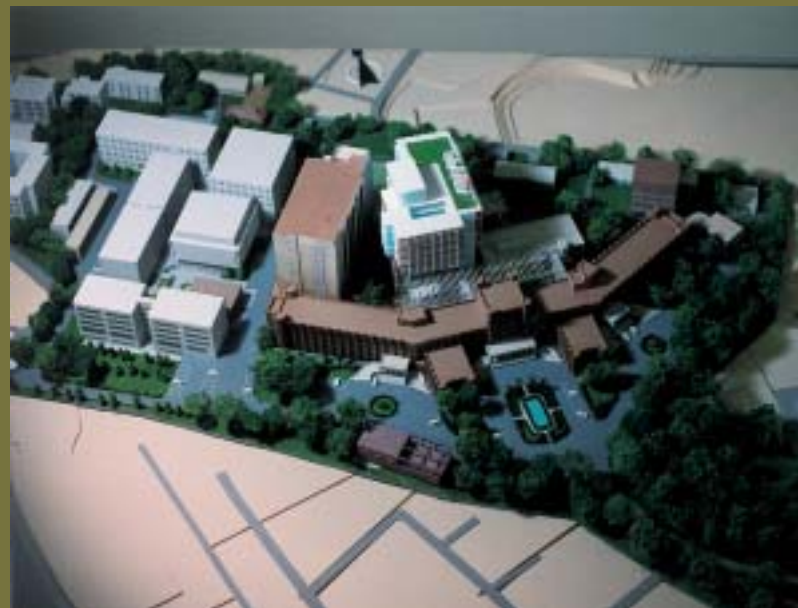


東京大学医科学研究所概要

THE INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCE THE UNIVERSITY OF TOKYO



新キャンパス模型
(平成15年完成予定)



2002

医科学研究所は1967年にその前身である伝染病研究所から改組された。現在、約150名のスタッフと、医、理、農、薬、工学系の約200名の大学院生から構成される学術的研究所として、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研究を行っている。さらに、2000年4月に、生命・医科学の基礎研究と、ゲノム医療、細胞・遺伝子治療などの先端医療開発をより効果的に進めるため、「感染・免疫」、「癌・細胞増殖」、「基礎医科学」の3大部門と、「ヒトゲノム解析センター」、「ヒト疾患モデル研究センター」、「先端医療研究センター」の3センター、研究所病院に改組した。2001年4月には実験的探索医療の全国的センターとして研究所病院が改組された。医科学研究所は、大部門を基礎とする「個人の自由な発想に基づく独創的な研究」と、センターと研究所病院を基盤とする「目的志向型の研究」が協力して、「ベンチからベットサイドまで」を包含する先端医科学を展開することをめざしている。改組に伴って、「教授ユニット」や「独立助教授ユニット」など研究単位の評価制と任期制も導入された。医科学研究所がこれまで進めてきた自己改革は、ゲノム、プロテオーム、Rnomics、細胞治療をはじめとする生命科学のめざましい発展とも密接に関連している。今後の生命科学は、個人の自由な発想に基づく研究と、目的志向型の組織研究をバランスよく推進する戦略を持つことが必要である。研究における最大の要素は人であり、科学技術の発展は究極的には個人の独創性に基づくことが大前提である。また医科学研究所は、2000年から開始されたミレニアムプロジェクトの実施拠点としての役割も担っている。本概要を通して、先端医科学、ゲノム医療、細胞治療などをめざしてはばたく医科学研究所の一端を汲み取って下されば幸いである。

所 長 新 井 賢 一

The Institute of Medical Science of the University of Tokyo (IMSUT) evolved from its origin, the Institute for Infectious Disease in 1967. The mission of IMSUT is to advance our basic knowledge underlying infectious diseases, cancer and other intractable diseases and to ultimately controlling them. IMSUT consists of about 150 faculty members, 200 graduate students coming from various schools such as medicine, science, agriculture, pharmaceutical science, and engineering. To develop more effectively interdisciplinary research of basic life science and genomic medicine, IMSUT was reorganized on April 2000, consisting of three core departments (Microbiology and Immunology, Cancer Biology and Basic Medical Sciences), three centers (Human Genome Center, Center for Experimental Medicine, Advanced Clinical Research Center) and IMSUT Research Hospital. As a center for experimental medicine in Japan, IMSUT Research Hospital was reorganized on April 2001. IMSUT is conducting two types of research, both of which are essential for the institute covering the areas from bench to bedside; one is the individual research based on the creative activities of the scientists in core departments and the other is the highly organized goal-oriented research based on the activities of three centers and hospital. IMSUT introduced periodic evaluation system of the researchers and the term of the Principal Investigators' (PIs') research unit (such as Professor's or Associate Professor's unit). This restructuring of IMSUT is in keeping with rapid development of life science including genomics, proteomics, Rnomics (RNA engineering) and Cellomics (cell engineering).

It is becoming imperative to develop both creative research of individuals and goal-oriented research in proper balance. In both cases, the most important element in science is the human resources and the environment encouraging the creativity of the individual scientists. Since 2000, IMSUT has been playing a key role in the Millennium Project of the Japanese Government. From this report, I hope you will find the current activities and the spirit of the IMSUT to advance the frontier of biomedical research including genomic medicine and cell therapy.

Ken-ichi Arai, MD, PhD, Dean



沿革

機構

研究活動

感染・免疫大部門

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

癌・細胞増殖大部門

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
人癌病因遺伝子分野
分子発癌分野
腫瘍分子医学分野
腫瘍抑制分野

基礎医科学大部門

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
染色体制御分野

寄付研究部門

幹細胞シグナル分子制御(アムジェン)研究部門
細胞プロセッシング(旭化成・ニプロ)研究部門
造血因子探索(中外製薬)研究部門
ゲノム情報応用診断(大塚製薬)研究部門
プロテオーム解析(ABJ&Millipore)研究部門
細胞ゲノム動態解析(ビー・エム・エル)研究部門

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
ゲノム構造解析分野
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
ゲノム機能解析分野
機能解析イン・シリコ分野
ヒト疾患モデル研究センター
高次機能研究分野
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研究分野
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
病院

教育活動

HISTORY1

ORGANIZATION3

RESEARCH ACTIVITIES

Department of Microbiology and Immunology	9
Division of Bacterial Infection	10
Division of Immunology	11
Division of Host-Parasite Interaction	13
Division of Virology	14
Division of Infectious Genetics	16
Division of Mucosal Immunology	17
Department of Cancer Biology	18
Division of Oncology	19
Division of Cancer Cell Research	20
Division of Cancer Genomics	21
Division of Pathology.....	23
Division of Cellular and Molecular Biology	24
Division of Biochemistry	25
Division of Genetics	27
Department of Basic Medical Sciences	28
Division of Molecular cell Signaling	29
Division of Neuronal Network	30
Division of Structural Biology	31
Division of Molecular Neurobiology	33
Division of Molecular Biology	34
Division of Molecular and Developmental Biology	37

DONATION LABORATORIES

Division of Stem Cell Regulation (AMGEN).....	38
Division of Cell Processing (ASAHI KASEI・NIPRO)	39
Division of Hematopoietic Factors (CHUGAI)	40
Division of Genetic Diagnosis (OTSUKA).....	41
Division of Proteomics Research (ABJ&Millipore)	43
Division of Cellular Peoteomics (BML)	44

RESEARCH FACILITIES

Human Genome Center.....	45
Laboratory of Genome Database	46
Laboratory of Genome Structure Analysis	47
Laboratory of DNA Information Analysis	48
Laboratory of Molecular Medicine	49
Laboratory of Genome Technology	50
Laboratory of Sequence Analysis	51
Laboratory of Functional Genomics	52
Laboratory of Functional Analysis <i>in Silico</i>	53
Center for Experimental Medicine	54
Laboratory of DNA Biology & Embryo Engineering	
Laboratory of Cell Biology	55
Laboratory of Gene Expression & Regulation	56
Laboratory of Stem Cell Therapy	57
Advanced Clinical Research Center	58
Division of Molecular Therapy.....	59
Division of Cellular Therapy	60
Division of Infectious Diseases	61
Division of Bioengineering	62
Division of Clinical Immunology	63
Division of Medical Data Processing Network System.....	64
Laboratory Animal Research Center	65
Laboratory of Molecular Genetics	66
Amami Laboratory of Injurious Animals	67
Research Hospital	68

EDUCATION

- 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。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ッシング(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 built 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。

lular 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.

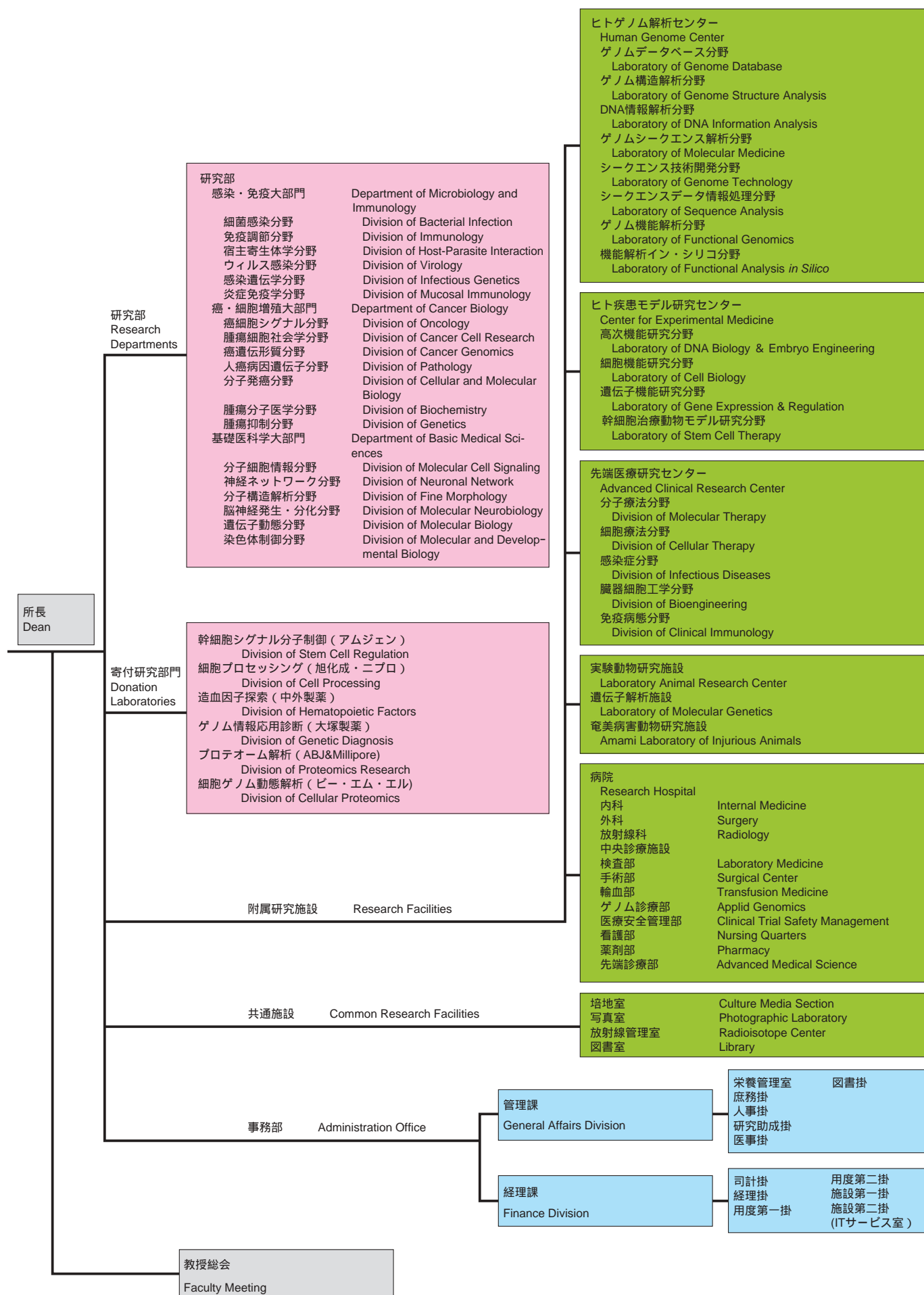
Donation Division of Cell Processing(ASAHI CHEMICAL and NISSHO)

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.

