hereditary diseases, b) recombinant adenovirus live vaccine. c) adenovirus vectors suitable for expression in the nervous and immunological systems, d) rapid methods to construct recombinant adenoviruses.

æ,, Services to promote recombinant DNA technology. Advice on gene manipulation DNA experiments under the safety guidelines.

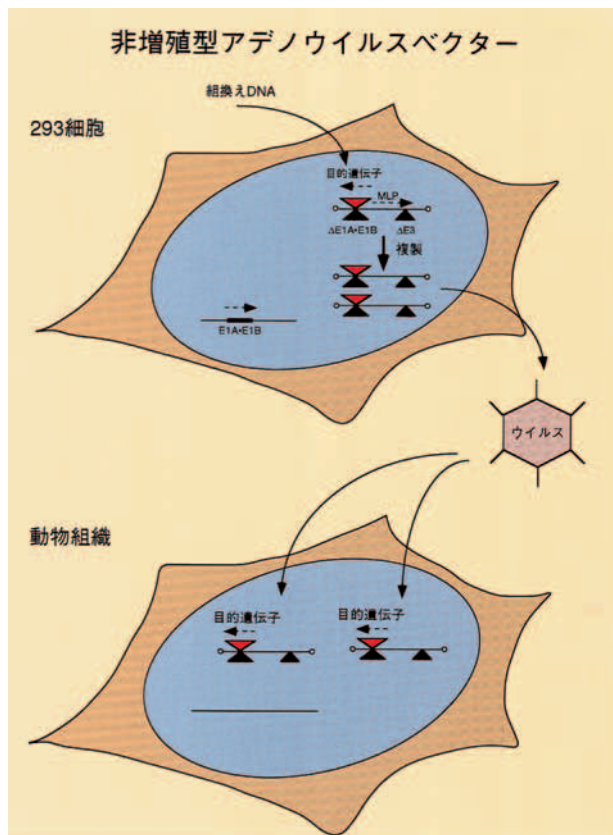


図1 非増殖型アデノウイルス発現ベクター

Fig. 1 EIA deficient adenovirus expression vector

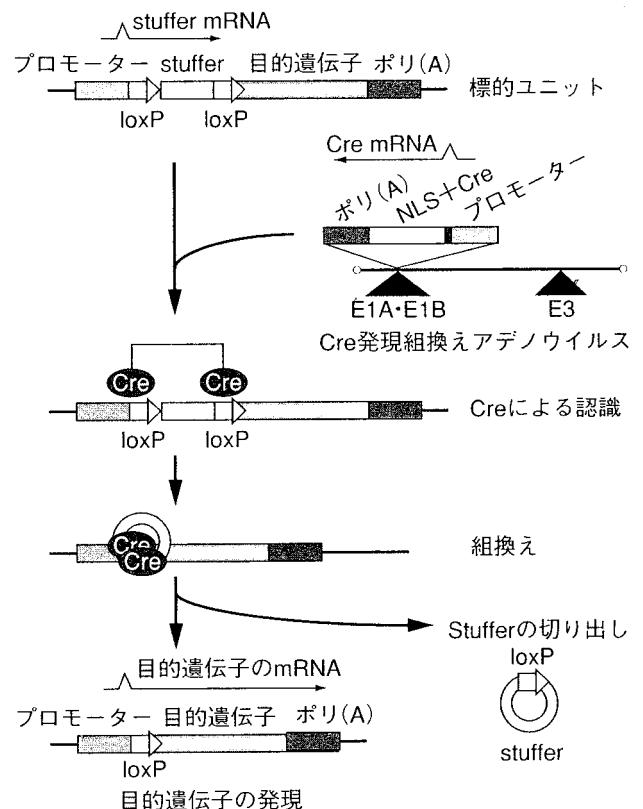


図2 組換えアデノウイルスを用いたCre/loxP系による発現制御系

Fig. 2 Regulation of gene expression using recombinant adenovirus producing Cre recombinase.

教授 農学博士 甲 斐 知恵子
 助教授 農学博士 服 部 正 策

Professor: Chieko Kai, D.V.M., Ph. D.
 Associate Professor: Shosaku Hattori, D.V.M., Ph. D.

奄美病害動物研究施設は昭和40年に南西諸島の奄美大島に設置された。設置目的は、亜熱帯に位置する奄美大島で、熱帯性風土病の対策研究を行うことほかに、東洋区に属する同地域の動物の医学的研究を行うことであった。

【ハブに関する研究】

ハブは奄美大島、徳之島、沖縄本島およびその周辺の島々に分布する大型の毒蛇で、南西諸島では年間200名近い咬症患者が発生している。住環境内のハブの個体数を減らすことを目的としたモデル研究を行い、咬症者は次第に減少してきている。また、ハブ自身ももつハブ毒に対するインヒビターの応用研究では、出血毒や筋壊死毒に対する阻害活性を持つ蛋白質が明らかになっている。

【リスザルの人工繁殖】

現在ではワシントン条約などの動植物の保護条約の発効により、実験用霊長類の輸入はきわめて難しい情勢になっている。本施設では小型で温和な性質の実験用霊長類として南米原産のリスザルの人工繁殖を行っている。現在は、熱帯に多くの患者を抱えるマラリアの感染モデル動物として有用性が期待されている。

【野生動物の関する研究】

奄美大島から沖縄にかけて生息する動物はアジア南部に生息する東洋区の動物と同じ起源を持つ種類が多く、旧北区に属する日本本土の動物とは異なっている。アマミノクロウサギやトゲネズミ、ケナガネズミなどは中新世の遺残種として他の地域には見られない遺伝的形質を持っている。これらの固有種を生物学的資源としてとらえ、その遺伝的特性や生物学的特性を解明することは、奄美大島全体の生物多様性の保護などにも貢献できると期待されている。

また最近移入種として定着したマングースの生態系に与える影響調査も、ハブの個体数動向との関係から研究を行っている。

【霊長類を用いた感染実験】

リスザルを中心とする霊長類を用いた病原体の感染実験施設が完備した。現在麻疹ウイルスを中心とした病原性解析が行なわれている。

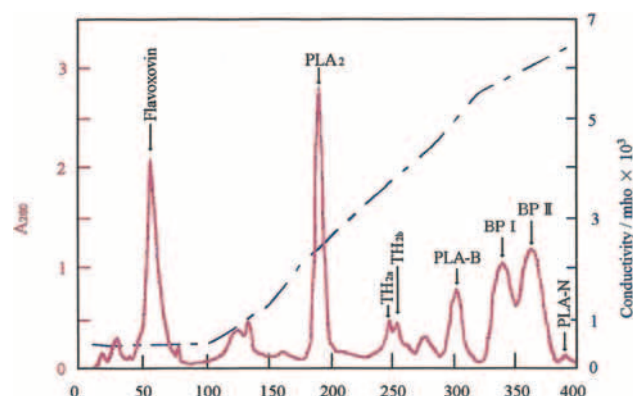


図1 ハブ毒のカラムクロマトグラフィー (Chromatography of venom proteins from Habu)

This Laboratory was established in 1965 in Amami oshima Island in order to study on endemic diseases involving parasite, arthropods, and venomous snakes in the tropics or subtropics.

The Amami oshima Island belongs to the Nansei Islands and the fauna is quite different from that in mainland of Japan. Since its establishment, trials have been carried out to utilize small mammals found unique in the island as experimental animals in addition to studies on prevention of Habu bites. As well known, successful eradication of filariasis from this island is one of the monumental works of the laboratory. Our present works are as follows:

1) Research of Habu control.

Phospholipase A2 and its isozymes isolated from Habu venom have myonecrotic activity and hemorrhagic activity, and T2 protease has hemorrhagic activity. The binding proteins isolated from serum of Habu inhibit myonecrotic activity of phospholipase A2 and its isozymes.

2) Reproduction of squirrel monkeys.

The squirrel monkey, *Saimiri sciurea*, is widely distributed in Central and South America. This monkeys are used to basic experiments on the infection and vaccination models for malaria.

3) Research of wild animals

Amami oshima Island is a habitat of animals and plants indigenous to the Nansei Islands. These animals occur originally in the Oriental region, including the Amami rabbit, the Amami spiny rat, the Okinawa long haired rat.

Recently, the Java mongoose, *Herpetologica javanicus* grew in the wild as invasive carnivore. The population of the mongoose increases year by year and the habitat range is extending to south area in the Island. It is necessary to remove the invader to defend nature.

4) Infection experiment using the primates.

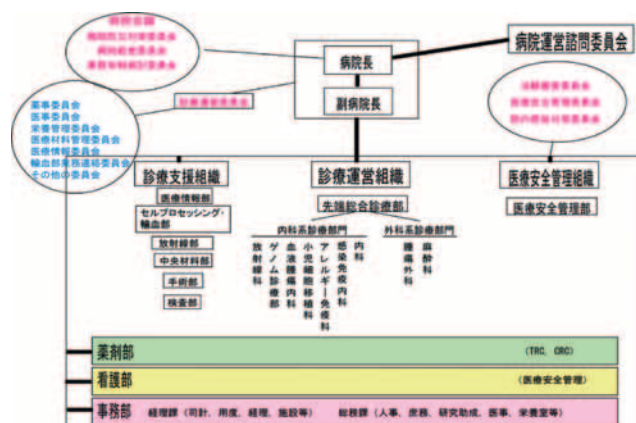
The animal facilities for infection experiment using the primates were fully accomplished. The research on the pathogenicity of measles virus has been performed using these equipments.



図2 奄美大島の固有種とマングース (Endemic species of the Amami Is. and mongoose)

2004年4月より国立大学が法人化し、ほとんどの大学病院は国立大学法人直属もしくは医学部附属となった。医科学研究所附属病院は、全国で唯一の国立大学法人附置研究所附属病院（研病）である。2003年度に完成した8階建ての新病院棟には、135床の入院病床（7階は6床の完全無菌病室を備えた無菌病棟）と外来、最新鋭の診断機器や手術室等が備えられている。現在では血液腫瘍、固形癌、感染症、自己免疫疾患等、医科学研究所の設置目的に合致した疾患を主要対象（プロジェクト）疾患とし、最先端の診療を基礎に先端医療研究センターと一体となって各疾患の病態研究や、臍帯血移植を含めた造血幹細胞移植、樹状細胞を用いた免疫治療などの探索的臨床研究（トランスレーショナル・リサーチ）を推進している。研病の運用組織は法人化とともに見直され、 α 診療運営組織、 α 診療支援組織、 α 医療安全管理組織の3つの機能的な運用組織を、薬剤部、看護部、事務部が包括的に支える構成とした。診療運営組織は、先端総合診療部のもとに研病の総力を持って最先端かつ全人的な診療に当たる体制とし、その中に内科系及び外科系の専門診療グループを形成している。診療支援組織は、医療情報部、セルプロセッシング・輸血部、放射線部、検査部、手術部、中央材料部等から構成され、小回りの効く形で研病の診療を支えながら、それぞれの部門で切磋琢磨している。医療安全管理組織は、医療事故対策という意味での安全管理に責任を持つばかりではなく、研病の特性としてのトランスレーショナル・リサーチの合理的なプロトコル作成、安全性や倫理性の確認等のうえでも極めて重要な役割を有している。ヒトゲノム解析センターを始め、ヒト疾患モデル研究センター、基礎医学科学大部門など所内の基礎研究成果はいうまでもなく、国内外の優れた成果を臨床応用する場として機能することを目指す。

Even after all the Japanese national universities were transformed into the national university corporations in April 2004, the hospital of the Institute of the Medical Science, the University of Tokyo (IMSUT) remained to be the only one Research Hospital in the country. A brand new 8-story hospital building is equipped with 135 beds including 6 completely biological clean rooms, out-patient clinic, advanced diagnostic and therapeutic machines and so on. At the moment, Research Hospital targets hematological malignancies, solid tumors, infectious diseases, autoimmune disorders mainly as project diseases. Based on advanced and human treatment, Research Hospital, together with the Advanced Clinical Research Center, aims at clinical studies on pathogenesis and interventional studies such as cell therapy and immunotherapy utilizing stem cells and dendritic cells, respectively. The operational structure of Research Hospital is divided into three units; α , advanced medical care unit, α , care support unit and α , safety management unit. These units are further supported by the nursing department, pharmacy and administration office. The advanced medical care unit consists of medical and surgical groups, in which professional subgroups provide high standard treatment. The care support unit consists of departments of medical intelligence, cell-processing /transfusion service, radiology, surgical center, laboratory medicine and medical supplies. The safety management unit is directly under the supervision of the director of the hospital and responsible not only for the medical safety issues but also for the rationality, safety and ethical issues of the protocol for the translational research. Research Hospital is a small but unique hospital with high standard care and full of medical sciences in collaboration with Advanced Clinical Research Center, Human Genome Center, Center for Experimental Medicine and Research Departments in IMSUT and other groups outside IMSUT.



東京大学医科学研究所附属病院 運用機能概念図



教授 医学博士 山下 直 秀
講師 医学博士 中 岡 隆 志
助手 医学博士 西 下 聡 英
助手 医学博士 大 野 秀 樹

Professor: Naohide Yamashita, M. D., Ph. D.
Lecturer: Takashi Nakaoka, M. D., D. M. Sc.
Clinical Associate: Toshihide Nishishita, M. D., Ph. D.
Clinical Associate: Hideki Ohno, M. D., Ph. D.

先端総合診療部は1997年にプロジェクト診療部として発足し、病院全体の診療に関係するとともに先端医療の臨床部門を担当する役割を担っている。この他に臨床プロトコル作成のための前臨床研究も行っている。活動状況は以下の通りである。

ae, 樹状細胞を用いた悪性腫瘍に対する腫瘍免疫療法における反応例の解析

臨床研究として、悪性腫瘍に対する樹状細胞を用いた腫瘍免疫療法を行い、2つのプロトコルを既に終了している。この臨床研究は細胞プロセッシング寄付研究部門と協同で実施した。はじめのプロトコルは第IV期悪性黒色腫を対象とし、10例の患者さんにこの治療を施行したが、3例において腫瘍に対する反応が認められている。2つ目のプロトコルは遠隔転移を伴った6例の甲状腺癌を対象とし、2例の患者さんで腫瘍の進行が停止した。悪性黒色腫の治療反応例では複数の転移巣が壊死に陥り、その後縮小・消失するといった変化が認められた。このような治療反応例を中心に病理学的解析や免疫学的解析を現在行っており、抗原を含めた原因を探索中である。

ae, ヒト胎盤脱落膜由来細胞を用いた血管新生療法の前臨床研究
分娩時に得られる臍帯血は、白血病などの幹細胞移植に広く臨床応用され、現在臍帯血バンクが日本各所に設置されている。胎盤は臍帯血と同様に分娩時に得られもので、これまで医療廃棄物として処理されてきた。しかし胎盤はドナーに侵襲を加えることなく得られるヒト正常組織のうちで最大のものである。胎盤細胞は、将来的にバンク化されて、種々の疾患の治療に広く臨床応用される可能性がある。また胎盤細胞を用いたヒトでの組織や臓器の再生医療が実現することにも期待されている。

私達はこれまでに満期産正常分娩時の胎盤から間葉系細胞細胞を培養する方法を確立した。胎盤が母体と胎児の栄養交換の場であり、短期間で豊富な血管を構築することから、これらの細胞が血管新生因子を産生するのではないかと考え培養上清中のhVEGF濃度を測定したところ、多量のhVEGFを産生していることが判明した。その量は癌細胞であるHeLa細胞とほぼ同等であった。そこでこの胎盤由来の細胞を患部に移植するという方法の血管新生療法を着想し、虚血マウスモデルを用いて検討した結果、この治療が虚血を改善することを明らかにした。

ae, 胎生期心臓発生における流出路形成機構に関する解析

多くのヒト胎児心奇形は心血管流出路の異常に起因しており、原因の解明は非常に重要である。胎生期にまず左右側板中肺葉中の心臓領域の細胞が正中で癒合し直線状の心臓管腔が形成される。一般に心臓管腔から左右の房室を備えた心臓が形成されると考えられてきたが、最近になり、前方心臓領域あるいは補助心臓領域と称される領域の細胞が右心室の一部を含めた心血管流出路の形成に関与し、所謂前駆細胞が前方心臓領域に存在する可能性が示唆されている。前方心臓領域のほかに神経提細胞が流出路形成に重要であることはよく知られている。hdfマウスはLacZ応答遺伝子のトランスジェニックマウス作製中に出来たストレインであり、心形成不全のために胎生致死に至る。Hdfのホモ胎児では著明な心血管流出路形成不全が認められるので、心血管流出路形成過程を解析する目的では格好のモデルマウスである。Hdfマウスを用いて遺伝子発現量に関する解析を行った結果、胎生9.5日のhdfホモ胎児心臓領域においてその発現量が顕著に低下している遺伝子Hag2を新たに見出した。Hag2遺伝子は胎生期発現調節を受け、前方心臓領域や神経提細胞の分布する胎生9日から10.5日の鰓弓で強い発現を認める。現在、Hag2及び他の心臓領域発現遺伝子が如何に心臓流出路形成過程へ関与しているか検討を行っている。

ae, 大腸において勾配を形成する遺伝子の解析

潰瘍性大腸炎は直腸から口側にむかう大腸粘膜の連続的な炎症が特徴的である。疫学的調査では、潰瘍性大腸炎の発症に遺伝的要素と環境要素が重要であることが示されている。我々は、大腸粘膜における遺伝子の発現勾配が、潰瘍性大腸炎に発症と進展に関与しているのではないかと推測した。そこで、正常なヒト大腸粘膜各部位における遺伝子の発現量を比較し、遠位腸管において発現量が上昇している遺伝子群のカタログを作成した。まず、大腸各部位の遺伝子発現量を比較するためcDNAマイクロアレイによるスクリーニングを行った。次に、有意差のあった各遺伝子について発現量をRT-PCRによって確認した。さらに、これらの遺伝子について全消化管および他臓器での発現量をノザンブロットングにより検討した。3遺伝子が大腸において発現量に勾配を有し、この中の1遺伝子は腸管特異的に発現していた。これらの遺伝子については潰瘍性大腸炎の発症進展に関与している可能性が考えられる。

Department of Advanced Medical Science was established in September 1997. We are doing clinical duties in the Research Hospital. Our clinical and pre clinical researches are as follows.

ae, Identification of tumor associated antigens in melanoma patients treated by the dendritic cell therapy

We explored serum antibodies in cancer patients treated by the dendritic cell (DC) therapy in search of tumor associated antigens, which may include critical molecules in cancer biology as well as possible targets of immunotherapy. By conventional Western blot analysis using tumor lysate obtained from melanoma patients who had response to the dendritic cell therapy, two proteins (27kD and 47kD) reacted with autologous serum. We are going to analyse these proteins by two dimension electrophoresis combined with Western blot analysis and Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight/Mass Spectrometry methods.

ae, A potential pro angiogenic cell therapy for ischemic disease using hPDMCs

After the establishment of Cord Blood Banks, more than 2,000 cord blood transplantations have been performed throughout the world. In the processing of cord blood, adjacent placenta has been so far thrown away. Recently, the Department of Cell Processing IMS, started preparation and characterization of human placenta derived mesenchymal cells (hPDMCs), which are obtained from placental villi. One of the characteristics of placenta is that its high vascularity. So, in our laboratory, we explored the possibility that these cells might produce angiogenic cytokines and could be used for pro angiogenic cell therapy. We measured VEGF in hPDMCs conditioned media by ELISA and found that a large amount of VEGF, comparable to the amount produced by cancer cells, is produced by hPDMCs. We confirmed this VEGF is biologically active. In vivo studies were performed to test the efficacy of hPDMCs injection to improve ischemic status. We made an animal model for arterial occlusive disease, inducing unilateral hindlimb ischemia by binding the left femoral arteries and veins of NOD/Shi scid mice. We transplanted hPDMCs in the ischemic muscles. Subcutaneous blood perfusion was analyzed by using a laser doppler perfusion image analyzer before and after transplantation. Transplantation of hPDMCs significantly improved the blood flow of the affected limbs. In the limbs of treated mice formation of blood vessels was more prominently observed as compared to the control. Transplanted hPDMCs produced hVEGF for at least 7 days in NOD/Shi scid mice, which was demonstrated by real time RT-PCR. It was concluded that hPDMCs could be used to treat human ischemic diseases.

ae, Analysis on mechanisms of conotruncus formation during embryonic heart development

The cardiac outflow tract is a frequent site for clinically relevant human heart defects. During embryonic heart development, the early heart tube forms from two regions of splanchnic mesoderm called the lateral heart fields. It has been generally accepted that remodeling of this single heart tube creates four separate and properly aligned chambers. However, this concept has recently been extended to implicate a novel heart forming field, dubbed anterior heart field (AHF) or secondary heart field other than "primary" lateral heart field, where the existence of the cardiac progenitor cells has been implicated. It is known that the neural crest (NC) cells, in addition to the AHF, significantly contribute to the formation of the outflow tract. The hdf mouse is a recessive lethal strain that arose from an insertional mutation of LacZ transgene. Embryo homozygous for the transgene die due to the cardiac anomaly. Since the outflow tract is almost absent in the hdf homozygous embryos, the hdf mouse gives an important opportunity for studying the segmental origin and development of the cardiac outflow tract. We have performed subtractive hybridization using hdf mice and consequently, a novel gene, Hag2 (hdf affected gene 2) was identified as a gene down regulated in heart field of hdf homozygous mice embryos. Hag2 gene expression was developmentally regulated in mouse embryos and Hag2 was expressed in the pharyngeal arches from E9 through E10.5 correlated temporally with the passage of NC cells and recruitment of the AHF cells. The project to examine whether and how Hag2 and the other related gene expressed in the heart field is involved in the formation of the outflow is under way.

ae, Analysis of the expression gradient of genes in human colonic mucosa

Ulcerative colitis is characterized by continuous inflammation extending from rectum to oral colonic mucosa. Epidemiological data have provided incontrovertible evidence that both genetic and environmental factors are important in the disease susceptibility. We speculate that the expression gradient of genes in human colonic mucosa might be related to the disease development and progression. We compared the expression levels of genes in segments of a normal human colon and made a catalogue of genes expressed at higher level in the distal colon. First, we compared the expression levels of genes at different segments of colon by screening cDNA microarray. Next, RT-PCR studies were conducted to confirm the expression levels. Finally, we evaluated the expression levels of these genes throughout the digestive tract and other tissues by northern blotting studies. 3 genes showed gradual rise in expression in colon and one of them was specifically expressed in colon. These genes might be susceptible for ulcerative colitis.

助教授 医学博士 東 條 有 伸
 講 師 医学博士 高 橋 聡
 講 師 医学博士 内 丸 薫
 助 手 医学博士 友 成 章
 助 手 医学博士 大 井 淳

Associate Professor: Arinobu Tojo, M. D., Ph. D.
 Lecturer: Satoshi Takahashi, M. D., Ph. D.
 Lecturer: Kaoru Uchimar, M. D., Ph. D.
 Clinical Associate: Akira Tomonari, M. D., Ph. D.
 Clinical Associate: Jun Ooi, M. D.