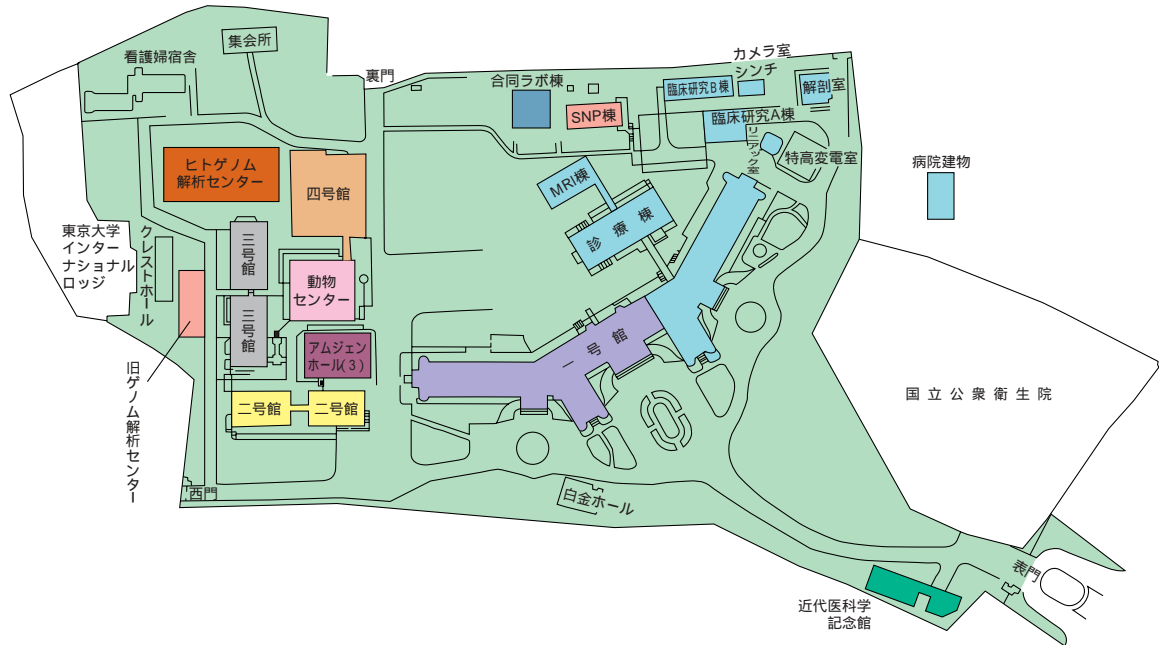
2002：Donation Division of Cellular Proteomics (BML).

機構 ORGANIZATION



構内配置図

MAP OF THE INSTITUTE



一号館



- 4階 写真室・電話交換室
- 3階 細菌感染分野・炎症免疫学分野・感染症分野・分子療法学分野・病棟(内科)
- 2階 免疫調節分野・分子細胞情報分野・遺伝子動態分野・東病棟(外科)・西病棟
- 1階 感染遺伝学分野・臓器細胞工学分野・医事掛・薬剤部・看護部長室・外来
- 地階 細胞療法学分野・宿主寄生体工学分野・先端診療部・放射線室

二号館



- 4階 腫瘍抑制分野・遺伝子機能研究分野
- 3階 分子発癌分野・ウイルス感染分野
- 2階 実験動物研究施設・遺伝子動態分野
- 1階 人癌病因遺伝子分野
- 地階 分子構造解析分野

三号館



- 4階 遺伝子解析施設・ウイルス感染分野・癌細胞シグナル分野
- 3階 ゲノム構造解析分野・癌遺伝形質分野・癌細胞シグナル分野・腫瘍細胞社会学分野
- 2階 脳神経発生・分化分野・神経ネットワーク
- 1階 腫瘍分子医学分野・染色体制御分野
- 地階 培地室

四号館



- 4階 免疫調節分野・幹細胞治療・動物モデル分野
- 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

ヒトゲノム解析センター



- 4階 ゲノムデータベース分野・DNA情報解析分野
- 3階 ゲノム機能解析分野
- 2階 ゲノムシーケンス解析分野・シーケンス技術開発分野
- 1階 放射線管理室

動物センター



実験動物研究施設

診療棟



- 2階 手術室・中央材料室
- 1階 輸血部・透析室
- 地階 検査部

アムジェンホール

幹細胞シグナル分子制御
(アムジェン) 寄付研究部門

旧ゲノム解析センター

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

合同ラボ棟

- 3階 染色体制御分野
- 2階 ゲノム情報応用診断(大塚製薬) 寄付研究部門
- 1階 遺伝子動態分野
プロテオーム解析

臨床研究A棟

- 3階 細胞プロセスシグナル(旭化成・ニッショー) 寄付研究部門
- 2階 免疫病態分野
- 地階 遺伝子多型センター

臨床研究B棟

造血因子探索(中外製薬) 寄付研究部門

MRI棟

- 2階 先端診療部・ゲノム医療情報ネットワーク分野

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	69 494	8 424	34 402
病 院		4 328	14 688
小 計	69 494	12 752	49 090
奄 美 地 区	8 834	519	519
計	78 328	13 271	49 609

(平成14.5.1現在)

主要建物内訳

名 称	構 造	建面積	延面積	建築年月
		m ³	m ³	
1 号 館	鉄筋コンクリート造3階建(1部5階)地下1階	3 533	13 886	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	5 469	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
別 館 æ,	耐火造混用2階建	229	468	昭17 . 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
別 館 æ,,	鉄骨造2階建(ヒトゲノム解析センター)	267	536	平 5 . 2
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	4 514	平 9 . 3
リ ニ ア ッ ク 室	鉄筋コンクリート造平屋建	63	63	昭39 .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
シ ン チ カ メ ラ 室	鉄筋コンクリート平屋建	77	77	昭46 . 3
診 療 棟	鉄筋コンクリート造2階建地下1階	815	2 278	昭53 . 3
解 剖 室	鉄筋コンクリート造平屋建	153	153	昭15 .10
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	598	平12 . 1
看 護 婦 宿 舎	鉄筋コンクリート造3階建(1部4階)	457	1 375	平 8 . 3
M R I 室	鉄筋コンクリート造2階建	225	457	
アムジェンホール	鉄骨2階建	241	482	
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
合 同 ラ ボ 棟	鉄骨造3階建	670	1 995	平13 . 3
そ の 他 建 物	倉庫等			
計		11 951	48 062	

予 算 ACCOUNTS

予 算

(平成13年度)
(単位: 円)

	研 究 所	病 院	計
人 件 費	1 852 233 315	1 254 306 294	3 106 539 609
物 件 費	2 424 691 726	2 060 595 124	4 485 286 850
計	4 276 925 041	3 314 901 418	7 591 826 459

科学研究費	個人経費	1 426 987 496	} 合計
	機関経費	1 081 341 085	
委任経理金		799 273 922	2 508 328 581
産学連携等研究費 (出資金含む)		1 370 758 951	

病 院

1. 予算病床数

(平成14.3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13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	14 858	8 421	475	255	24 009
入 院	19 151	9 500	2 454	0	31 105

3. 病院収入

(平成13年度)

外 来	入 院	計
711 962 251	1 491 112 967	2 203 075 218

図 書

(平成14.3末現在)

	洋 書	和 書	計
蔵 書	52 695	9 875	62 570
定期刊行物	960	318	1 278種類

職員 STAFF

所 長 新井 賢一
Dean Ken-ichi Arai

現員（平成14.5現在）

	研究所 Institute	病 院 Hospital	計 Total
教 授 Professor	34	1	35人
助教授 Associate Professor	25	5	30人
講 師 Lecturer	7	3	10人
助 手 Research Associate Clinical Associate	60	12	72人
事務官 Official	33	6	39人
技 官 Technical Official	58	122	180人
計	217	149	366人

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 プロセス	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	計
客員教授	1	1	0		1	1	4
客員助教授	1		1	2	1		5
教員(助手相当)	1	2		3	1	2	9

大学院生 Graduate Students

研 究 科	修 士	博 士	計
医 学 系	5	102	107
理 学 系	19	10	29
農 学 生 命 科 学	0	8	8
総 合 文 化	0	1	1
薬 学 系	4	6	10
情 報 理 工 学 系	1	0	1
計	29	127	156

研 究 生	Research Students	48
非常勤医師	Part-time Physicians	10
非常勤講師	Part-time Lecturers	25

事 務 部 Admission Office

事務部長 木 村 憲

管 理 課 長	鈴 木 昌 良	経 理 課 長	小 川 勝 美
管理課長補佐	津布久 和 男	経理課長補佐	天 池 道 之
専 門 員	金 子 齋 子	専 門 員	小 林 〇 之
専 門 員	浅 見 新 吉	施 設 主 任	村 田 和 男
栄養管理室長	小野寺 公 枝	司 計 掛 長	新 井 忠
庶 務 掛 長	榎 本 達 也	経 理 掛 長	川 合 勇美子
人 事 掛 長	柳 川 恵 雨	用度第一掛長	金 枝 久 子
研究助成掛長(併)	金 子 齋 子	用度第二掛長	金 木 茂
医事掛長(併)	浅 見 新 吉	施設第一掛長	大 河 史 彦
図 書 掛 長	田 谷 和 子	施設第二掛長(併)	村 田 和 男

歴代所長

FORMER DIRECTORS

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	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	昭47.1.1 ~ 昭48.6.30	Manabu Sasa	1972 ~ 1973
第15代	山本	正	昭48.7.1 ~ 昭52.3.31	Tadashi Yamamoto	1973 ~ 1977
第16代	下條	寛人	昭52.4.1 ~ 昭54.3.31	Hiroto Shimojo	1977 ~ 1979
第17代	積田	亨	昭54.4.1 ~ 昭58.3.31	Toru Tsumita	1979 ~ 1983
第18代	小高	健	昭58.4.1 ~ 昭62.3.31	Takeshi Odaka	1983 ~ 1987
第19代	豊島	久眞男	昭62.4.1 ~ 平2.3.31	Kumao Toyoshima	1987 ~ 1990
第20代	木幡	陽	平2.4.1 ~ 平4.3.31	Akira Kobata	1990 ~ 1992
第21代	廣澤	一成	平4.4.1 ~ 平8.3.31	Kazushige Hirosawa	1992 ~ 1996
第22代	吉田	光昭	平8.4.1 ~ 平10.3.31	Mitsuaki Yoshida	1996 ~ 1998
第23代	新井	賢一	平10.4.1 ~	Ken-ichi Arai	1998 ~

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	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	稻生	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	平3.4.1 ~ 平6.3.31	Kaoru Shimada	1991 ~ 1994
第16代	浅野	茂隆	平6.4.1 ~	Shigetaka Asano	1994 ~

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 共焦点顕微鏡による細胞への細菌感染観察

Fig. 1 Observation of bacterial infection by a confocal laser scanning microscope

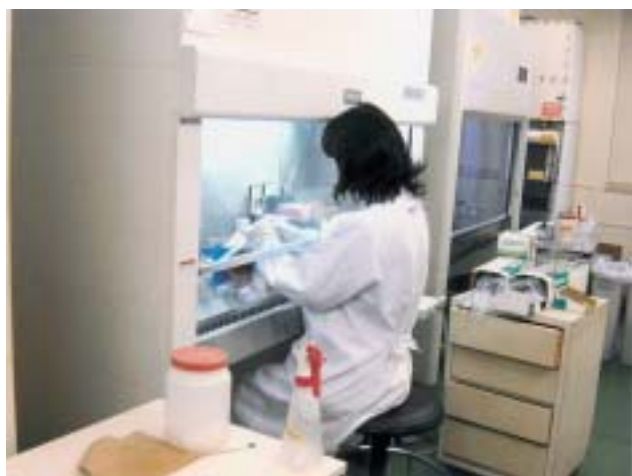


図 2 安全キャビネット内におけるウイルス感染実験

Fig. 2 Viral infection experiments in a biosafety cabinet

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 フローサイトメトリーシステムによる各種細胞の解析と分取

Fig. 3 Flowcytometric analysis and cell sorting

教授 医学博士 笹川 千尋
 講師 医学博士 鈴木 敏彦
 助手 理学博士 立野 一郎
 助手 医学博士 奥田 潤

PROFESSOR: Chihiro Sasakawa, D. M. Sc.
 LECTURER: Toshihiko Suzuki, D. M. Sc.
 RESEARCH ASSOCIATE: Ichiro Tatsuno, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Jun Okuda, D. M. Sc.