当科では難治性血液疾患に対する新規治療法の開発を目的として下記の基礎的・臨床的研究を計画・遂行中である。

æ, 造血幹細胞移植療法に関する研究

当科は造血幹細胞移植実施機関として我が国有数の実績を誇る。2003年度までに約450例の同種・自家造血幹細胞移植を施行しており、同時に急性・慢性移植片対宿主病（GvHD）や日和見感染症など移植関連合併症の治療も行ってきた。この間、遺伝子組換え型ヒト顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の開発に携わり、本薬剤が移植医療の種々の局面できわめて有用であることを世界に先駆けて明らかにした。また、公的骨髄バンクの設立にあたって中心的な役割を担い、1992年の設立以来約70件の非血縁者間骨髄移植と約120件の非血縁者骨髄採取を担当してきた。その後、1997年の臍帯血バンク設立後は成人に対する非血縁者間臍帯血移植を積極的に推進し、1998年以来現在まで約60例と単一施設としては世界でもトップクラスの移植件数を有する。当科における移植幹細胞の主たるソースがこのように変遷する状況下で、より重要な課題となっている臍帯血由来細胞（造血幹細胞、免疫担当細胞、間葉系細胞）を利用する細胞療法の基礎的研究ならびに臍帯血移植臨床における免疫再構築、GvHD、移植片対腫瘍効果（GvL）の解析に積極的に取り組んでいる。2004年に開院した新病院棟の無菌病棟33床の稼働が順調にいけば、年間の移植症例数のさらなる増加が見込まれる。

æ,, 遺伝子治療に関する研究

国内外の企業または大学と共同して造血器腫瘍に対する遺伝子治療臨床研究を計画中である。既に当科は、我が国最初のがん遺伝子治療臨床研究として注目された「第IV期腎細胞ガンに対するGM-CSF遺伝子導入自家腫瘍ワクチン療法」を米国Cell Genesys社や他科、他大学との共同研究として遂行した実績を有する。現在ガンに対する遺伝子治療臨床研究の主流は腫瘍特異的自己免疫の誘導を目的とする腫瘍ワクチン療法であるが、寧ろ腫瘍ワクチンの効果は同種（アロ）免疫の賦活においてより顕著である可能性が考慮される。そこで、腎細胞ガンでの経験をもとに、当科の特徴である同種造血幹細胞移植と遺伝子導入腫瘍ワクチンを組み合わせた「難治性白血病に対する同種造血幹細胞移植と免疫遺伝子治療の併用療法」の開発を計画しており、その基礎的検討を行っている。

æ,, 細胞ならびに分子標的療法に関する研究

B細胞リンパ腫に対する抗CD20モノクローナル抗体（リツキシマブ）と慢性骨髄性白血病に対するチロシンキナーゼ阻害剤（イマチニブ）の臨床導入を契機に、ガン治療における細胞ならびに分子標的薬剤の開発が加速度的に進んでいる。当科では、これらの薬剤の新たな適応疾患を検討する臨床研究を実施するいっぽう、他の高分子製剤（イムノトキシン、イムノアドヘシン）や低分子化合物（キナーゼ阻害剤、サイトカイン産生阻害剤）の臨床応用を模索するための基礎的研究に取り組んでいる。

Our general interest is focused on planning and performing novel therapeutic strategies for intractable hematological disorders.

æ, Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT)

As many as 450 cases of allogeneic or autologous HSCT have been performed and HSCT related complications including acute/chronic GvHD and opportunistic infection have been treated until 2003. We developed recombinant human G-CSF and played a leading role in demonstrating its remarkable usefulness in HSCT. Based on our achievement as a main hub of HSCT centers in Japan, we greatly contributed to found the Japan Marrow Donor Program (JMDP) and have been continuously working for JMDP in not only transplantation but also collection of unrelated donor marrows. Recent years unrelated cord blood has turned to be our major stem cell source in HSCT. Since 1998 we have performed up to 60 cases of CBT in adults, which appears a distinguished experience in the world. During such a transition of our stem cell source, immunological reconstitution from the CB graft as well as the pathophysiology of GvHD and GvL is becoming our main theme to be elucidated, and we are now engaged in the basic research on novel therapeutic application of CB HSC and mesenchymal stem cells.

æ,, Gene Therapy

As a collaboration study with Cell Genesys Co, other departments in IMSUT and other university hospitals, we carried out a gene therapy protocol in which the safety and efficacy of autologous cancer vaccine transduced with GM-CSF cDNA was tested against stage IV renal cell cancer. Based on the results of this trial, we are now developing our own clinical gene therapy protocols for hematological malignancies, especially focusing on gene modified leukemia/lymphoma vaccine in combination with allogeneic HSCT.

æ,, Cell and Molecular Targeted Therapy

Humanized anti CD20 monoclonal antibody (rituximab) and Abl specific tyrosin kinase inhibitor (imatinib mesylate) are representative promising drugs in the field of cell and molecular targeted therapy. We are trying to apply these drugs to other disorders than those originally approved for use (B cell lymphoma and CML, respectively). In addition, we are also performing basic studies on macromolecular agents including recombinant toxins and immunoadhesins as well as small molecule agents such as novel kinase inhibitors and cytokine synthesis inhibitors.

教 授 併) 医学博士 岩 本 愛 吉
 助教授 科長) 医学博士 中 村 哲 也
 講 師 医学博士 小田原 隆
 助 手 医学博士 遠 藤 宗 臣

Professor: Aikichi Iwamoto, M. D., D. M. Sc.
 Associate Professor: Tetsuya Nakamura, M. D., D. M. Sc.
 Lecturer: Takashi Odawara, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Tokiomi Endo, M. D., D. M. Sc.

感染免疫内科は1981年設置され、1986年よりヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症の診療および研究を行っている。また、感染症に対する危機管理が極めて不十分な我が国において、マラリアやデング熱などの熱帯病の治療、マラリア予防の指導、海外での咬傷に対する狂犬病ワクチンの接種なども行っており、我が国固有の国際感染症の診療機関でもある。

1. HIV感染患者の診療

2003年末で、外来患者約200名、入院患者 6 ~ 8 名のHIV感染者の診療を行っており、その数は増加の一途をたどっている。下図に示すように、医科研附属病院で診療を行っているHIV感染者数は、1996年に国立国際医療センターにエイズセンターが設置された際にほぼ半減したが、その後は日本のHIV感染者数の統計と同様にやや指数関数的に増加している。

1996年からhighly active antiretroviral therapy (HAART; 抗HIV薬を3 ~ 4種類併用する治療) が導入されて以来、感染者のウイルス量をコントロールし細胞性免疫を回復させることが可能となった。しかしながら、HAARTにより感染者からHIVを駆逐するためには少なくとも70年間治療を継続する必要があると考えられており、感染者は実質上ほぼ生涯に渡って治療を続ける必要がある。そのため、抗HIV薬の長期毒性、経済的負担、QOLの低下などが問題となってきており、何らかの方法でHAARTを中断してもHIVの増殖をコントロールする手段の開発が急務となっている。

2. HIV感染症に対する新たな治療法の開発

われわれは前述の背景のもと、HIVワクチンをHAART施行中の患者に接種し、HIVに対する特異的細胞性免疫を賦活化したのちにHAARTを中断する試みを計画し実行している。単にHAARTを中断するだけでは、ほとんどの症例で1ヶ月以内に血中HIV量がHAART開始前のレベルに戻ってしまう。ところがごく稀に、HAARTを中断してもHIVの増殖が軽度にしき起こらず、血中HIV RNA量が低いレベルで維持され免疫不全が進行しない症例の存在が知られている。このような症例は、HIVに対する強い細胞性免疫を有しており、それがHIVの増殖をコントロールしているものと考えられている。ただ、ほとんどの症例ではHIVに対する細胞性免疫が破壊されているため、HAARTを中断してもHIVの増殖をコントロールすることが出来ない。

そこで、HAART施行中の患者にHIVワクチンを接種しあらかじめHIV特異的細胞性免疫を高めてやれば、その後にHAARTを中断し自己の免疫能でHIVの増殖をコントロールすることが出来る可能性がある。この仮説を検証するために、われわれは「ヒト免疫不全ウイルス感染症に対する特異的免疫療法と計画的抗ウイルス薬の中断 (第1相試験)」を実施中である。

3. 国際感染症

熱帯、亜熱帯に旅行して感染した熱性疾患の診療を行い、例年10~15例のマラリアを始め、デング熱、チフス、病原性大腸菌感染症等の診療を行っている。ダニを媒介とするリケツシア症やライム病の受診例もある。海外での咬傷に対する狂犬病ワクチンや破傷風トキソイド接種の依頼も多い。一方、日本の国際化に伴い外国人のHIV感染者の診療機会が増えてきている。

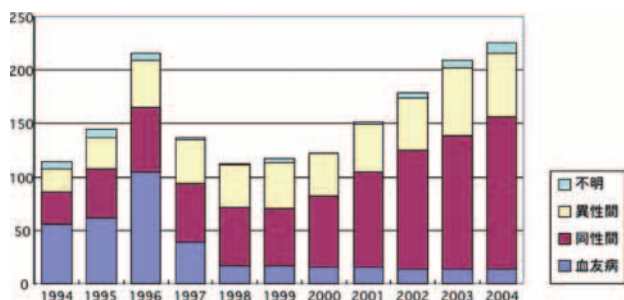


図 医科研病院で診療を行っているHIV感染者数の年次推移 (2004年7月現在)

The Department of Infectious Disease and Applied Immunology (DIDAI) was founded in 1981, and started clinic and research works for HIV infection since 1986. DIDAI is also a major center for tropical diseases including treatment of malaria and dengue fever, pre-travel clinic for malaria, and post-exposure vaccination of rabies in Japan where risk management for infectious diseases is poorly organized.

1. Clinical activities for HIV-infected patients

Approximately 200 outpatients and 6-8 inpatients with HIV infection are under our medical care as of the end of 2003, and the numbers are still increasing. As shown in a figure below, the number of HIV-infected patients managed in IMS hospital transiently decreased by half because of establishment of AIDS center in International Medical Center of Japan. However, the number is increasing again with slightly exponential curve as Japanese statistics of HIV-infected patients.

Since the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART; combination therapy with 3 or 4 antiretroviral agents) in 1996, it has become possible to control proliferation of HIV and recover patients' immunodeficiency. However, it is supposed to take more than 70 years until HIV is eradicated from patients with HAART, which means that they have to continue HAART during whole their lives. Since long-term HAART causes various toxicity, financial problems and deteriorated patients' QOL, it becomes urgent mission to develop the new strategy to stop HAART without re-proliferation of HIV.

2. New therapeutical strategy for HIV infection

Based on the background stated above, we planned and have been conducting a clinical study to interrupt HAART for patients after immunizing with the therapeutic HIV vaccine. If patients interrupt HAART without any intervention, the viral loads will rebound within one month to the level before starting HAART. However, there are rare cases who keep low level of viral load and do not progress to immunodeficiency after they interrupt HAART. Immunological analysis of these patients revealed that they have strong cellular immunity against HIV, which suppresses the proliferation of HIV. In contrary, most of HIV-infected patients have deteriorated cellular immunity against HIV and cannot control viral replication immunologically.

Taken together with these observations, we postulated that if we could stimulate the HIV-specific cellular immunity by immunizing them with HIV vaccine, they might be able to control viral replication by their own immunity after interruption of HAART. In order to test this hypothesis, we are now conducting a phase I study; HIV-specific immunization of HIV-infected patients and interruption of antiretroviral therapy.

3. Treatment of tropical diseases

We take care of 10-15 patients with malaria every year. Patients with dengue fever, typhoid fever and pathogenic *E. coli* as well as rickettiosis and Lyme disease transmitted via ticks are also admitted. We also take care of vaccination of tetanus toxoid and rabies for patients who had animal bites in foreign countries. Numbers of foreigners with HIV infection are increasing as the Japanese society becomes international.

助教授(併) 医学博士 辻 浩一郎
 助手 医学博士 河 崎 裕 英

Associate Professor: Kohichiro Tsuji, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Hirohide Kawasaki, M. D., D. M. Sc.

小児細胞移植科は1998年4月に開設された新しい診療科で、現在は白血病・再生不良性貧血などの血液疾患に対する造血幹細胞移植を中心に診療を行っているが、将来的には小児の固形腫瘍・免疫不全症・先天性代謝異常症などの遺伝子治療の対象となる疾患の診療も視野に入れている。現在までに38例の造血幹細胞移植の実績があり、予後不良の原疾患や再発期症例が多い中、非血縁者間移植やHLA不一致移植にも積極的に取り組んでいる。また、長期入院患児の教育面に配慮し、都立城南養護学校により院内学級が開設されている。以下に現在進行中のプロジェクトを示す。

æ, 臍帯血移植

当科は、細胞プロセッシング研究部との共同により、東京臍帯血バンクの運営にあたっている。1997年9月より臍帯血のバンキングが開始され、1998年5月より移植を希望する症例からの照会に応じている。

æ,, 増幅造血幹細胞移植

造血幹細胞の体外増幅は、当科の基礎研究部門である先端医療研究センター細胞療法研究分野の主テーマの一つであり、ここで確立されたヒト造血幹細胞の体外増幅技術の臨床応用をめざしている。特に、最近開発されたNOD/SCIDマウスを用いたヒト造血幹細胞評価システムは、増幅造血幹細胞移植の有効な前臨床試験として期待されている。

æ" 遺伝子治療

- 1) 小児癌に対する遺伝子治療として、再発神経芽腫に対する遺伝子治療をBaylor collegeのDr. Brennerとの共同研究で行う第1相研究が厚生労働省と文部科学省に承認され、この臨床研究が開始される。
- 2) 小児科領域には、悪性腫瘍以外にも遺伝子治療の対象となる疾患は多い。他の研究部との共同研究で、Fanconi貧血に対する遺伝子治療の基礎的研究を行っている。また、レトロウィルスベクターを用いた造血幹細胞への効率のよい遺伝子導入法の確立をめざした研究も行っている。

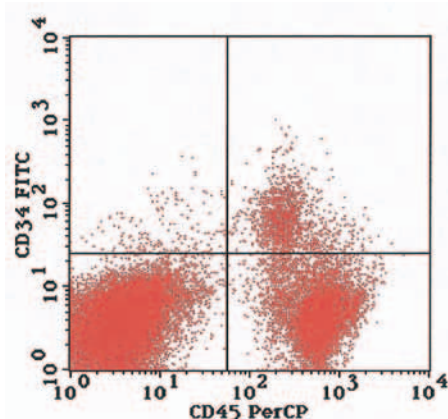


図1 ヒトCD34+細胞を移植されたNOD/SCIDマウスの骨髄細胞の解析。ヒトCD45+細胞やCD45+/CD34+細胞が認められる。

Fig. 1 Flowcytometric analysis of bone marrow cells of NOD/SCID mice transplanted with human CD34+ cells. Human CD45+ and CD45+/CD34+cells are detectable in bone marrow cells of NOD/SCID mice.

Department of Pediatric Hematology/Oncology was established in April, 1998. We engage in the treatment of pediatric hematological diseases such as leukemia and aplastic anemia mainly by hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), and pediatric solid tumors, immunodeficiencies and congenital metabolic diseases, which are also targets of gene therapy, will be included in our area. So far 38 cases of HSCT have been carried out in cooperation with HSCT team in our hospital. In particular, unrelated HSCT or HLA mismatched HSCT were carried out for high risk patients. School in Hospital was started by the Metropolitan Jonan weak children's school. We are currently focusing on the following projects.

æ, Cord Blood Transplantation

In cooperation with Division of Cell Processing, we engage in Tokyo Cord Blood Bank. Cord blood banking was started in September, 1997, and preliminary search was started in May, 1998.

æ,, ex vivo expanded stem cell transplantation

Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells (HSC) is one of main projects of Division of Cellular Therapy, Advanced Clinical Research Center which is the basic research division of our department, and research for clinical application of ex vivo expansion of human HSC is being undertaken. A novel system using NOD/SCID mice is expected as a useful method for evaluation of human transplantable HSC.

æ" Gene therapy

- 1) Phase I study of immune gene therapy for neuroblastoma was approved by the government. The patients are being enrolled.
- 2) Basic research on gene therapy for Fanconi anemia is being conducted. Research for efficient retroviral gene transfer to HSC is also being undertaken.

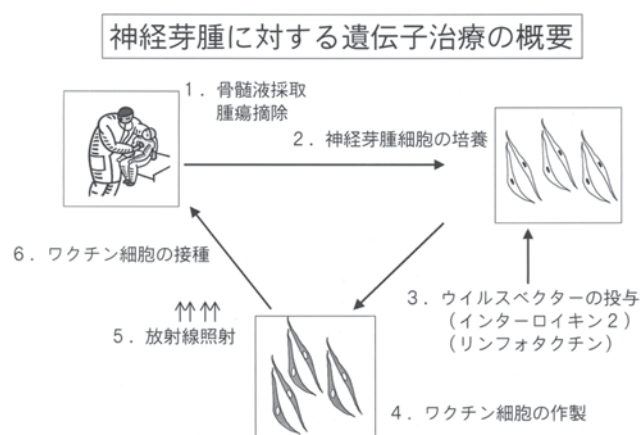


図2 神経芽腫に対する遺伝子治療の概要

Fig. 2 Outline of gene therapy for neuroblastoma.

助教(併) 医学博士 田中 廣 壽
 助手 医学博士 河崎 寛
 助手 医学博士 細野 治
 助手 医学博士 牧野 雄 一

Associate Professor: Hirotoshi Tanaka, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Hiroshi Kawasaki, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Osamu Hosono, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Yuichi Makino, M. D., D. M. Sc.

アレルギー免疫科はリウマチ・膠原病患者をおもな診療対象として2001年4月に院内措置によって開設された新しい診療科である。当科の年間入院患者数は100例前後、そのうち約8割がリウマチ・膠原病であり、外来患者数も現在増加しつつある。個々の患者さんにとって最善の、しかも可能な限りエビデンスにもとづいた医療を提供するべく努力している。一方で、先端医療研究センター免疫病態分野との密接な連携のもとに、先端治療開発に向けた臨床研究にも積極的に取り組みつつある。同分野では、リンパ球表面に発現される機能分子の構造と機能および炎症に関する転写因子や核内レセプターの免疫制御機構に関する研究成果が蓄積されており、膠原病をはじめとした難治性疾患の病態解明、先端の治療法の開発にフィードバックすることをめざしている。

1) リウマチ・膠原病の臨床と先端診療

骨関節疾患は社会の高齢化とともに増加の一途を辿っている。なかでも関節リウマチ(平成14年度より慢性関節リウマチより改称。RAと略)の患者さんは現在、日本国内で約70万人に達し、その罹病率は国民の約0.5%とされている。RAは慢性に多くの関節をおかす原因不明の疾患であり、長期間に渡って患者のQOLを障害することから社会的問題にもなっている。当科では近年の治療戦略の変化に対応し、診断確定後早期から抗リウマチ薬を積極的に使用して寛解導入を目指す治療を行っている。難治症例に対しては抗TNF抗体や可溶性TNF受容体などが考慮されることもある。今後、これらの新薬の安全性や有用性の科学的検証も重要な使命と考えている。

全身性エリテマトーデスなどの膠原病の治療において副腎皮質ステロイド療法は現在も中心的存在である。感染症や骨粗鬆症などの副腎皮質ステロイド薬の副作用に対する対策を積極的に実施するとともに、副腎皮質ステロイド薬の抗炎症・免疫抑制作用と副作用を分離しうる薬剤の開発をめざした基礎研究も展開されている。また、間質性肺炎や血管炎、肺高血圧症などの難治性病態に対しても免疫抑制薬をはじめとした実験的治療に積極的に取り組んでいる。

リウマチ・膠原病患者の診療に際し、他の診療科との連携は必須である。当科では、整形外科、リハビリテーション科、皮膚科、眼科、神経内科など、当院に設置されていない診療科については院外の専門医の協力を得て総合的な診療を行っている。日常生活指導、服薬指導に関しても、看護部、薬剤部などの協力により効果をあげている。

Our department is founded in 2001 to tackle systemic autoimmune/inflammatory diseases including rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and vasculitic syndromes. We provide patients personalized and evidence based medical service. In collaboration with the Division of Clinical Immunology, ACRC, we are aiming such clinical research that definitely contributes to establishment of novel therapeutic approach, based on the recent achievement in the division, especially concerning functional analysis of lymphocyte surface molecules and transcription factor research on inflammation.

1) Rheumatology Clinic

Musculoskeletal disorders are now considered to be one of the major causes of disability in elderly persons. Concerning rheumatoid arthritis, more than 700 thousands people are suffering from the disease in Japan. Given the recent development of anti rheumatic drugs, we are trying to settle the disease down to remission, with starting anti rheumatic drugs and/ or immunomodulators immediately after diagnosis is made. Recently developed biologically active agents including anti TNF α antibody and soluble TNF α receptor, would be considered in intractable cases.

Glucocorticoids are still a key player in treatment of patients with these rheumatic disorders. However, occurrence of side effects of glucocorticoids is not idiosyncratic but dose and duration related. Close monitoring not only their therapeutic but also side effects enables us to minimize the dose and duration of the therapy. Especially, prevention of osteoporosis is of our current pharmacological concern. On the other hand, we have been working with dissociation of therapeutic antiinflammation from side effects of glucocorticoids and recently identified a prototypical compound for that purpose.

Interdisciplinary approach is mandatory for patient care, which is accomplished with the help of specialists in the orthopedics, rehabilitation, dermatology, ophthalmology, neurology, and the Division of Nursing and Division of Pharmacy.

助教授 医学博士 佐藤 典治
 助手 医学博士 高橋 直之

Associate Professor: Noriharu Sato, M. D., D. M. Sc.

Clinical Associate: Naoyuki Takahashi, M. D., D. M. Sc.

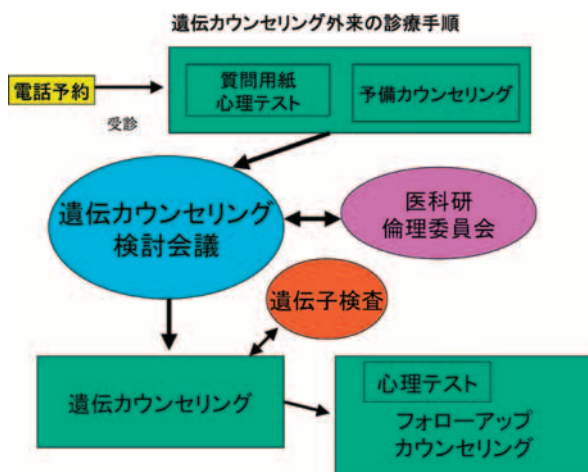
ゲノム診療部は平成13年度に新設された病院の新しい診療部である。ヒトゲノムのドラフトシーケンスが発表され、医療もゲノム情報を有効利用することにより社会へ貢献することが要請される時代となった。医科研のヒトゲノム解析センターがゲノム研究の拠点として国内の研究活動をリードしているほか、当院でも腎癌に対する本邦初の免疫遺伝子治療を行うなど、先進医療の開発研究に取り組んでいる。このほか悪性黒色腫、甲状腺癌、消化器原発性癌などに対する免疫療法を行っている。このような状況の下で、先端医療を目指す当院にゲノム診療部が新設された意義は非常に大きいといえる。ゲノム診療部の職員のみならず、医科研病院に勤務するもの全員が、ゲノム医療に対する社会的な期待と、責任の大きさをひしひしと感じている昨今である。

このようなゲノム科学の進展に付随して、一部で安易な遺伝子診断が増え、不必要な不安・混乱を人々に与える危険性も指摘されるようになった。これに対する対応として遺伝カウンセリングが欧米で発達してきた歴史があるが、国内の遺伝カウンセリング体制はまだ不十分といわざるを得ないのが現状である。

ゲノム診療部では小児科、ゲノム情報応用診断寄附研究部門、看護部、臨床心理士などで診療チームを形成し、更に学内・外の専門家の支援を頂いて、遺伝カウンセリング外来を開設した。遺伝カウンセリングは情報の提供が主体でクライアントの心のケアがなおざりにされがちであるとの批判があるため、当院のカウンセリングは心のケアに重点を置き、フォローアップカウンセリングに力を入れた体制を考えている（図参照）。

更に当院に多い血液疾患患者を主な対象として、疾患関連遺伝子群のゲノム解析研究を行っている。これはゲノム診療部、先端医療研究センター分子療法分野等が学内から参加している他、学外の主要研究機関との共同研究で、対象は慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群、移植後のGVHDなどである。

本年6月よりヒトゲノム解析センターが中心となりオーダーメイド医療のモデルケースとして、慢性骨髄性白血病患者を対象とした「グリベックの効果予測のための発現解析研究」を開始した。ゲノム診療部でもこの取り組みに積極的に協力し、患者の受付・カウンセリングなどを担当している。



Our department was established in 2001. Since draft sequence of human genome was published in February 2001, human beings have entered an era of genomic medicine where we treat various patients with the aid of genomic information concerning drug sensitivity, disease progression, and classification based on molecular diagnosis. In addition, genomic information would provide important clues for disease prophylaxis from the point of view of public hygiene. Our hospital has started gene therapies against renal cancer that were successfully finished.