本研究分野では主要な消化器系病原細菌である赤痢菌，腸管出血性大腸菌（O157），ヘリコバクターピロリを用いて，細菌病原性の感染初期における役割を中心に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，マウスなどの動物による疾患モデルの作成，細菌感染症の診断，予防，治療等へ応用することを意図している。現在以下の研究を進めている。

(1) 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割を占める起因菌である。本菌は腸管下部に到達後，上皮細胞へエンドサイトーシスを誘発して細胞内へ侵入する。さらに細胞質内ではF アクチンを菌体の一極に重合し宿主細胞内および隣接細胞へ拡散する。赤痢菌のエンドサイトーシスとF アクチン重合に関わる細菌と宿主因子の役割を調べ，それに伴う細胞内の反応（シグナル伝達，細胞骨格再構成，アポトーシス等）およびその分子機構を明らかにする。

(2) 腸管出血性大腸菌

腸管出血性大腸菌（O157:H7）は我が国をはじめ先進国で近年猛威を振るい大きな社会問題となっている。本菌は出血性下痢，尿毒症症候群，脳症などの重篤な疾患を引き起こすことが知られているが，腸管内での菌の動態は不明な点が多い。本菌の腸管上皮細胞への付着に関わる細菌性因子と上皮細胞側因子の同定，さらにベロ毒素の分泌の分子機構を解明し，それをもとに本菌の感染に対する防御法を探索することを目標にしている。

(3) ヘリコバクターピロリ

ヘリコバクターピロリは我が国をはじめ先進国での罹患率が高く，胃炎，胃潰瘍，胃ガン，MALTリンパ腫の原因菌である。本菌は胃上皮細胞に付着し，その後細菌側から放出されるエフェクタータンパク質によって上皮細胞にシグナル伝達を誘発する。本菌の誘導する細胞応答を明らかにし，それに関わる細菌と宿主因子の役割を調べ，長期間持続感染する分子機構を解明することを目指している。

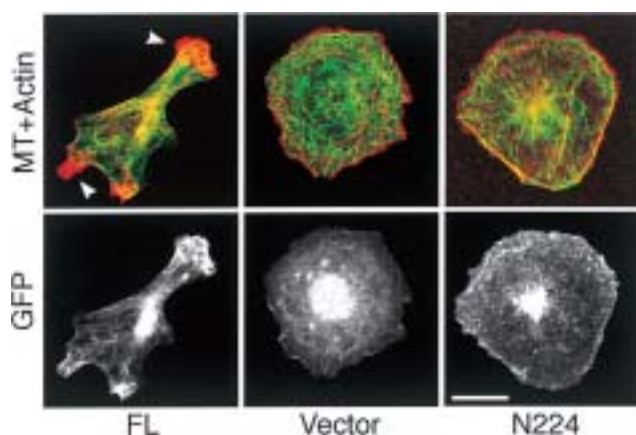


図1 赤痢菌のVirAは宿主細胞の微小管の不安定性とラッフル膜形成を誘導する

Fig. 1 *Shigella* VirA disrupts microtubules and causes membrane ruffling.

Our main area of interest is in the molecular interaction of pathogenic bacteria such as *Shigella*, enterohemorrhagic *Escherichia coli*, or *Helicobacter pylori* with the host epithelial cells at early stage of infection. Our major concern is the elucidation of mechanisms of bacterial attachment to the epithelial cells, and bacterial entry into and spreading within and between the epithelial cells. The ultimate aim of these research programs is the development of attenuated vaccines, the construction of animal model, and improvement in the diagnosis and prevention of bacterial infection.

(1) *Shigella* internalized in the host cytoplasm can multiply therein and spread intra- and intercellularly by bringing about the assembly of F-actin at one pole of the bacterium. We intend to elucidate the molecular mechanisms involved in the bacterial entry and spreading process and the host cellular events involved in the infectious process.

(2) Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) of serotype O157:H7 has been indicated to be associated with a spectrum of illness in human, including watery diarrhea, hemorrhagic colitis, and the hemolytic uremic syndrome. We used an EHEC O157:H7 strain, which was isolated from an outbreak in Sakai city in 1996, and undertook comprehensive study for understanding the mechanisms of bacterial adherence to and colonization on the human colonic tissue or the secretion of the Vero toxins. Indeed these studies are important not only for understanding the pathogenicity of O157:H7 but also for developing a novel approach to prevent bacterial infection at very early stage of infection in the human colon.

(3) *Helicobacter pylori* is responsible for the major part 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 reveal the molecular mechanisms of the infectious process involved in the roles of bacterial virulence factors and the host cellular events.

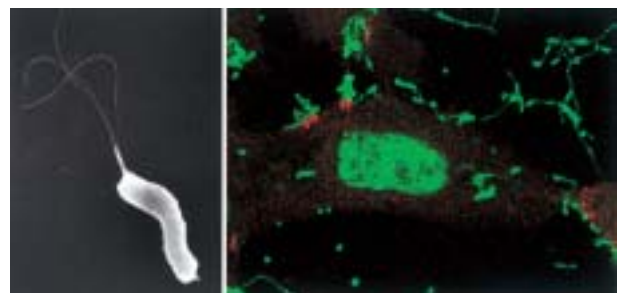


図2 ヘリコバクターピロリの細胞付着によるCagAタンパク質の菌体外への分泌

Fig. 2 Secretion of CagA from adherent *Helicobacter pylori* into AGS cell.

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 西 谷 授
 助手 医学博士 田 村 敏 生
 助手 医学博士 堀 川 啓 介

PROFESSOR: Kiyoshi Takatsu, Ph. D.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Satoshi Takaki, M.D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Sazuku Nisitani, M.D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Toshiki Tamura, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Keisuke Horikawa, M.D., 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。

(1) 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 (IL 5R) を介してB細胞や好酸球、好塩基球に作用する。IL 5/IL 5R系の生理的意義の解明を目的として、そのシグナル伝達機構の解析や標的遺伝子の探索、IL 5と種々の免疫病態との関連、IL 5R陽性で粘膜免疫の一翼を担うB 1細胞の機能解析を進めている。また、IL 5とCD38刺激によるB細胞の増殖および抗体のクラス変換機構、B細胞の分化・活性化とともにIL 5シグナル伝達に重要なBtkチロシンキナーゼとBtkに結合するBAM11の生理機能を解析している。

(2) リンパ球、造血細胞の恒常性維持と細胞内アダプター蛋白質

免疫系の恒常性は、さまざまなシグナル伝達系の巧妙な相互作用により制御される。リンパ系組織に発現する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群に着目して解析を推進し、B細胞や造血幹細胞の増幅および機能制御に重要な役割を果たしていることなど、免疫担当細胞、造血系細胞の新しい恒常性維持・制御機構の存在を明らかにしつつある。

(3) 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およびTh2細胞へと分化する。結核菌由来ペプチドが選択的にTh1細胞を誘導する実験系を用いて、Th1/Th2細胞の分化決定機構の解明およ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。

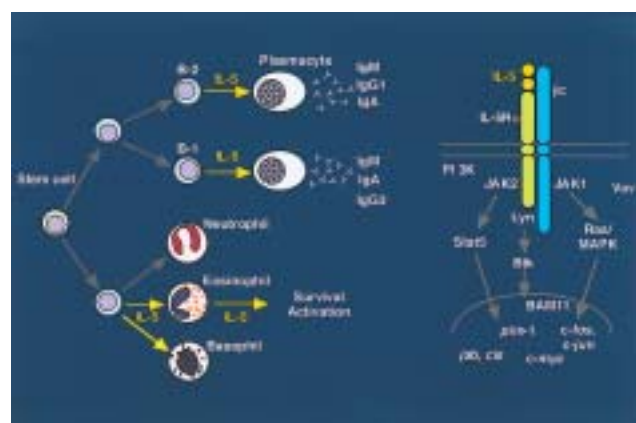


図 1 IL 5の作用とIL 5受容体を介するシグナル伝達系

Fig. 1 Function of IL 5 and signaling pathways mediated through IL 5R

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.

(1) We have elucidated the molecular structure of the functional IL-5R. To clarify the physiological roles of IL-5/IL-5R system, we are investigating signal transduction through IL-5R, its target genes, the roles of IL-5 in various immunological disorders, and the function of B-1 cells that constitutively express IL-5R in mucosal immunity system. We are also studying the mechanism of switch recombination of immunoglobulin gene induced by IL-5 and anti-CD38 stimulation, and the function of Btk tyrosine kinase critical for BCR or IL-5 signaling and a Btk-binding molecule, BAM11.

(2) Lymphocyte differentiation is a series of processes whereby the coordinate regulation of cell proliferation, differentiation, and death directs the development of functional cells. We are investigating roles of the adaptor protein Lnk and its family proteins, APS and SH2-B. Lnk constrains B cell production and expansion of hematopoietic progenitor cells, indicating novel negative regulatory mechanisms mediated by Lnk adaptor proteins in controlling homeostasis of immune system.

(3) 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.

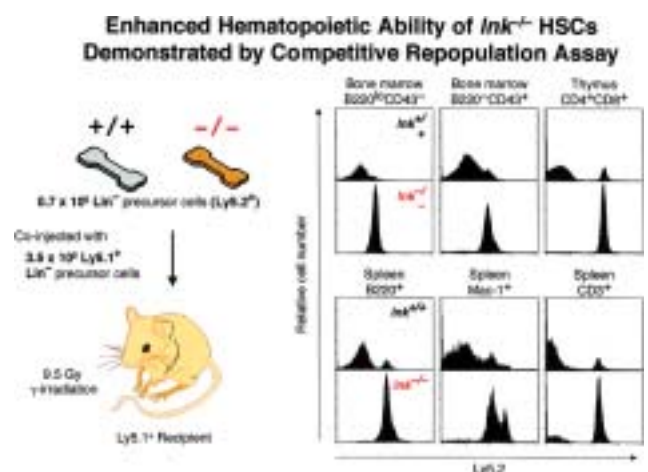


図 2 Lnkによる造血系制御：Lnk欠損により幹細胞の造血能が飛躍的に亢進する

Fig. 2 Hematopoietic homeostasis regulated by Lnk

私達の研究グループは高崎助教授のグループとの共同の下に、哺乳類の受精と着床の分子機構の解明とその応用に集中的に取り組んでいる。

æ, 雌雄生殖巣におけるプログラム細胞死

プログラム細胞死の典型的な例として、卵巣における卵胞閉鎖の機序がFas/Fas Ligand(L)系によって制御されていることを明らかにしてきた。実際、老齢化MRL/lprマウスの卵巣においては、Fas death domainの機能不全のためアポトーシスによる閉鎖から免れた卵胞が著増し、卵巣肥大をもたらす。また、精巣においても、セルトリ細胞上にFasLが、成熟途上の精細胞にFasが発現し、精子形成過程でも多くの精細胞死が起きる。つまり、受精に至る配偶子の選択機構として、Fas/FasL系が一義的な役割を演じている可能性が考えられた。

æ, 受精

ブタあるいはマウスの卵透明帯の糖鎖の構造解析から、非還元末端のガラクトースやレイスX残基が精子との結合リガンドとして重要であることを示してきた。また、精子上のMHCクラスII分子と卵細胞膜上のCD4/P56^{lck}複合体との種特異的な接着、結合が受精の最終段階である両配偶子間の細胞融合を推進している機構の一つであることを示した。

æ, 着床

胎盤脱落膜層よりクローニングしたCD57^{DR} NS細胞は悪性細胞特異的にアポトーシスを誘導する活性物質(AINs)を分泌する。構造解析の結果、新規な構造を含む一連の修飾ヌクレオシドであった。ヒト胃癌細胞や白血病細胞および乳がん細胞を接種したSCIDマウスにAINsを投与したところ、がん組織の激しいアポトーシスを招来し、著しい抗腫瘍効果をみとめた。したがって、胎盤形成の場である受精卵の着床の局面に、真の意味での腫瘍免疫を見出した。

Our research group is extensively promoting the analysis of immunomolecular mechanism in mammalian fertilization and implantation under the co operation with Assoc. Prof. Takasaki's group (Dept. of Biochemistry).