One of worries concerning genomic medicine is that it is so easy to find genetic variation that anyone who wants to examine it can know the result. Genetic information should be private and be protected from others. In addition, some information may affect his or her future. When one knows such important information without preparation, the effect may be disastrous. Genetic counseling is the process of providing individuals and families with information on the nature, inheritance, and implication of genetic diseases to help them make informed medical and personal decisions. Genetic counseling is, therefore, indispensable in such cases as above.

We have opened genetic counseling in our hospital in collaboration with department of pediatrics, division of genetic diagnosis, nurses, and clinical psychologists. Critics say genetic counseling in Japan tends to provide only genetic information to a client but doesn't support him or her psychologically. We would like to provide enough psychological support to clients who visit our clinic.

We are currently performing collaborative research with many hospitals concerning drug responsiveness of chronic myelogenous leukemia, myelodysplastic syndrome, and graft versus host disease after hematological stem cell transplantation whether SNPs in the related genes may account for individual differences among respective patients.

Most recently our hospital has started microarray studies on CML cells to know their responsiveness to Imatinib mesylate before therapy. Our department is also participating in this project.

東京大学医科学研究所 附属病院

病気が遺伝するものかどうかなど、遺伝に関することで不安や悩み、お困りのことはございませんか。当院では医師・看護師・臨床心理士がご相談に応じます。秘密は守られますので、ご安心ください。

遺伝カウンセリング予約番号: 03-5449-5488
 診察日: 金曜日 (午後1時~5時 予約された方のみ)
※電話予約の際、病名、家族の目的、血縁の方の病歴などについてお問い合わせください。対象とならない場合もあります。

東京大学医科学研究所 附属病院 〒108-8639 東京都港区白金4-6-1

交通アクセス

■有明駅下車徒歩10分
 「白金台駅」より徒歩10分
 ■JR・有明駅下車徒歩10分
 「白金台駅」より徒歩10分
 ■JR・有明駅下車徒歩10分
 「白金台駅」より徒歩10分

※詳細は東京大学医科学研究所附属病院のホームページをご覧ください。http://www.transrec.jp/

遺伝カウンセリング外来

助教授 医学博士 大久保 敏 之
講 師 医学博士 井 上 優 介
助 手 医 学 士 桐 生 茂

Associate Professor: Toshiyuki Okubo, M. D., D. M. Sc.
Lecturer: Yusuke Inoue, M. D., D. M. Sc.
Clinical Associate: Shigeru Kiryu, M. D.

医用画像は、機器の進歩、information technologyの発達とともに、その重要性を増している。当科ではマルチスライスCT, MRI, SPECTといった高度画像技術を用いて様々な疾患の評価を行っている。画像を用いた診断や治療効果判定は、一般診療のみならず、医科学研究所病院におけるプロジェクト診療支援としても欠かせないものになっている。独自の研究活動として、画像技術を利用して様々な生物学的過程を非侵襲的に評価する方法の開発、改良を行っている。さらに、これらの方法を個体内生理現象の解明、疾患の病態解析に応用している。

当科において進行中の主たる研究プロジェクトは以下のようなものである。

1) 小動物MRIの研究

我々は組織特異性造影剤などの造影剤を用いて小動物のMRIを施行し、造影剤の臨床的有用性の評価、動物実験における意義の研究を行っている。さらに、低コストの小動物用MRI装置の研究に着手している。

2) Functional MRIによる高次脳機能の研究

Functional MRIは神経活動部位の非侵襲的な検出を可能とし、脳機能の有力な研究手段として広く認められている。我々は心理学的課題下にfunctional MRIを行い、高次脳機能メカニズムの解明につとめている。

3) 中枢神経神経疾患の拡散テンソル解析

拡散テンソル画像はMRIによる拡散の正確な評価に寄与し、神経線維路の画像化 (tractography) を可能にする。我々は、拡散テンソル画像が脳脊髄病変と皮質脊髄路などの主要な線維路の関係について情報を有用な情報を付加するかを研究している。

4) 心疾患の画像解析

MRI, SPECT, PETを用いた心臓の機能、血流、代謝、神経機能の測定を行っている。心臓生理測定法の開発、代謝性心疾患の病態解明、心臓に対する薬物療法の効果判定を行うことを目的としている。

5) 生体内遺伝子発現の生体発光による画像化

ルシフェラーゼ遺伝子と高感度CCDカメラを用いて、生きた動物内の遺伝子発現を、非侵襲的、定量的に繰り返し画像化できる。我々は、この技術を用いて腫瘍モデル動物における分子標的療法の効果を評価することを目指している。

The role of biomedical imaging is expanding along with advances in instruments and information technology. We assess various diseases using advanced imaging technologies, such as multislice CT, MRI, and SPECT. Diagnosis and evaluation of therapeutic effect by medical imaging have critical importance in clinical practice and are supporting project related treatments in the Research hospital. As our own research activities, we are developing and sophisticating image based methods for the noninvasive evaluation of various biological processes, and are applying them to the investigation of in vivo physiology and pathophysiology.

Our main research projects are as follows :

1) MRI of small animals

We perform MRI of small animals with contrast agents, including tissue specific agents, to predict their clinical usefulness and to investigate their role in animal experiments. We are starting to study the use of low cost small animal MRI system.

2) Functional MRI of higher brain function

Functional MRI detects the foci of neuronal activity noninvasively and is accepted as a potent tool of brain research. We investigate the mechanism of higher brain function by functional MRI combined with psychological tasks.

3) Diffusion tensor analysis of neurological disease

Diffusion tensor imaging contributes to precise demonstration of water diffusion by MRI and permits tractography which depicts neuronal tract. We investigate whether diffusion tensor tractography adds useful information about relationship of major white matter tract such as corticospinal tract with brain and spinal cord lesions.

4) Imaging approach to cardiac diseases

Function, perfusion, metabolism, and neuronal activity of the heart are measured by MRI, SPECT, and PET. Our aims are to develop methods of measuring cardiac physiology, to elucidate the pathophysiology of metabolic heart diseases, and to assess the effects of medical treatment on the heart.

5) Bioluminescence imaging of in vivo gene expression

Gene expression in living animals can be visualized noninvasively, quantitatively, and repetitively by using luciferase gene and a high sensitivity CCD camera. We are applying this technology to in vivo evaluation of the effect of molecular therapy in tumor bearing animals.

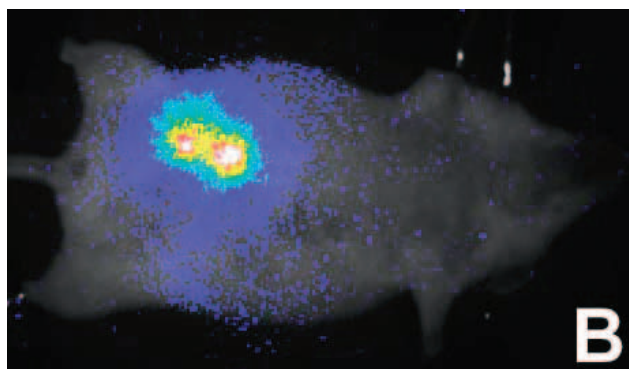
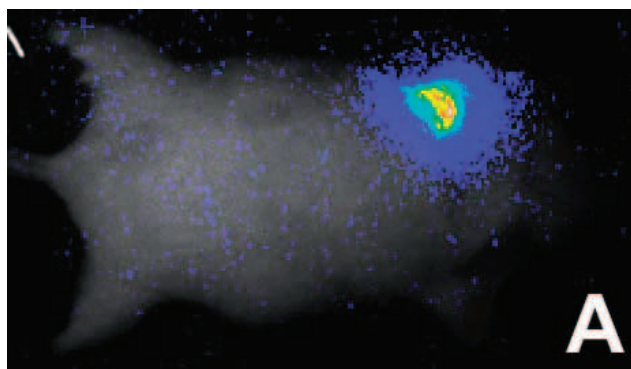


図 1 マウスにおけるルシフェラーゼ発現細胞の画像化 (A: 皮下接種, B: 腹腔内接種)

Fig. 1 Bioluminescence imaging of luciferase expressing cells in living mice (A. subcutaneous inoculation, B. intraperitoneal inoculation).

教授 医学博士 田原 秀 晃
助手 医学博士 高山 卓 也
助手 医学博士 内田 宏 昭
助手 医学博士 虫 明 寛 行

Professor: Hideaki Tahara, M. D., Ph. D.
Clinical Associate: Takuya Takayama, M. D., Ph. D.
Clinical Associate: Hiroaki Uchida, M. D., Ph. D.
Clinical Associate: Hiroyuki Mushiake, M. D., Ph. D.

当研究分野は、先端医療研究センター臓器細胞工学分野、および他の研究分野・診療科部門と緊密な連携を保ちながら、固形癌の外科治療と免疫遺伝子治療に携わっている。また、上部、下部消化管内視鏡検査およびレントゲン検査、超音波検査、血管造影検査などを行い、附属病院検査部門の一翼を担っている。2003年には、100例の手術を全身麻酔下あるいは腰椎麻酔下に行った。当診療科の目標は、先端医療研究センター臓器細胞工学分野のみならず他の研究分野の研究成果をできるだけ早く臨床に導入し、実際の患者様を対象とした開発早期（第1、2相）の臨床試験を附属病院において実行することである。その目標に沿って、すでに我々は、悪性黒色腫に対するワクチン療法と、放射線と樹状細胞を用いた免疫療法という2種類の第1相試験を完了した。また、悪性黒色腫を対象とした第1相試験の結果を踏まえて、エピトープペプチドとIL-2を用いたワクチン療法（Phase 1/2a）を開始し、さらに、消化器癌に対するワクチン療法も立ち上げて症例を重ねている。また、ヒトゲノム解析センターで新たに腫瘍抗原として同定されたRNF43分子に着目し、そのエピトープペプチドを用いた癌ワクチン療法も開始している。以下に、これらの臨床試験を詳述する。

ae, すでに完了した第1相臨床試験

A 悪性黒色腫に対するHLA拘束性エピトープペプチドワクチン療法

B 進行悪性腫瘍に対する放射線と樹状細胞、ならびにIL-2を用いた免疫療法

ae, 現在進行している第1相、第1/2a相臨床試験

A 悪性黒色腫に対するHLA A*2402拘束性エピトープペプチドとIL-2を用いた腫瘍特異的ワクチン療法（第1/2a相臨床試験）

悪性黒色腫に対する第1相臨床試験の安全性、臨床効果を踏まえて、gp100由来HLA A*2402拘束性エピトープペプチド（gp100 int4: VYFPLPDHL）とIL-2を用いた腫瘍特異的ワクチン療法（第1/2a相臨床試験）を実施している。IL-2の投与目的は、腫瘍特異的細胞障害性T細胞の誘導を増強するためである。この試験の最終的な目標は、臨床効果の判定と安全性の確認、ペプチド特異的な免疫反応の有無の確認である。2003年度には9名の患者様がこの臨床試験に参加され、重大な副作用は生じていない。

B 進行消化器癌に対するHLA拘束性エピトープペプチドとIL-2を用いた腫瘍特異的ワクチン療法（第1/2a相臨床試験）日本人に多い消化器癌に対する有効な免疫療法の確立を目指して、我々は、HLA拘束性エピトープペプチドが判明しているMAGE3とHER2/neu分子由来ペプチドとIL-2を用いたワクチン療法を開始した。HLA A*0201拘束性ペプチドはMAGE3由来：FLWGPRLV、HER2/neu由来：KIFGSLAFLで、HLA A*2402拘束性ペプチドはMAGE3由来：IMPKAGLLI、HER2/neu由来：RWGLLLALLである。ペプチド投与後3日間IL-2を全身投与する。ワクチン投与後の免疫反応の解析には、それぞれのペプチドに対応するHLA Tetramerを用いる。2003年度には進行食道癌1例が登録されて、HLA A*2402拘束性MAGE3由来ペプチドを投与した。重大な副作用は生じなかった。

C 進行大腸癌に対する新規癌関連抗原RNF43由来ペプチドを用いたワクチン療法（第1相臨床試験）

新規癌関連抗原RNF43由来エピトープペプチドを用いた、進行大腸癌に対する第1相臨床試験を開始した。RNF43（Ring Finger Protein 43）は、ヒトゲノム解析センターで23,040個の遺伝子をcDNAマイクロアレイ法を用いて網羅的に調べた結果、正常大腸粘膜には発現がなく、大腸癌に高頻度に発現していることでスクリーニングされた遺伝子である。RNF43由来ペプチドが免疫原性を持っているかどうか検討した結果、HLA A*0201拘束性エピトープペプチド2個とHLA A*2402拘束性エピトープペプチド1個が同定された。これらのペプチドは誘導したCTLクローンによって特異的に認識され、さらに、CTLクローンが内因性にRNF43を発現する細胞を認識できることから、免疫原性を有すると考えられる。したがって、RNF43は大腸癌に高頻度に発現する新しい腫瘍関連抗原と考えた。

臨床研究プロトコルは当院治験審査委員会の承認を受け、臨床試験を開始した。

ae, 現在開発中の臨床試験

A 樹状細胞を用いた遺伝子治療の開発

治療ベクター開発室と密接な連携を図りながら、アデノウイルスベクターを用いてIL-12遺伝子を導入した樹状細胞を、腫瘍局所に投与する遺伝子治療を計画中である。対象疾患は胃癌の肝転移症例を考えている。

B VEGFR2を標的とするペプチドワクチン療法の開発

臓器細胞工学分野において見出された、HLA拘束性vascular endothelial growth factor receptor 2（VEGFR2）分子由来エピトープペプチドを用いて、gastrointestinal stromal tumor（GIST）を対象疾患としたワクチン療法を計画中である。

We have been engaged in the surgical treatment of solid tumors and the immunotherapy of various malignancies. We have also been offering services, including upper and lower endoscopic examination, ultrasonic examination, and angiography. Surgical operations have been performed in 100 cases under general anesthesia and spinal or epidural anesthesia in 2003.

The principal goal of our department is to develop and conduct clinical trials in the early stages（Phase I and II）for patients at Research Hospital. These trials have been and will be derived from the new findings of the basic research projects conducted at Division of Bioengineering and other research divisions. We have performed phase I clinical trials of melanoma vaccine using gp100 derived peptides and immunotherapy using dendritic cells in combination with local irradiation therapy. We have also initiated phase 1/2a clinical trials of epitope peptides based vaccine against gastrointestinal malignancy. Furthermore, we have started phase I clinical trials of epitope peptide vaccine therapy derived from newly identified tumor associated antigen, RNF43, which was screened by using microarray method in Human Genome Center.

ae, Clinical trials finished

A HLA restricted epitope peptides based cancer vaccine for malignant melanoma

B Phase I clinical trial of intra tumor injections of autologous dendritic cells combined with local radiotherapy and systemic administration of IL-2 for advanced cancer patients

ae, Clinical trials on going

A Phase I/IIa clinical trial of melanoma vaccine using gp100 derived peptides restricted to HLA A*2402

From the results of phase I clinical trial of melanoma vaccine using gp100 derived peptides, phase I/IIa clinical trial of melanoma vaccine using gp100 derived peptides were performed. HLA A*2402 restricted gp100 derived peptide（gp100 int4: VYFPLPDHL）was used with IFA and interleukin（IL-2）in order to augment for anti tumor immunity. Our goals in this clinical trial are to examine these clinical efficacy, furthermore, safety and immune responses associated with the peptide vaccination. We have enrolled 9 melanoma patients during year 2003. So far, the protocols were well tolerated, and no cardiac, hematological, hepatic, or renal toxicity was noted.

B Phase I/IIa clinical trial of epitope peptides based vaccine against gastrointestinal malignancy

Epitope peptides derived from MAGE3 and HER2/neu are used for the cancer vaccine to treat the patients with advanced gastrointestinal malignancy. Patients with HLA A*0201 were treated with MAGE3 and HER2/neu derived peptide（FLWGPRLV, KIFGSLAFL）. Patients with HLA A*2402, were treated with MAGE3 and HER2/neu derived peptide（IMPKAGLLI, RWGLLLALL）. All of the peptides were used with IFA and IL-2. To analyze the immune response of the vaccinated patients, HLA Tetramer was prepared and used for staining of the PBLs taken from the patients enrolled in this protocol. Our goals in this clinical trial are the same as previously mentioned clinical trial. A We have enrolled 1 esophageal cancer patient for MAGE3 HLA A*2402 peptide during year 2003.

C Phase I clinical trial of tumor specific vaccine using epitope peptides derived from a novel tumor associated antigen RNF43 against advanced colorectal cancer

A phase I clinical trial has been performed using epitope peptides derived from RNF43 for HLA A*0201 positive and HLA A*2402 positive advanced colorectal cancer patients, in order to evaluate toxicity, clinical and immunological responses. We selected RNF43（Ring Finger Protein 43）as a promising candidate for a tumor associated antigen（TAA）expressed on colon cancer cells but not on normal colonic mucosa among 23040 genes using gene expression profiling with a genome wide cDNA microarray. We examined whether the RNF 43 protein contains antigenic epitope peptides restricted to HLA A*0201 or HLA A*2402. The CTL clones were successfully induced with stimulation using the peptides binding to HLA A*0201 11（9mer）and HLA A*0201 11（10mer）and HLA A*2402 721, and these CTL clones possessed the potent cytotoxic activity specific to not only the peptide pulsed targets but also the tumor cells expressing RNF43 and restricted respective HLA molecules. These results strongly suggest that RNF43 is a new TAA of colon cancer.

The protocol has been approved by the IRB, and the enrollment of the patients has been initiated.

ae, Clinical trials under development

A Development of gene therapy using dendritic cells

In close collaboration with Core Facility for Therapeutic Vectors, we are developing clinical application of IL-12 gene transduced dendritic cells for cancer patients of stomach.

B Development of epitope peptide based cancer vaccine against VEGFR2

Based on murine experiments performed in the Division of Bioengineering, we are planning a phase I clinical trial using epitope peptide based cancer vaccine against vascular endothelial growth factor receptor 2（VEGFR2）for gastrointestinal stromal tumor（GIST）

助教授 医学博士 林 田 眞 和
助 手 医学博士 藤 本 幸 弘

Associate Professor: Masakazu Hayashida, M. D., Ph. D.
Clinical Associate: Takahiro Fujimoto, M. D., Ph. D.

手術部では一般業務として年間約200例（2001年調べ）の手術と、約1600例の検査を行っている。先端医療としての、新しい診断技術、治療方法の開発のための検査、検体採取、手術手技の開発を中心とし、一般医療としての検査、手術も行われている。また、研究所病院としてのプロジェクト診療に関して、受け入れと対策も行っている。

骨髄移植に関して、年間約40例の、血縁者、非血縁者の骨髄採取を行い、日本の骨髄採取におけるセンター的地位を占めている。麻酔科としては、骨髄提供者の周術期の安全確保と無痛下の早期回復をめざして、麻酔方法の検討を行っている。

本院の性格上、感染症患者が多く、検査、手術時の安全対策を常時徹底、見直しして、より安全性の高い管理をめざしている。

現在行っている研究は、麻酔分野における先端医療の一環として、よりよい麻酔、術後鎮痛をめざして、鎮痛のメカニズムの解明、新しい鎮痛薬の開発、さらに、手術、麻酔、輸血の侵襲を最小限に押さえるための研究である。

動物実験で、

æ, 米国の2大学との共同研究で、新しいアセチルコリン作動

薬の開発とその鎮痛作用を含む、生体全般に対する作用の検討

æ,, 製薬会社との共同研究で、新しいグルタミン酸受容体拮抗薬の鎮痛薬としての開発

æ" 脊髄を介する鎮痛作用のネットワークの解明

*In Vitro*の研究で、

æ» 血液製剤をより溶血、白血球の活性化を少なくするための研究

臨床研究で、

æ... よりよい術後硬膜外鎮痛法の開発

æ% 手術、麻酔、輸血による生体内のサイトカインの変動とその制御に関する検討

æ 循環、内分泌変動をより少なくする麻酔法の検討を推進している。

We handle about 200 surgical cases (in 2001) and about 1600 cases of diagnostic or interventional procedures a year. The examinations and surgeries to develop new diagnostic and therapeutic procedures are performed besides the usual examinations and surgeries. We cooperate with other department to promote some projects of the research institute.

About 40 cases a year of bone marrow collections from blood relatives or non relatives are handled under general anesthesia. Our hospital is one of the leading hospital for bone marrow transplantation in Japan. We have tried to give anesthesia as safely as possible and to give early recovery without any pain for the patients receiving bone marrow collections.

We have managed a lot of patients with infectious diseases. We are improving the management of these patients not to spread infection.

The purpose of our advanced research in anesthesiology is how to keep patients during and after anesthesia as stable as they are before anesthesia. We are studying the mechanisms of analgesia, developing new analgesic agents, and studying how to minimize the invasive response to surgical stimulation, anesthesia and blood transfusion.

In animal experiments

æ, Development of new agents acting on acetylcholine receptor and their *in vivo* and *in vitro* actions including analgesic effects in cooperation with two universities in USA.

æ,, Development of a new glutamate receptor antagonist as an analgesic agent in cooperation with a pharmaceutical company.

æ" Studying the network mechanisms of analgesia in the spinal cord.

In vitro study

æ» Improvement of the stored blood products to reduce hemolysis and activation of neutrophils.

In clinical study

æ... Improvement of postoperative epidural analgesia.

æ% Studying the changes in cytokines by surgical stimulation, anesthesia, and blood transfusion and how to control their changes.

æ Development of new anesthesia methods to minimize hemodynamic and hormonal changes.

教授 (併) 医学博士 岩 本 愛 吉
特任講師 医学博士 長 村 文 孝
特任教員 医学博士 小 林 誠一郎

Professor: Aikichi Iwamoto. M. D., D. M. Sc.
COE Lecturer: Fumitaka Nagamura. M. D., D. M. Sc.
COE Clinical Associate: Seiichiro Kobayashi. M. D., D. M. Sc.

医療安全管理部は医科学研究所附属病院内で行われるトランスレーショナルリサーチを中心とした臨床研究が科学的・倫理的に適切に施行される事を支援・検証する部門として平成13年に設立された。また、附属病院内での医療事故防止や対策にも中心的な役割を担っている。平成16年には病院長を部長とし、改組がなされた。

プロトコル作成に関する助言ならびに治験審査委員会前のプレ・レビュー：科学的・倫理的に妥当な臨床研究を行うためには適切なプロトコルを作成することが不可欠である。そのため、医療安全管理部では研究のデザインや解析方法などに関する助言を随時行っており、治験審査委員会前にプロトコルの提出を責任医師に要請し、改善点や改良点について助言している。また、臨床研究に関して施設の内外を問わず相談に応じている。

トランスレーショナルリサーチ・コーディネーター (TRC)・クリニカルリサーチ・コーディネーター (CRC) 活動：臨床試験施行時にコーディネーターの関与は潤滑な運営と被験者との関わりのおかげで不可欠である。トランスレーショナルリサーチでは被験者の理解と倫理面に充分配慮しなくてはならない。そのため看護師、薬剤師、臨床心理士、栄養士、検査技師よりなるTRCを組織しているが、TRCの責任者である薬剤部長とともにこの活動を支援している。また、CRCが医療安全管理部に配属されており、製薬会社からの治験や医師主導の臨床研究に参加し、GCPに沿った試験を支援している。

院内臨床研究の支援・監視：臨床研究の質と遂行の妥当性を保証するために、毎週開催されるTRC会議で問題点を検証・検討している。臨床研究終了時にはモニタリングを行っている。

医療事故対策：医療事故防止・対策のために職員に「医療上の問題報告書」によりインシデント・アクシデント報告を求め、これらの事象の検討や対策を講じる他、講習会の開催やマニュアル・手順の見直しを行っている。必要に応じて医療事故緊急対策会議を開催し、速やかな対応を行っている。

Division of Clinical Trial Safety Management (DCTSM) was established in 2001. The aims of DCTSM are: to support and to watch that clinical trials in Research Hospital, especially in the case of translational research (TR), should be conducted appropriately; to prevent and to treat medical accidents. DCTSM was reorganized in 2004, and the director of the Research Hospital was designated as the director of the division.