æ, Programmed cell death in murine ovary and testis

We have elucidated that the ovarian follicular atresia as a typical phenomenon in programmed cell death could be induced by Fas/Fas ligand (L) system. Actually, we found that the defect of Fas death domain in MRL/lpr mice caused ovarian adenopathy with the increase of follicles. In murine testis, we demonstrated that Fas is expressed in testicular germ cells and FasL is expressed in sertoli cells indicating their molecular interactions during spermatogenesis. Thus, we are clarifying the primary function of Fas/FasL system in the gamete selection into fertilization.

æ, Fertilization

From the analysis of sugar structures of porcine or murine egg zona pellucida (ZP), we have revealed that the sugar chains are of bi, tri, and tetra antennary complex type with a fucosylated trimannosyl core containing sialic acid and/or sulfate residues. Among these sugar moieties of ZP, we found that murine or porcine sperm bound to β Galactose residue and/or Le^x structure on ZP. At the fusion step in the fertilization, we have confirmed that the CD4/p56^{lck} complex on egg plasma membrane adhered to MHC class II molecule at the posterior region of sperm in a species specific manner.

æ, Implantation

CD57^{HLA DR^{bright}} natural suppressor (57.DR NS) cell line, which was cloned from human decidua in our laboratory, releases "apoptosis inducing nucleosides (AINs)" into the culture to generate the apoptosis of human malignant cells but not to do that of normal cells at all. The administration of AINs into leukemic, gastric and mammary tumor bearing SCID mice culminated in the drastic suppression of tumor growth due to the occurrence of apoptosis in tumor tissues. Thus, we have found the real tumor immunity in the implantation site of fetomaternal interaction as mother nature's experiments.

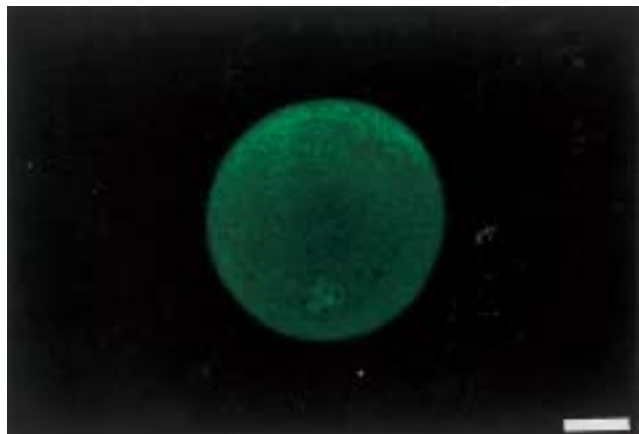


図1 Fas抗体によるマウス卵細胞膜のIIF陽性共焦点レーザー顕微鏡像(Bar; 25 μ m)

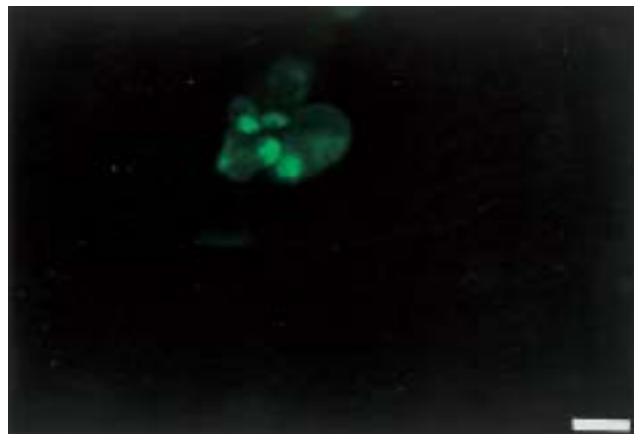


図2 AINsによるヒト胃癌細胞のTUNEL陽性共焦点レーザー顕微鏡像(Bar; 25 μ m)

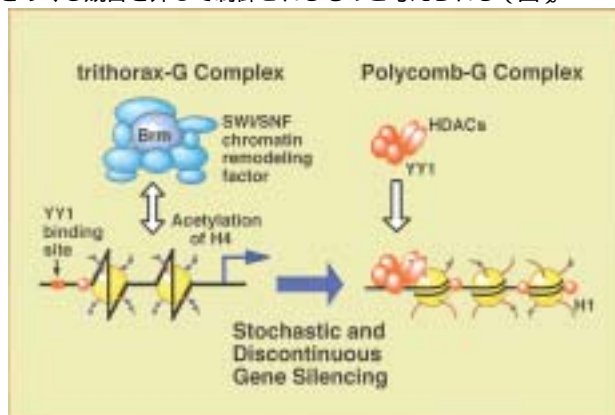
教授 理学博士 伊庭 英夫
 助手 理学博士 伊藤 太二
 助手 医学博士 鴨下 信彦 (海外出張中)

Professor: Hideo Iba, Ph. D.
 Research Associate: Taiji Ito, Ph. D.
 Research Associate: Nobuhiko Kamoshita, M.D., D.M. Sc. (in USA)

細胞がレトロウイルスやトランスポゾンのようなDNA parasiteの存在を監視し、これを排除する機構は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。ウイルスは当然こうした防御から逃れる戦略を作っ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新しい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) に関与する機構の解析を行なう。こうした成果から多くの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。

1. 我々は、クロマチン構造変換因子SWI/SNF複合体の1つのサブユニットであるBAF60aが転写制御因子AP-1 (Fosファミリータンパク質とJunファミリータンパク質から構成される) の転写活性化能の決定因子であることを示した。哺乳動物のSWI/SNF複合体は11個のサブユニットから成り、ATPase活性を持つBRG1またはBrmのいずれか一方のみを必ず含む2MDaの複合体である。我々はBAF60aがc-Fos及びc-Junとそれぞれ異なった接面で特異的に結合し、その結果AP-1成分中の特定のダイマー、特にc-Fos/c-Junと選択的に結合して、このSWI/SNF複合体をc-Fos/c-Junダイマーは不活性である染色体上に動員して転写開始を特異的に誘導することを示した。
2. 我々は極めて速い速度でレトロウイルスのgene silencingをおこすヒト癌細胞株を見だし解析を進めて、以下の結果を得た。
 - 1) レトロウイルスはBrmを発現しない宿主細胞株にも侵入し、逆転写, integration, 及び遺伝子発現を開始する。しかしその遺伝子発現は不連続でかつstochasticな激しいgene silencingを受ける。
 - 2) このgene silencingはBrm遺伝子の導入やヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤の添加により部分的に解除される。しかしDNAメチル化の阻害剤によっては一切解除されない。
 - 3) プロウイルスの5' LTR近傍に存在するヌクレオソームでは、Brm遺伝子の導入に伴い、ヒストンH4の特定のリジン残基のアセチル化が上昇し、同時にYY1, HDAC1, HDAC2の動員の減少が見られる。

このような結果からintegration後のレトロウイルスの発現は、これを正に制御するSWI/SNF複合体 (trithorax遺伝子群; *trx-G*) と、YY1, HDAC1, HDAC2等を含むPolycomb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アセチル化、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 intragenomic parasites such as provirus and transposons are now being recognized as an important host cell defense system in the cell nuclei. Obviously, viruses would have their own strategy to escape from the defense system. Our goal is to elucidate molecular mechanisms involved in host parasite interaction by analyzing epigenetical regulation of viral gene silencing or activation observed in the infected cells. The results would give us new ideas for latent infection observed in many viruses.

1. Mechanistic links between transcriptional factor AP-1 and chromatin remodeling factor SWI/SNF complex.

We have shown that BAF60a, a subunit of SWI/SNF chromatin remodeling complex, is a determinant of transactivation potential of transcription factor AP-1, which is composed of Fos and Jun family proteins. BAF60a binds to a specific subset of Fos/Jun heterodimers using the two different interfaces specific for c-Fos and c-Jun, respectively. By this binding specificity of BAF60a, such Fos/Jun dimers as c-Fos/c-Jun can effectively recruit SWI/SNF complex to chromatin which is in an inactive context, leading to a strong induction of transcriptional initiation.

2. Maintenance of integrated proviral gene expression requires Brm, a catalytic subunit of SWI/SNF complex

We show that MuLV-based retrovirus vector transgene expression is rapidly silenced in human tumor cell lines deficient in Brm expression, even though these vectors can successfully enter, integrate, and initiate transcription. Introduction of exogenous Brm to these cells suppressed recruitment of protein complexes containing YY1 and histone deacetylase (HDAC) 1 and 2 to the 5'-LTR region of the integrated provirus, leading to the enhancement of acetylation of specific lysine residues in histone H4 located in this region. Consistent with these observations, treatment of Brm deficient cells with HDAC inhibitors but not DNA methylation inhibitors suppressed retroviral gene silencing. These results suggest that the Brm-containing SWI/SNF complex subfamily (*trithorax-G*) and a complex including YY1 and HDACs (*Polycomb-G*) counteract each other to maintain transcription of exogenously introduced genes (Figure).

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

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/HDACs複合体 (*Pc-G*) が動員されて、リンカーヒストンH1も増加し、このプロモーターはstochasticでかつ不可逆な不活化を受ける。

Figure.

Counteraction between *trx-G* complex and *Pc-G* complex, which compete for the proviral promoter region.

In the presence of functional SWI/SNF complex (*trx-G*), 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, YY1/HDACs (*Pc-G*) as well as the linker histone H1 are strongly recruited to this region and histone H4 is efficiently deacetylated, which leads 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

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.

インフルエンザおよびエボラウイルス感染症の病原性ウイルスは、時として、重篤な疾病を引き起こす。当研究室は、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 インフルエンザウイルスの宿主域

インフルエンザウイルスは、常にヒトの間で流行しているが、時に全く新しいウイルスが現われる。例えば、1997年、香港で、H5N1型のトリインフルエンザウイルスがヒトに伝播し、18人の患者のうち6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と増殖能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の核から細胞質への輸送とウイルス粒子形成の最終段階である出芽(図1)における両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

最近、私達はインフルエンザウイルスをcDNAから合成することに成功した。具体的には、インフルエンザウイルスの8本のRNA分節を核内で複製するためのプラスミドとその複製・転写に必要な4つの蛋白質発現のためのプラスミドをヒト腎臓細胞に導入した(図2)。すると、48時間後には 10^7 個以上のウイルスが培養上清中に検出された。本法は、インフルエンザウイルスの基礎研究のみならず、生ワクチンの開発、さらにワクチンおよび遺伝子治療ベクターの開発など応用範囲の広い技術革新である。

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なため、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が出芽により細胞表面から出ようとしているところ

Fig. 2 Budding of influenza virus

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 Host range restriction of influenza A virus

Influenza pathogenesis and host range restriction In addition to viruses that are currently circulating among humans, new influenza viruses appear and can cause outbreaks. For example, an H5N1 avian influenza A virus was transmitted from birds to humans in 1997 in Hong Kong, infecting 18 humans, 6 of whom died. This outbreak was unique in that the virus that transmitted to humans is lethal to chickens, and unlike what was previously thought possible, an avian virus was directly transmitted from birds to humans. We are currently 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 this end, we focus on the nucleocytoplasmic transport of viral proteins and the budding process (Fig. 1). These studies should further our understanding of the molecular mechanism of viral replication involving cellular machinery.

3 Reverse genetics: generation of influenza viruses entirely from cloned cDNA

Recently, we established a system for the generation of influenza viruses entirely from cloned cDNAs. In this system, human kidney cells were transfected with eight plasmids, each encoding a viral RNA of A/WSN/33 (H1N1) virus, flanked by human RNA polymerase I promoter and mouse RNA polymerase I terminator sequences (Fig. 2). Transcription of these viral genes by cellular RNA polymerase I yielded all eight influenza viral RNAs. Cotransfection with protein expression plasmids for the nucleoprotein and polymerase proteins resulted in the generation of $>10^7$ infectious viruses per ml of supernatant. Thus, for the first time, a system is now available that allows highly efficient generation of influenza virus without technical limitations. This system can be utilized for a variety of purposes including basic research on influenza viruses, the generation of live attenuated influenza virus vaccines, and development of influenza based vaccine or gene delivery vectors.