Advices and pre-review on protocols of clinical studies including translational researches: Appropriate protocol is indispensable for carrying out the clinical trials with scientific and ethical appropriateness. For the researchers help, we advise on the study designs and protocols as needed. We ask principle investigators to submit the protocol so as to give advices and to point out the safety concerns before submitting to the Institutional Review Board. Our tasks on advices for clinical studies are opened not only for the Research Hospital, but also for other institutes.

Activities of Translational Research Coordinator (TRC) and Clinical Research Coordinator (CRC): The activities of research coordinators are important to conduct studies smoothly and to manage the relationship with participants. In TR, sufficient concerns on the rights and the understandings of participants themselves should be paid compared with other clinical researches. TRCs have been organized to solve the problem described above, and they consist of nurse, pharmacist, psychologist, dietician and clinical laboratory technologist. DCTSM collaborates with the chief of TRC, director of pharmacy, on the activities of TRC. Exclusive CRC belongs DCTSM and takes part in clinical trials from pharmaceutical companies and medical doctor initiative studies to maintain GCP requirements

Support and monitor of clinical studies in the Research Hospital: To check the process of the study, procedures, and examination and reports on Adverse Events is essential for clinical studies to guarantee the qualities and ethics of studies. We hold TRC meeting weekly to discuss and to dissolve the problems of studies. We perform the monitoring after the completion of study, and report to Director of the Research Hospital and principal investigators.

Prevention and management of medical accidents: We ask staffs of the Research Hospital to submit "Reports on medical problems" on medical incidents and accidents to analyze and to manage them. We hold the instructive opportunities on medical accidents two times a year for the enlightenments of staffs. At medical accidents and according to the needs, "medical accident-response meeting" are held for the management.

部長(併) 理学修士 清水 哲 男

Professor: Tetsuo Shimizu, M. Sc.

æ, オーダリング・システムの運営と改善

医科学研究所附属病院の医療情報化のために、オーダリングシステムが2001年3月から稼働しはじめました。このシステムは、病院情報システム(HIS: Hospital Information System)の一環であって、患者さんに対する医療オーダーを一元的に管理し、医事、検査、薬剤、栄養管理の各部門が、連携して患者さんをサポートする「しくみ」であり、また、今後進展するであろう電子カルテ化を含む医療情報化の基礎となるシステムです。医療情報部では、各部門の情報化担当を中心とする医療情報ネットワーク運営委員会を定期的に開催し、オーダリング・システムの運営と改善にとりくんでいます。また、新病院棟の運用開始にあわせて、バーコード付きリストバンドによる患者さん認証システムを導入し、注射輸血実施入力システムの24時間稼働とあわせて、より安全で効率的な医療情報システムの構築を目指して活動しています。

æ,, 病院内情報共有化の推進

医療安全のためには、患者さんの情報だけではなく、院内の医療従事者の情報の共有化が不可欠です。医療情報部では、最新のITを駆使したWeb上での院内情報化システムを開発し、医療従事者のスケジュール管理や伝言板として役立てていきます。さらに、これを発展させて、院内だけではなく、最新の医療情報が流通する「しくみ」を開発していく予定です。

æ", データウェア・ハウス・システムの開発

今後医科研附属病院で進展すると予想されるトランスレーショナル・リサーチにおける医療安全の確保のためには、EMB(Evidence Based Medicine: 科学的根拠に基づく医療)の考え方が不可欠です。医療情報部では、現在のオーダリング・システムに付加する形で、データウェア・ハウス・システムを開発する予定です。この中で、いわゆる5W1H型の時系列医療データベースを蓄積研究し、それらを電子カルテ化の基礎情報とするとともに、いわゆるデータ・マイニングに手法によって、多くの医療行為に含まれるルールや経験法則を抽出し、患者さんのために最適な形の医療業務が行えるよう、医療安全管理と医療業務の改善に役立てたいと考えています。これらのデータベースは、病院の経営情報分析管理のためにも、大いに役立つと考えられます。

æ> ゲノム情報と連携した将来の医療情報システムの研究

医科研の内外で進展しつつあるゲノム科学の成果は、遠くない未来に、オーダーメイド医療として医科学に応用されるに違いありません。医療情報部では、ゲノム医療情報ネットワーク分野での研究と連携して、ゲノム科学、Bioinformaticsが医科学に与えるであろう影響を評価しつつ、未来の医療情報システムが医科学研究所附属病院にとってどうあるべきかを研究しています。

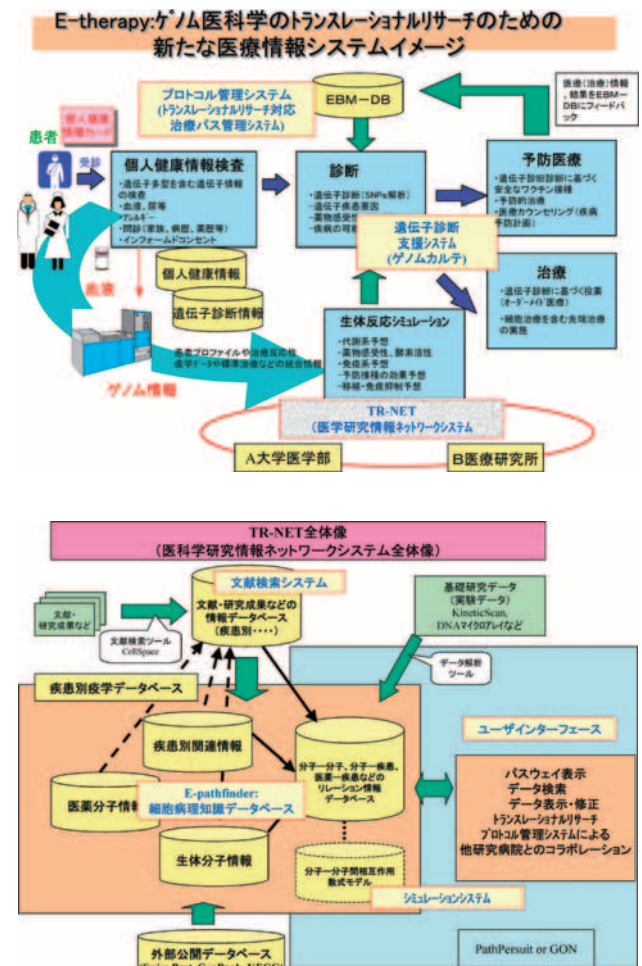
The purpose of the Division of Medical Information System is to develop and maintain the hospital information system for clinical security and improvement of medical processes. Some action programs of the division are as follows.

Operation, Maintenance, and Improvement of Ordering System,

Development of Web based Information sharing System of the Hospital,

Development of Datawarehouse System for Evidence Based Medicine, and

Research of Genome based Future Hospital Information System.



教 授 併) 医学博士 岩 本 愛 吉
講 師 医学博士 長 村 登 紀 子

Professor: Aikichi Iwamoto, M. D., D. M. Sc.;
Lecturer: Tokiko Nagamura-Inoue, M. D., Ph. D.

当輸血部は病院内の輸血オーダーから輸血関連検査といった輸血管理にあたっている。2004年から院内IT化に伴い輸血オーダーリングシステムが導入され、輸血事故の防止に努めている。一方こうした日常業務に加えて当部門は研究所の臨床部門としての性格から、骨髄・末梢血幹細胞移植、臍帯血移植に代表される造血幹細胞移植、先端医療としての種々の免疫療法、遺伝子治療をサポートする責務を有している。現在の細胞治療は後視野の臨床研究、ゲノムの解析、分子病態の解明といった基礎基盤から展開されるTranslational Research (TR) 中にある。このTRが進められていく中で、ヒト由来の細胞の取り扱いについて国内外の規制体系もまた整備されつつある。当部門は特に細胞治療を安全で効果的に進めていく上でドナーや患者の選択、細胞採取、培養、保存、輸注または移植までの臨床研究の一連の流れをcGMPの概念に沿って展開中である。また血液悪性疾患の治療に関しては治療成績をより向上させる目的で 1) 再発を抑制するリンパ球療法を併用した移植、2) 移植片対宿主病 (GVHD) を防ぐ目的でT細胞除去骨髄移植、3) より効率的な同種・自家末梢血幹細胞移植のための細胞採取、4) GVL効果を目指したNK細胞、NKT細胞の増幅、T細胞の増幅や分化増殖過程の解析、5) GVHD抑制を目的としたT細胞と間葉系細胞の共培養によるregulatory T細胞の誘導などの基礎研究を進めている。なお最近細胞プロセッシング研究部門との共同研究として再生医療に向けて長期保存骨髄からの間葉系細胞の誘導、分化に関する検討も始めた。これらは、種々の疾患に対する先端医療に付随する新しいサイトカイン療法や免疫療法、遺伝子治療や分子標的治療の開発をも視野にいれたものである。

こうした細胞処理を安全円滑に行うために臨床細胞工芸室 (Room for Clinical Cellular Technology: RCCT) が設置され、当輸血部は使用研究部門とともにその運営に当たっている。RCCTはクリーン・ルームと、遺伝子導入を取り扱える臨床用P3ルームを備えており平成9年4月より稼動を開始している。このユニットは内科、小児科、外科など各診療科の先端医療、細胞治療のコアとされており、当輸血部はこうした治療の中継点となっている。

Our department manages the transfusion medicine in the hospital including transfusion related examinations. Since 2004, transfusion ordering IT system has been established for the protection of transfusion accident. In addition, this department is responsible for the supportive function of hematopoietic stem cell transplantation including bone marrow, peripheral blood and cord blood and also various immunotherapy and gene therapy as advanced medicine. Recent cell therapy including cell processing is a part of translational research (TR) developed from retrospective clinical study, genome analysis and molecular research. This TR involving human cells has been developing the domestic and international regulations. Our department is now trying to introduce the cGMP concept for donor selection, cell collection, culture, cryopreservation and transfusion. Our projects include 1) transplantation with lymphocyte expansion for the prevention of relapse, 2) T cell depleted BMT, 3) Efficient cell collections for allo auto PBSCT, 4) Expansion of NK, NKT and T cells and analysis of differentiation for GVL effect and 5) Co culture system of T cell and mesenchymal cells to expand regulatory T cells for prevention of GVHD. In addition, recently we started the regenerative study to assess the differentiation ability of the mesenchymal cells derived from long term cyopreserved bone marrow, as cooperative study with Division of Cell Processing. For the purpose to implement these advanced projects, Room for Clinical Cellular Technology: RCCT was established in 1997. RCCT includes clean room and P3 room to deal with gene transfer and infectious patient therapy. Our department is the relay point to implement these advanced medicine among each project team.