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 pathophysiologic 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 recently 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

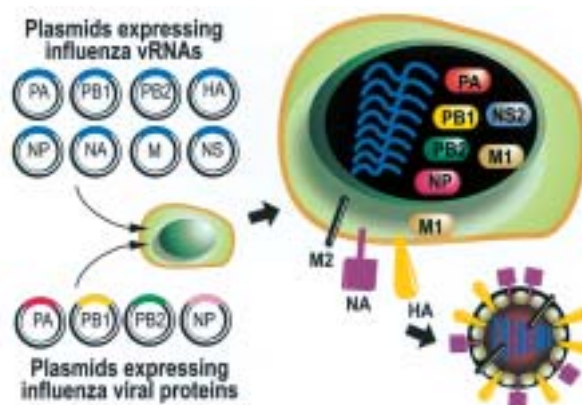


図2 リバース・ジェネティクス インフルエンザウイルスの人工合成法

Fig. 2 Reverse genetics-technology that allows one to generate influenza A virus from cloned cDNA.

当研究室ではJCウイルス (JCV) に関する研究を多面的に行っている。JCVは免疫が下がった人にPMLという致死性の脳の病気を起こす。JCVがPML患者から発見された時は、このウイルスは人を殺す恐ろしいウイルスと考えられた。しかしその後、ほとんどの人がこのウイルスに感染していることが明らかになった。JCVの感染は子供の時に起きる。身体に入った後、腎臓に寄生する。その人が生きている限り、JCVは腎臓で増え、尿に排泄される。研究テーマは以下の通りである。

- æ, PMLの発症機構。PML患者の脳から分離されるJCV DNAの調節領域は患者体内で、原型調節領域から欠失と重複によって作られる。このような調節領域の再編成の意義の解明を通して、PMLの発症機構の解明を目指す。
- æ,, JCVの伝播様式。ヒトは出生後にJCVに感染するが、他方で、主として親から子へ伝播することが明らかにされている。我々は、このようなJCVの伝播様式を説明するため、「JCVは家庭での日常的な接触を通して親から子へ伝播する」という仮説を立てている。現在、この仮説を立証する研究が行われている。
- æ” 世界各地の先住民族の起源。JCVは頻繁に健常人の尿中に排泄されている。我々は世界各地で尿を集め、JCV DNAを多数分離した。これらDNAに対して分子系統解析を行い、JCVがヒト集団と共に進化してきたことを示した。現在、世界各地の先住民族の起源を、彼らが保有するJCVの型分析から解明することを試みている。

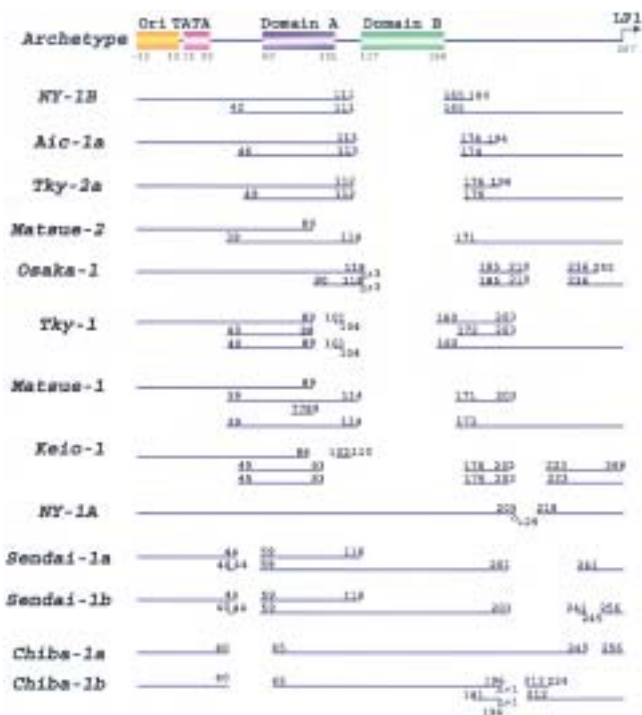


図 1 PML患者の脳から分離されたJCV DNAの調節領域 (PML型調節領域)。PML型調節領域は多様に变化しているが、全て原型調節領域から塩基配列の再編成により作られる。

Fig. 1 Diagrammatic representation of PML type JCV regulatory regions. Although PML type regulatory regions are hypervariable, without exception, they are generated from the archetype by sequence rearrangements.

We are studying the human polyomavirus JC virus (JCV), the causative agent of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). This virus is ubiquitous in humans, infecting children asymptotically, then persisting in the kidney. Renal JCV is not latent but replicates to excrete progeny in the urine. The following are our specific projects.

- æ, Mechanism of the development of PML. Regulatory regions of JCV DNAs recovered from the brain of PML patients are hypervariable, and are generated from the archetype regulatory region during persistence in hosts. We are studying the development of PML, with special emphasis on the significance of regulatory region rearrangement.
- æ,, Mode of JC virus transmission. JCV is horizontally transmitted among humans. Nevertheless, JCV is mainly transmitted from parents to children. To further clarify the mode of JCV transmission, we hypothesized that JCV is transmitted from parents to children through cohabitation. Projects examining this hypothesis are in progress.
- æ” Origin of native human populations in the world. We isolated a large number of JC virus DNAs from the urine collected in various areas of Asia, Africa and Europe. For these JCV DNA, we performed phylogenetic analysis and found that JC virus co evolved with human populations. We are now attempting to elucidate the origin of native populations in the world by analyzing JC virus DNAs recovered from their urine samples.

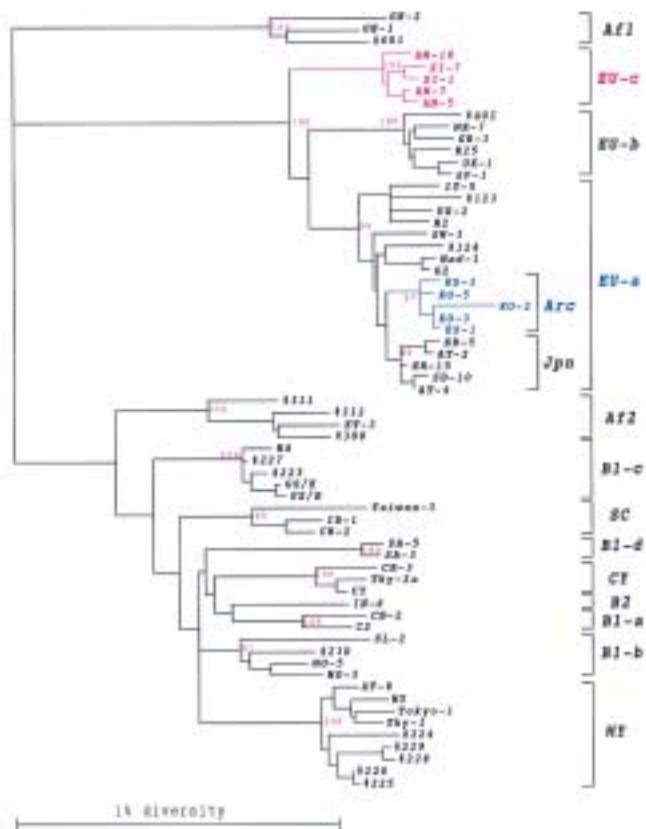


図 2 コーカソイド系 JCV (EU) の進化を示す分子系統樹。各亜型の分布域は以下の通り。EU a: 東ヨーロッパ, 日本・韓国 (Jpn), 東シベリア・北極地域 (Arc)。EU b: 西ヨーロッパ, 地中海沿岸。EU c: 東シベリア。

Fig. 2 A phylogenetic tree showing the divergence of Caucasian JCV genotype (EU). Major domains of EU subtypes are as follows. EU a: East Europe, Japan/South Korea (Jpn), East Siberia/Arctic areas (Arc). EU b: West Europe, Mediterranean areas. EU c: East Siberia

教授 医学博士 三宅 健介
 助手 医学博士 赤司 祥子
 助手 農学博士 古田 隆久

PROFESSOR: Kensuke Miyake, M.D., Ph. D.
 REESEARCH ASSOCIATE: Sachiko Akashi, M.D., Ph. D.
 REESEARCH ASSOCIATE: Takahisa Furuta, D.M.V., 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な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.

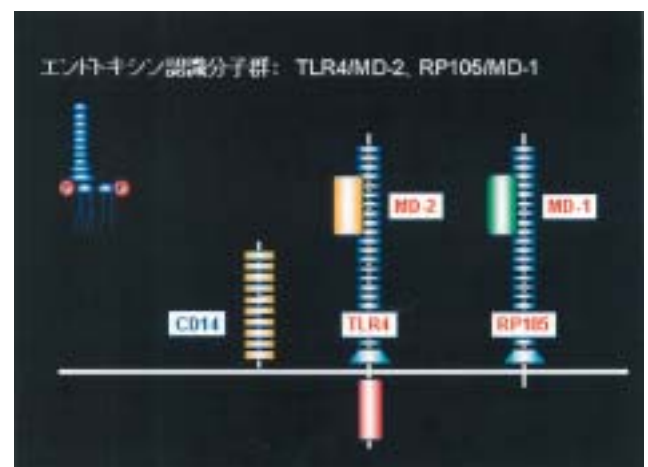


図1 グラム陰性菌の膜構成糖脂質エンドトキシンの認識に関わる分子群。エンドトキシンはCD14に結合しTLR4 MD 2に認識されシグナルが伝達される。RP105 MD 1もB細胞のエンドトキシン応答を制御する。

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 an 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

PROFESSOR: Hiroshi Kiyono D.M.D., Ph. D.
 RESERARCH ASSOCIATE: Yoshikazu Yuki, M.B.A., 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器官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）によって作動している。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（FAE）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行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。

æ, 「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。しかしながら、特異的細胞表面抗原を含むM細胞の免疫学的情報は皆無に等しく、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。

æ, 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。

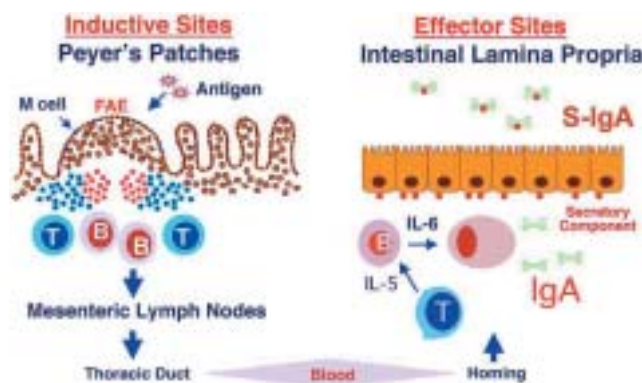


図1 循環帰巢経路（CMIS）の概略図

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 (FAE) 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.

æ, 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".