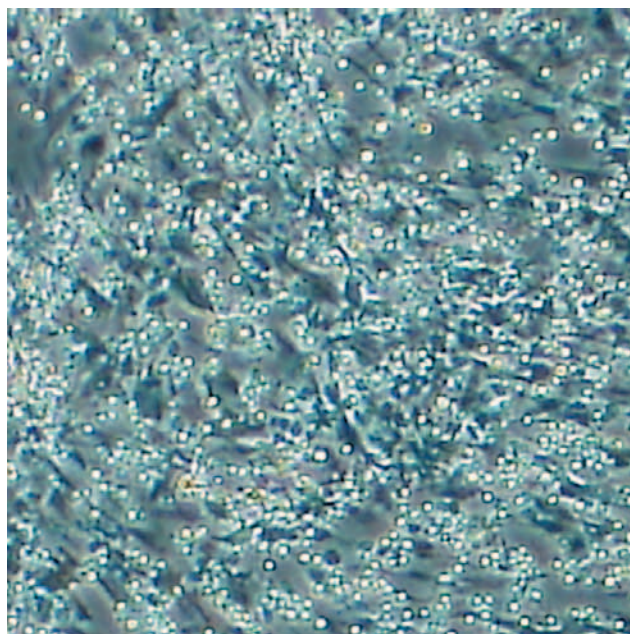


図 1
間葉系細胞上でのTリンパ球の共培養

Fig. 1
Human T lymphocyte proliferation on mesenchymal cells

従来の中央材料部の業務は、医療材料の保管・管理・払い出し、および医療材料の洗浄・消毒・滅菌の二本立てであったが、平成16年2月への新病院棟2Fへの移動に伴い、業務はSPDに移管され、現在は業務が遂行されている。現在の人員は部長および師長（いずれも手術部との兼務）以下の3人の委託職員であり、設備としてはウォッシャー・ディスインフェクター2台、オートクレーブ2台、プラズマ滅菌器1台、ホルマリンガス滅菌器1台を有する。主業務として病棟・外来・手術室で使用する硬性小物（手術器具など）やその他の医療材料（エアウェイや呼吸器回路など）の洗浄・消毒・滅菌を施行しており、また、それに付随する物流管理業務（物品定数管理、品質管理、期限切れチェック、部署定数保管庫の点検、物品管理状態の用度課への定期的報告）も遂行している。

Major roles of Department of Medical Supply is to sterilize and supply a variety of medical appliance such as surgical instruments, medical tubing, and circuits for ventilators, which are used in operating rooms, surgical as well as medical wards and outpatient clinics. Sterilization is conducted by 3 staffs under guidance of a department director and a head nurse, using several sterilizers including washer disinfectors, autoclaves, a plasma sterilizer and a formalin gas sterilizer. Our roles also include supply and quality control of the medical appliance.

助教授

医学博士 小柳津 直 樹

Associate Professor: Naoki Oyaizu, M. D., D. M. Sc.

当検査部は生理、血液、生化学・血清、細菌、病理の5部門より構成され附属病院より提出される臨床検体の検査解析、診断にあたっている。このような日常業務に加え医科研附属病院が探索型臨床研究の拠点に指定されたのを期に検査部全体を探索医療対応型に大きく進化・変換させる一歩を踏み出している。探索医療推進のためには臨床検体から最高度に引き出した情報を土台に evidence basedの検証作業が不可欠となる。とりわけ核酸・タンパク解析の革新的発展に伴い疾病が分子の言葉で規定され疾病規定分子を標的とした治療法が導入される新時代に突入した現在、分子基盤に基づいた新規アッセイの開発、また治療有効性を客観的に評価しうるマーカーの設定を視野にその準備を進めている。また骨髄移植をはじめとした移植医療の定着によりこれまで経験し得なかった感染性病原体 宿主相関、未解明の免疫異常病態が新たな課題として浮き彫りになってきておりこれらの新たな課題に取り組み臨床に意味ある情報を迅速に発信することが今後の検査部に与えられたミッションであると考えている。

Our department consists of five divisions of clinical physiology, hematology, biochemistry, bacteriology and pathology, and engages in laboratory analysis and diagnosis of clinical material submitted from the research hospital. Along with the ongoing practice of experimental therapy of enhanced medicine in the research hospital, we are now performing the extensive analysis to evaluate the effectiveness of these experimental approaches and developing molecular based surrogate markers to set appropriate endpoints. Our goal is to evolve into function as an integrated diagnosis & monitoring laboratory thereby promoting and contributing to the translational research at IMSUT.

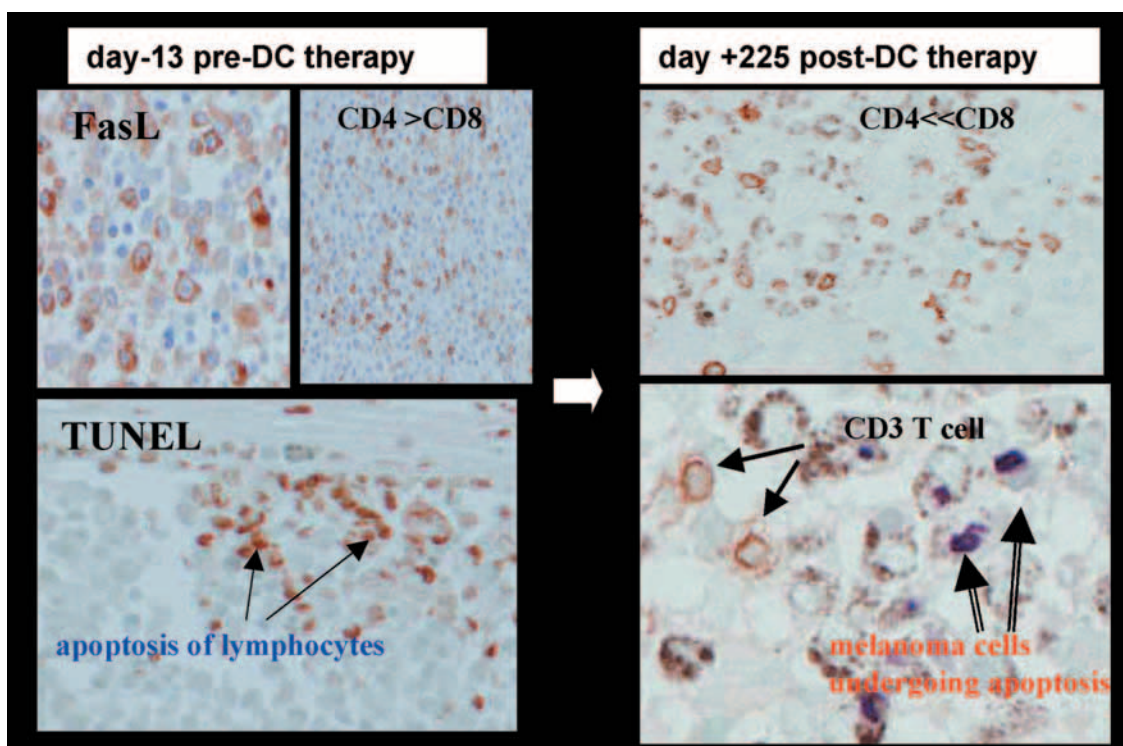


図 1

メラノーマ樹状細胞療法治療前(左)、後(右)の変化を示す。治療前の腫瘍浸潤リンパ球はCD4 T細胞優位でありかつメラノーマ細胞に発現しているFasLによりリンパ球自らがアポトーシスに陥っているのが示唆される。これに対し、治療後はCD8 T細胞優位に転換し、逆に腫瘍細胞にアポトーシスが誘導されている。

教育活動 EDUCATION

東京大学医科学研究所は、大学院制度を中心にした研究者の養成機関としても大きな実績をもち、研究者を目指す若い人々に理想的な教育環境を提供している。各研究分野の教員は医学系、理学系、農学生命科学、薬学系、情報理工学系新領域創成科学研究科のいずれかの協力講座の教員として、大学院学生を受け入れている。特に「学融合」を追求して東京大学大学院に新設された新領域創成科学研究科のうち、メディカルゲノム専攻は、医科学研究所が協力することにより平成16年度に発足したものである。同専攻の3基幹講座は白金台キャンパスにも研究室を持ち、医科学研究所との強い連携のもとで領域横断的な教育・研究を展開している。教育機関としての特徴は、研究者を目指す大学院学生が中心であり、教員は学生に対する講義や実習の義務が少なく、研究室で若手の育成に専念できることにある。また、学生も教員も、多様な背景と興味をもつ人々が、研究室の垣根を越えて盛んに交流していることも、大きな特色であろう。これらの人的条件と、優れた研究環境とを活かして、以下に述べるような特色ある教育制度も機能している。

医科学研究所独自の教育コースとして制度化されているものとしては、大学院実習、大学院セミナーなどがある。

大学院実習とは、各研究室がごく少数（1人から4人程度）の大学院学生に1週間から2週間の間実験を指導するというシステムである。大学院学生にとっては、それぞれの研究分野の研究者から直接に技術と考え方を修得する絶好の機会である。

大学院セミナーは、大学院学生を対象とした毎週のセミナーシリーズであり、年ごとにテーマを設定して全国から研究者を招待して開催される。テーマの設定には大学院学生の希望が反映され、履修は大学院の単位として認められている。

情報について、医科学研究所は恵まれた条件をもっている。ヒトゲノム解析センターのゲノムデータベース部門などには、コンピュータ専門家が教職員としてそろっており、講習会が繰り返し開かれている。

また頻繁に開かれる学友会セミナーやインフォーマルなセミナーで、国内外の研究者から直接研究の進展を学ぶことができる。

図書室は24時間体制でほぼいつでも利用貸出できる。コンピュータによる文献検索システムも整備している。

The Institute of Medical Science, The University of Tokyo (IMSUT), is prominent as an institution for graduate education. It provides an ideal environment for young people interested in following a career in scientific research. Drawing upon diverse backgrounds in medicine, physics, chemistry agricultural biology, pharmacology, and informatics, the faculties of the various divisions teach a wide range of courses to a similarly diverse cross-section of elite graduate students. Putting this strength to good use, the University of Tokyo has now established the new Department of Medical Genome Sciences, to pursue interdisciplinary studies within the Graduate School of Frontier Sciences. Through IMSUT's strenuous efforts, this program was launched in fiscal year 2004, with the Shirokanedai campus housing many participating laboratories as well as three of the six courses that make up the program's core curriculum. Thus, with IMSUT's strong cooperation, cross-discipline education and research is expanding. The professors and staff members do not have heavy teaching obligations, and can thus concentrate on guiding students in their laboratory research. The departments and divisions frequently collaborate and interact closely with each other.

The programs provided by the Institute include graduate laboratory courses and an annual graduate seminar series.

In the graduate laboratory courses, each of the divisions provides a short (1–2 weeks) laboratory course to several graduate students. This provides excellent introductions to the various fields by the researchers actively engaged in them.

The graduate seminar series is a 6-month long seminar series by speakers invited from all over the country. The graduate students are involved in choosing the series theme.

IMSUT has excellent computer facilities. Courses in genome informatics are held frequently to train beginners. There are many computer experts in the Human Genome Center as well as in other departments.

The students learn about the most recent developments from distinguished research leaders—both domestic and foreign—in frequent IMS (Gakuyukai) seminars and other informal seminars.

Reflecting the ambition and dedication of our faculty and students, the library is open 24 hours per day and has a computerized literature search system.

案内図 LOCATION AND TRANSPORTATION



交通機関

- V 東京メトロ南北線・都営地下鉄三田線白金台駅下車。
- W JR山手線目黒駅東口から都バス 大井町線行または 大井町線行で、白金台駅下車。あるいは、都バス 千駄ヶ谷行または 新橋駅前行で、東大医科研病院西門下車。
- X JR品川駅から都バス 目黒行で、白金台駅下車。
- Y 東京メトロ日比谷線広尾駅そばの都バス広尾橋から 目黒駅行で、東大医科研病院西門下車。

住所
〒108 8639 東京都港区白金台4 6 1
Address
4-6-1, Shirokanedai Minato-ku ,Tokyo 108-8639

平成16年10月1日 発行

発行

〒108 8639 東京都港区白金台4-6-1

東京大学医科学研究所

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imswww/index-j.html>

電話 03 (3443) 8111 (代表)

ファクシミリ 03 (5449) 5402

電信記号 TODAIKAKEN TOKYO

印刷 勝美印刷(株)