æ, 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 that are relevant to cell growth, differentiation, and to cell cell communication, the 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

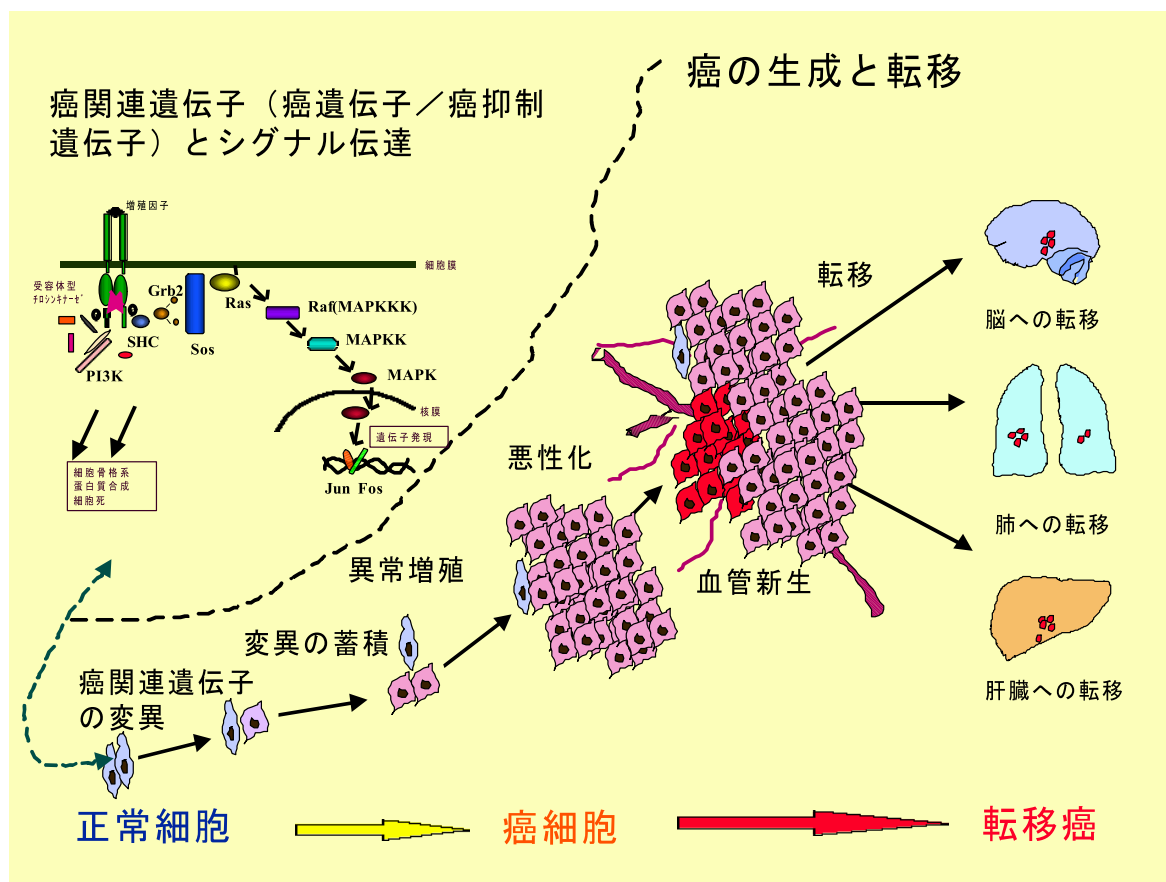


図 1

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よる細胞癌化機構と、細胞膜から核へと伝えられる細胞内情報伝達反応との関連を追求する。特に細胞の癌化や細胞の増殖・分化・機能発現に関する情報伝達系での、チロシンキナーゼやセリン/トレオニンキナーゼの役割に興味の主眼点として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

当研究分野では、ErbB2やAik等未知の増殖因子受容体をコードする癌原遺伝子を複数見いだしている。対応するリガンドの解析やそれら遺伝子産物を介する情報伝達系の解析から、生理機能ならびに細胞癌化機構の解明を目指す。

æ, 神経系、免疫系における情報伝達に関する研究

FynやLyn等のSrcファミリーをはじめとするチロシンキナーゼはリンパ球や神経細胞で良く発現している。抗原刺激によるリンパ球活性化反応でのチロシンキナーゼの機能を解析し、免疫応答の理解を深める。また、学習・記憶等の神経機能におけるチロシンキナーゼの役割を解明する。

æ, 細胞周期制御に関する研究

休止期の細胞が増殖刺激で活性化され細胞周期を進行して増殖する分子機構を、特にG₀/G₁変換、G₂/M変換に関して癌抑制遺伝子tobやlatsの機能を中心に解析する。またM期での染色体分配の分子機構を解明する。

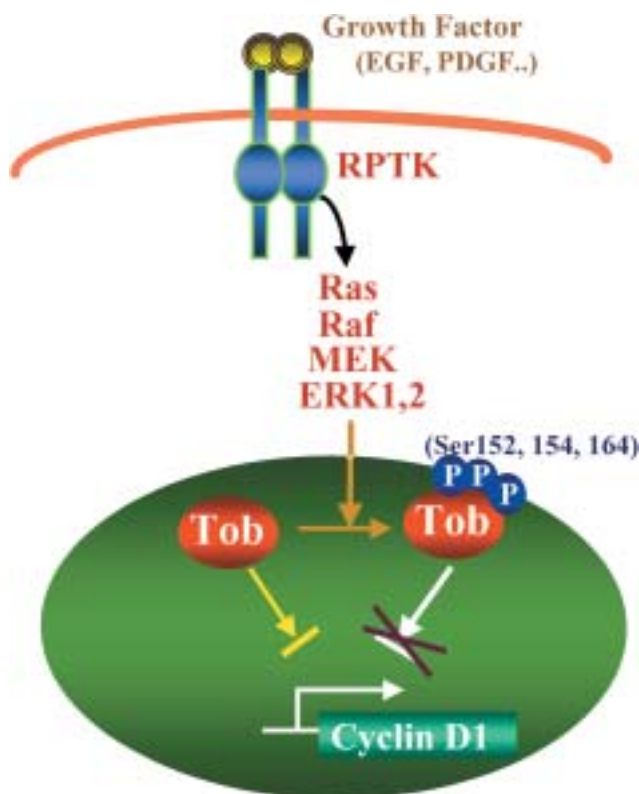


図1 Tob蛋白質によるG₀/G₁変換の制御：休止期の細胞を増殖刺激すると受容体型チロシンキナーゼの下流でErk1/2が活性化される。この活性化Erk1/2によりTobがリン酸化されると、cyclin D1等のG₁期進行に必要な遺伝子発現抑制活性を失う。

Fig. 1 The antiproliferative protein Tob functions as a G₀/G₁ switch. Unphosphorylated Tob suppresses G₁ cyclin expression at the transcriptional level. The suppressor activity is cancelled upon growth factor stimulation through its Erk1/2 mediated phosphorylation.

Our aim is to clarify the roles of protooncogenes and antioncogenes in malignant transformation and in normal cell function. Currently, our studies are mainly focused on the function of protein tyrosine kinases and protein tyrosine phosphatases in signaling pathways of various biological systems that include central nervous system, immune system, bone formation, and malignant transformation. Following studies are in progress.

æ, Molecular mechanisms by which cell surface receptors transmit signals to nuclear regulatory proteins. Roles of protein tyrosine phosphorylation events and signal transduction pathways in cell growth regulation and in malignant transformation.

æ, Molecular mechanisms of lymphocyte activation with special interest in the roles of the protein tyrosine kinases. Studies on protein tyrosine phosphorylation events involved in synaptic plasticity of the central nervous system.

æ, Regulatory mechanisms of G₀/G₁ transition, G₂/M transition, and chromosome separation in which Tob, LATS, and Kid proteins, respectively, are involved.



図2 中枢神経スパインに発現しNMDA受容体に会合する新規RhoGAP蛋白質（上段）蛋白質の構造、チロシンリン酸化の位置は未同定。（中段）ノーザンプロットによる発現解析。（下段）神経細胞樹状突起（赤）上のスパインに局在する新規RhoGAP蛋白質（緑）

Fig. 2 A novel RhoGAP expressed on the spine of neuron interacts with NMDA receptor. (Top) Structure of the protein, (Middle) RNA expression, (Bottom) Expression of the novel RhoGAP on the spine.

教授 医学博士 清 木 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端も担っている。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保する必要がある。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、おび 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MT1 MMPの機能を継続的に維持するためには、酵素の合成と分解、そして細胞内への取り込みによる動的制御が重要であり、特に、取り込みはMT1 MMPの細胞内配列によって制御されている (2002, JCB)。浸潤酵素としてのMT1 MMPが、細胞運動とどのように連動するのかについては、これまで全く不明であった。しかし、この一連の研究によってその一端が明らかになりつつある (2002, Current Opinion in Cell Biol.)。これらの成果は、従来のMMP活性阻害剤とは異なった方法で浸潤酵素が阻害できる可能性を示しており、応用研究も展開中である。

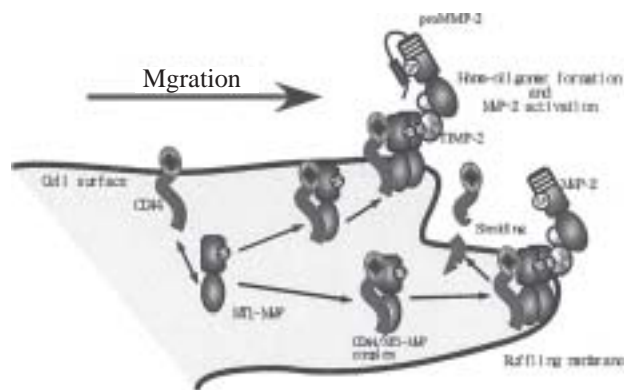


図1 浸潤先端部におけるMT1 MMP関連の分子メカニズム

細胞表面におけるMT1 MMPの局在を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., EMBO J, 2001). Consequently, the cell acquires ability to degrade both type I 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 $\gamma 2$ chain by MT1 MMP also has a similar migration promoting activity (Koshikawa et al. JCB, 2000). For continuous invasion, MT1 MMP should function uninterruptedly at the invasion front, and this requires recruitment of fresh enzymes to the front and withdrawal of the used inactive molecules on the other. Internalization of MT1 MMP mediated by the cytoplasmic tail plays a part of this dynamic turnover at the invasion front, and interestingly, expression of internalization defective mutants abrogate cell migration and invasion dominant negatively (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.

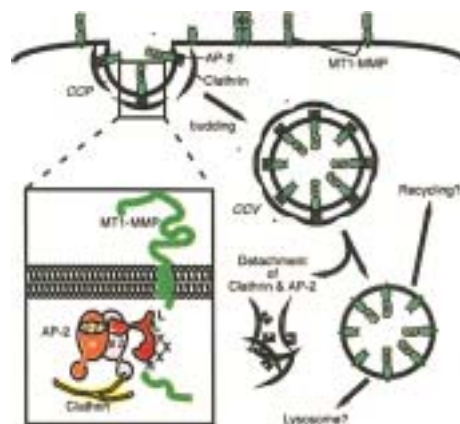


図2 浸潤先端部へのMT1 MMPの恒常的な供給に關するMT1 MMPの細胞内取り込み
 細胞表面において絶えず生じるMT1 MMP分子引きこもりは、新たな分子の供給を受けやすい状態を維持するためと考えられ、クラスリン被覆ピット関連因子 $\mu 2$ の関与が想定されている。

Figure. 2

Internalization of MT1 MMP molecule at the cell invasion front could be associated with a renewal from old to newly synthesized MT1 MMP

A constant internalization of MT1 MMP could be associated with $\mu 2$, a clathrin coated pit related factor may induce the situation that MT1 MMP is uninterruptedly renewed to function at the invasion front.

助教授 理学博士 三 木 裕 明
助 手 医学博士 山 口 英 樹

ASSOCIATE PROFESSOR: Hiroaki Miki, Ph. D.
RESEARCH ASSOCIATE: Hideki Yamaguchi, Ph. D.

本研究分野は2002年2月に発足し、多細胞生物の形態形成を制御する情報伝達メカニズムの研究を行っている。

近年の目覚ましい情報伝達研究の成果により、Wnt, Notch, Hedgehogなど形態形成を制御する新しい情報伝達系が見付かってきた。これらは初期発生に重要であるだけでなく、その異常が多くのヒト癌の原因となっていることも明らかにされ、基礎研究・応用研究の両面から強い注目が集まっている。本研究分野ではWntやNotchの情報伝達における重要な制御因子Dishevelledに注目している。DishevelledはWntシグナルの切り替え役としてだけでなく、Notchシグナルには阻害的に働くことが知られ、体軸形成や細胞分化運命決定、細胞極性形成、形態形成時の細胞の伸展運動など、初期発生過程における重要な情報伝達因子として機能している。本研究分野では、Dishevelledが細胞内において正体不明の小胞を形成していることを明らかにし、そこに濃縮しているDishevelled結合因子をいくつか同定することに成功した。また、Dishevelledが微小管の細胞骨格を制御していることも見付けた。ツメガエルを用いた発生学的な研究から、Dishevelledがin vivoにおいても正体不明の小胞構造になっていること、しかもそれが細胞骨格系に沿って移動し、体軸の方向性を決定するのに重要である可能性が指摘されている。この小胞が一体何であるのかを明らかにし、小胞の移動メカニズムや細胞骨格系との接点を突き止めることによって体軸形成の謎を解き明かすと同時に、その研究成果を癌治療に還元することを目指としている。

Our division started in February 2002. We have been studying the mechanism of signal transduction that regulates morphogenesis during early development of multicellular organisms.

Recently, several new signal transduction pathways such as Wnt, Notch, and Hedgehog have emerged, which play crucial roles in morphogenesis. These signaling pathways are also paid great attention as a promising target for treating human cancers, because abnormalities in these signaling systems have been found in a wide range of human cancer tissues. Especially, we are focusing on Dishevelled, which is known to be a regulator of both Wnt and Notch signaling systems. Numerous genetic analyses have revealed that Dishevelled plays an essential role in the regulation of the body axis formation, the cell fate decision, the cell polarity formation, and the extension movements, by functioning as a molecular switch of the Wnt signal and by antagonizing the Notch signal. We recently discovered that Dishevelled proteins form uncharacterized vesicular structures in cells and identified several Dishevelled binding proteins that localize at the Dishevelled vesicles. Also, we found that Dishevelled regulates the architecture of microtubular cytoskeleton. It has been reported that endogenous Dishevelled proteins form vesicular structures in *Xenopus* eggs and move along the cytoskeletal structures in vivo, which is presumably important for the body axis formation. Through the elucidation of the identity of the Dishevelled vesicles, we are trying to clarify the molecular mechanism of the vesicle movement and the relationship with cytoskeleton, which will ultimately lead to the better understanding of the body axis formation and contribute to the cancer therapy in the future.

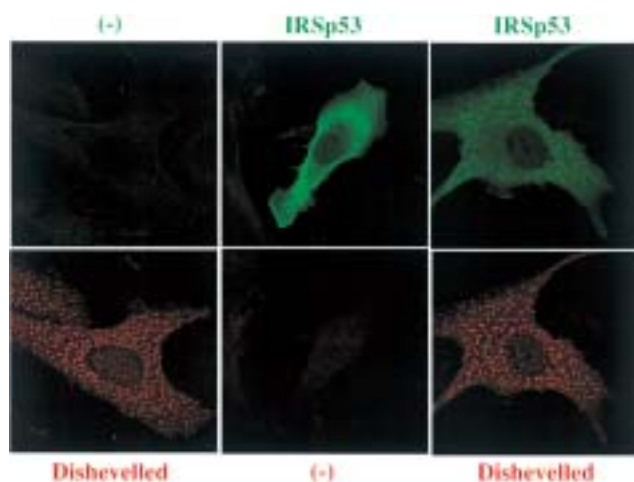


図 1 Dishevelled小胞とIRSp53の共局在

Fig. 1 Dishevelled vesicles and the co localization of IRSp53

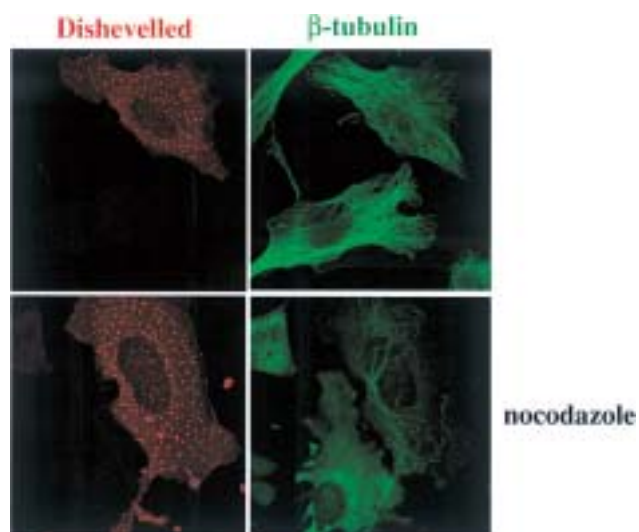


図 2 Dishevelledによる微小管の安定化

Fig. 2 Stabilization of microtubules by Dishevelled

助 手 医学博士 渡 辺 慎 哉

RESEARCH ASSOCIATE: Shinya Watanabe, M. D., D. M. Sc.

本研究分野は、旧癌ウイルス研究部以来一貫してDNA型ウイルスと宿主細胞の相互作用について研究を行ってきた。

ウイルスは宿主細胞の中でのみ増殖可能である。ウイルスの増殖には様々な宿主側の因子が関与する。宿主側因子によってウイルスの増殖そのものが規定されていることもある。これらの宿主側因子（あるいはその遺伝子）を同定することは、特に病原ウイルスの制御を考えるうえで避けて通ることができない重要課題である。また、ウイルスという外来性の因子と宿主因子との関係を探ることによって複雑な細胞内現象そのものを解き明かす手がかりを得ることもできる。これらの宿主因子について、ゲノムプロジェクトの進行とともにこれまでになかった手法で研究できるようになった。遺伝子発現レベル変化を指標としてウイルスと宿主間の相互作用を網羅的に解析できる実験系が登場したためである。

現在、DNAウイルスの中からヒトサイトメガロウイルス（HCMV）をモデル実験系として採用し、ポストゲノム的手法を自ら開発しつつ、ウイルス感染症の遺伝的基盤を明らかにすることを目標として、以下の研究を行っている。

- æ, 方法論の開発：合成DNAをスライドガラス上に固相化したマイクロアレイに関する技術開発。
- æ,, 病原微生物を感染させておきる宿主細胞の遺伝子発現変化の網羅的解析：独自のマイクロアレイ系による、HCMVを始めとした各種病原ウイルス感染細胞内の遺伝子発現のプロファイリング。
- æ" データベースの構築：病原微生物と宿主との関係を知る上で役立つ発現プロファイリングデータを扱う公共データベースの構築とプログラムソフトウェアの開発。

Our aim is to elucidate host parasite relationships of DNA viruses including a herpesvirus, human cytomegalovirus (HCMV), and a tumor virus, SV40.

Viruses require host factors to proliferate within cells. As the host factors may restrict viral replication, identification and characterization of the host factors and their genes should play an important role in investigation of viral pathogenesis and eventual control of viral infection. In addition, to study the host factors involved in viral life cycles as a tool may contribute to inquire about complex biological phenomena within the cell. We have now obtained a novel methodology to study the host factors involved in viral pathogenesis from a view point different from the conventional paradigm in biology, which utilizes DNA microarrays and leads us to survey alteration of gene expression simultaneously and comprehensively.

Using the novel microarray technology in the post genome era, we are now carrying out the following projects to explore genetic backgrounds of viral infection:

- æ, methodological development of device systems with synthetic polynucleotide microarrays;
- æ,, expression profiling for human genes within cells infected with a variety of pathogenic viruses including HCMV;
- æ" construction of a public data base and program software that can provide expression profiles to facilitate investigation of the host parasite relationship in infectious diseases.

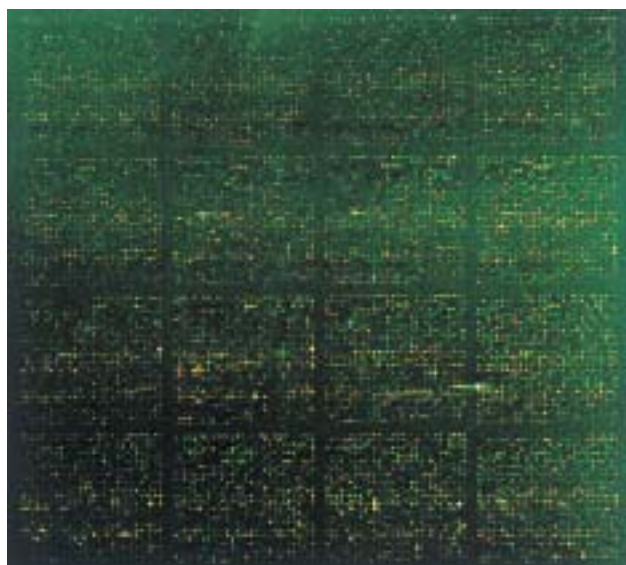


図 1 合成DNAマイクロアレイを用いたハイブリダイゼーションのスキャンニング画像

Fig. 1 Pseudo color image of synthetic polynucleotide microarray hybridization.

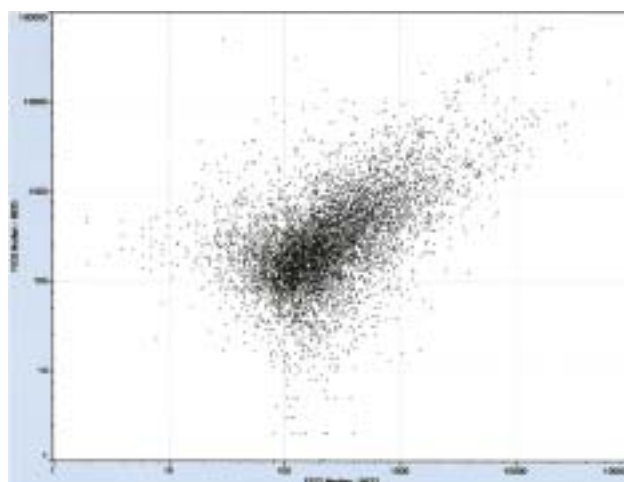


図 2 マイクロアレイデータのプロット解析

Fig. 2 Scatter plot analysis for expression levels of human genes within HCMV infected fibroblasts

教授 医学博士 森 茂 郎
 助教授 医学博士 渡 邊 俊 樹
 助手 理学博士 佐 藤 均
 助手 医学博士 石 田 尚 臣

PROFESSOR: Shigeo Mori, M. D., Ph. D.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Toshiki Watanabe, M. D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Hitoshi Satoh, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Takaomi Ishida, Ph. D.

人癌病因遺伝子分野（旧病理学研究部）は、リンパ系組織における各種疾患を対象に、疾患発症機構を分子レベルで明らかにすることを旨として研究している。主な対象疾患は

a) リンパ系腫瘍、特に悪性リンパ腫、成人T細胞性白血病（ATL）

b) ウイルス感染症（HIV、HTLV、EBV）

が中心である。

方法論的には、分子生物学的手法を基本に、形態学および染色体分析を加え、培養細胞や病変組織を用いた解析を行っている。リンパ腫細胞をSCIDマウスに接種して、維持継代している。

従来及び現在の研究テーマおよび成果は以下の通りである。

æ, 悪性リンパ腫

a) 染色体転座： anaplastic large cell lymphomaに特有の(2;5)によって生ずるキメラ蛋白質p80を同定し、この分子を有するリンパ腫が一つの新たな病型に分類出来ることを示した。(3;6)転座のBCL6のパートナー遺伝子の解析を行い、rRNAの制御に関わる新規遺伝子U50HGを同定した。

胚中心由来腫瘍に発現する新たな遺伝子群を同定した。

b) TNFRファミリーに属するCD30のシグナル伝達機構を明らかにし、ホジキン細胞におけるリガンド非依存的NFκB活性化機構を初めて明らかにした。

c) ウイルス感染とリンパ腫： ヒト臍胸後リンパ腫の発生にEBVの関与があることを示した。 HTLV 1感染で発症するATLの多段階発癌に関わる分子異常として、PKC の過剰発現と構成的活性化を明らかにした。 近年、EBVの日本人の感染様式が変化してきていることを示した。

æ, ウイルス感染症

a) HTLV 1が原因となる第3の疾患「HTLV 1ぶどう膜炎」を発見し、その病態を明らかにした。

b) HTLV 1ぶどう膜炎の病態解析から、可溶性Fas ligandが免疫抑制型サイトカインであることを明らかにした。

c) HIV、HTLV 1がCpGメチル化により遺伝子発現が抑制されることを示し、HIVの再活性化がCREB/ATF site内のCpGの特異的脱メチル化を介する事を見出した。

d) HTLV 1プロウイルスLTRは、in vivoおよびItalicの潜伏感染細胞において、5' LTRが選択的にメチル化されていることを初めて明らかにした。

Division of Pathology has focused on molecular pathogenesis of human lymphoid neoplasms and diseases caused by viruses such as HIV, HTLV 1, and EBV .

Research activities are as follows:

æ, Malignant lymphoma:

a) Chromosome translocation:

Demonstration of p80 NPM ALK chimeric protein in anaplastic large cell lymphoma with t(2;5). Characterization of partner genes of BCL6 and identification of a novel gene U50HG. Identification of proteins specifically expressed in human germinal center B cells.

b) Hodgkin's lymphoma: Delineation of the ligand independent signaling mechanism of CD30 overexpressed on Hodgkin Reed/Sternberg cells.

c) Viral infection and lymphoma:

Demonstration of constitutive activation of PKCβ in ATL cells as a leukemogenic event of HTLV 1 infected T cells.

Demonstration of involvement of EBV in pyothrax associated lymphoma.

Clarification of remarkable change of EBV infection status among Japanese in recent years.

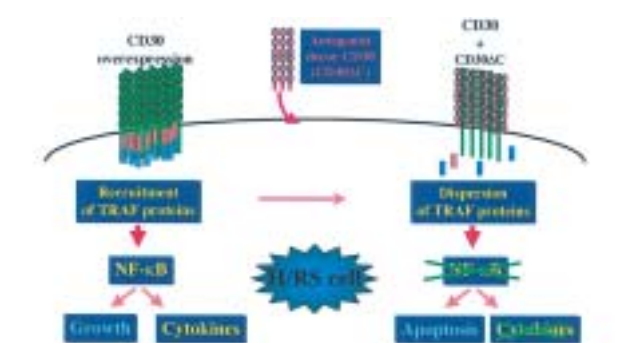
æ, Viral diseases:

a) Discovery and characterization of HTLV 1 uveitis (HU), the third disease entity caused by HTLV 1.

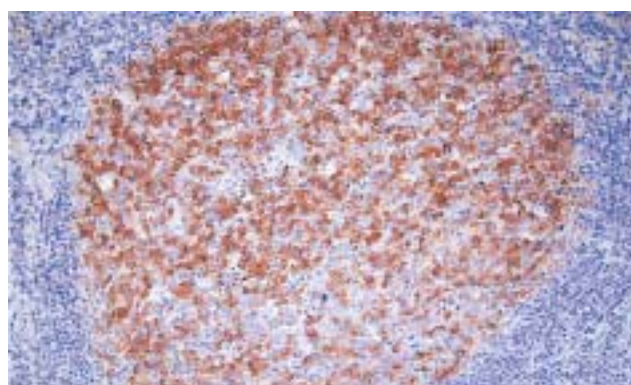
b) Discovery of a new function of soluble Fas ligand as an immunosuppressive cytokine based on the pathophysiology of HU.

c) Demonstration of the involvement of CpG methylation in latency of HIV and HTLV 1, and specific demethylation of CpG sites in CREB/ATF sites of LTR in signal mediated HIV reactivation.

d) Demonstration of 5' LTR selective CpG methylation of HTLV 1 provirus Italic and Italic.



Ligand-independent activation of NFκB by overexpressed CD30 in Hodgkin/Reed-Sternberg cells that is specifically blocked by an antagonistic decoy CD30 mutant.



Immunohistological demonstration of methionine aminopeptidase 2 in human germinal center.

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

PROFESSOR: Jun ichiro Inoue, Ph. D
 ASSOCIATE PROFESSOR: Kentaro Semba
 LECTURER: Taishin Akiyama

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管形成における役割

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な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。

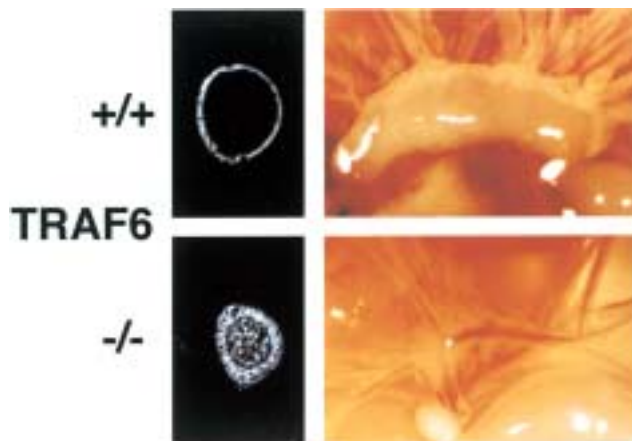


図1 TRAF6遺伝子欠損マウスにおける骨大理石病とリンパ節形成不全
 左: 大腿骨のX線断層像。TRAF6 / マウスでは破骨細胞が形成されないため骨の異常増殖による骨大理石病となる。正常マウス(上)に存在する髄腔がTRAF6 / マウス(下)には、海綿骨の異常な増殖によりほとんど存在しない。
 右: 腸管膜リンパ節はTRAF6 / マウスには無い。

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.

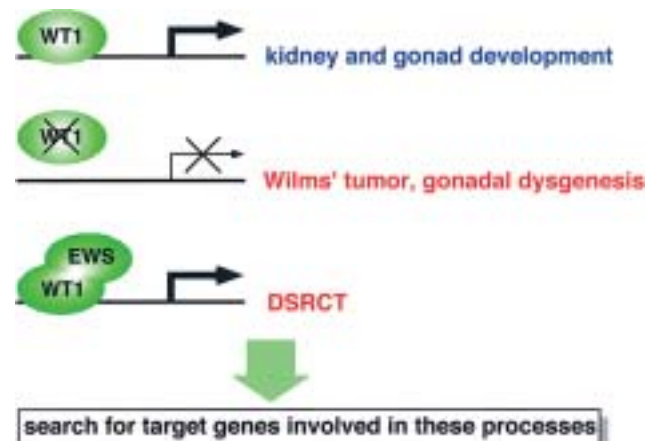


図2 WT1は腎臓と性腺の分化に必須の転写因子である。その不活化は、Wilms 腫瘍の発症や性腺の形成不全を引き起こす。また、染色体転座により生じるEWS-WT1融合蛋白質は、DSRCT (desmoplastic small round cell tumor) の発症原因と考えられている。WT1やEWS-WT1は転写因子であることから、これらによって制御を受ける標的遺伝子の同定が病態の理解と治療法の開発に重要である。

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
 助教授 医学博士 深 見 希代子
 助手 理学博士 伊 藤 俊 樹
 助手 理学博士 末 次 志 郎

PROFESSOR: TADAOMI TAKENAWA, Ph. D.
 LECTUROR: KIYOKO FUKAMI, Ph. D
 RESEARCH ASSOCIATE: TOSHIKI ITOH, Ph. D
 RESEARCH ASSOCIATE: SHIRO SUETSUGU, 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.

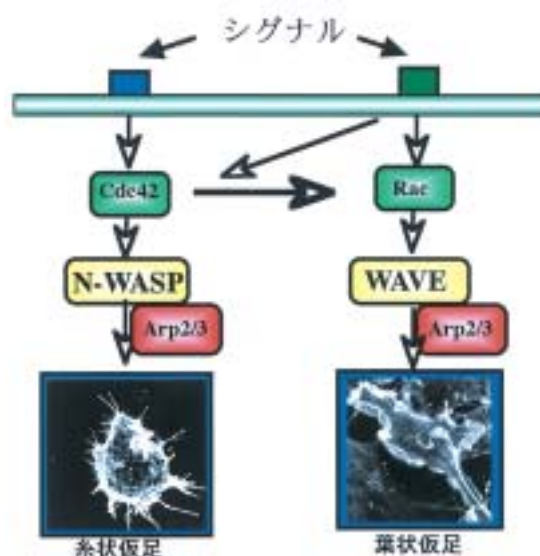


図 N WASP, WAVEによる細胞骨格制御

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い出すため、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。

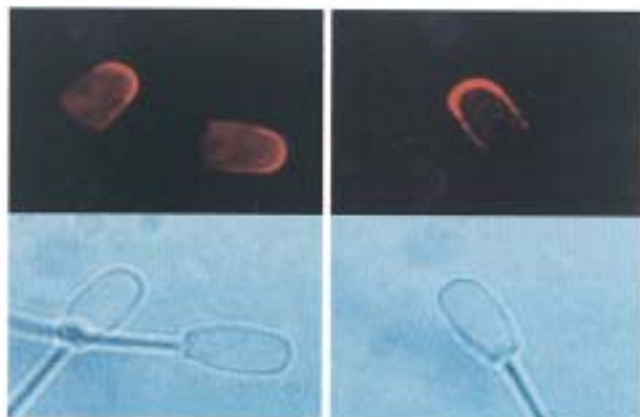
æ,, セレクチンに対する天然のリガンドの解析

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 acetylactosamine 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

PROFESSOR: Masabumi Shibuya, M. D., D. M. Sc.
LECTUROR: Noriko Gotoh, M. D., D. M. Sc.
RESEARCH ASSOCIATE: Naoyuki Yabana, 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検索し、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" BCR ABLによる白血病発症機構

BCR ABLはヒト慢性骨髄性白血病（CML）の直接的原因分子である。その形質転換能の解析はヒト発がん機構の研究に直結する。BCR ABL活性化機序の本質を酵素学的・非酵素学的立場から解明し、広くヒトがん治療の糸口を見い出すべく研究を進めている。

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" Molecular basis of leukemogenesis induced by BCR ABL

BCR ABL is responsible for pathogenesis of human chronic myelogenous leukemia (CML). Analytical studies on its transforming potential could contribute to uncover mechanism of human carcinogenesis. Characterization of the essential mechanisms of activation in BCR ABL based on its enzymatic and non enzymatic functions may provide us with a clue for cancer therapy.

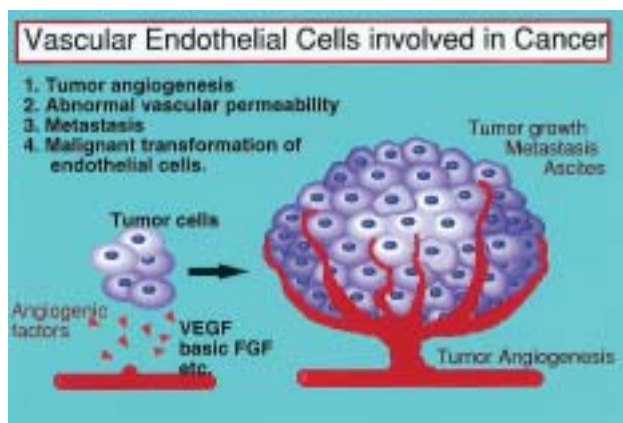


図 1
がん細胞と血管系の相互作用に関するモデル。VEGFとその受容体 Flt キナーゼファミリー（Flt 1, KDR/Flk 1）のシステムは腫瘍血管形成を調節する最も基本的なシグナル伝達系と考えられる。

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.

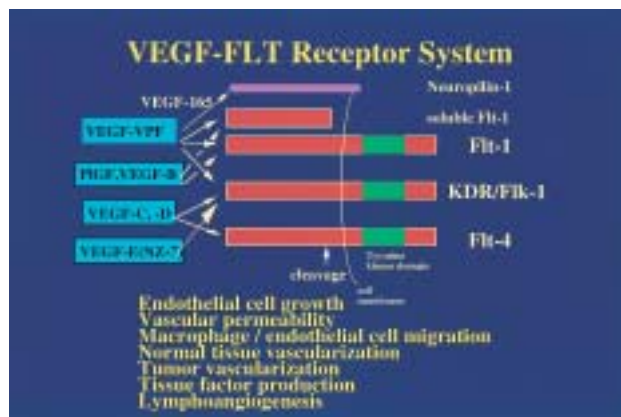


図 2
VEGFとその受容体システム。血管新生、血管透過性などに深く関与する。

Fig. 2
VEGF and its receptor system, which is deeply involved in angiogenesis and vascular permeability.

基礎医科学大部門

DEPARTMENT OF BASIC MEDICAL SCIENCES

基礎医科学大部門は、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、ニューロンネットワーク分野、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。

本大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。

基礎医科学大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・分化分野とニューロン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。

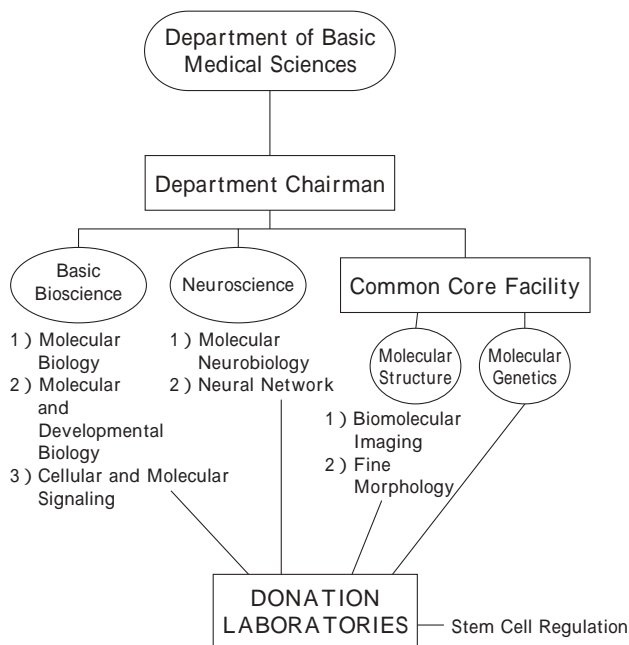
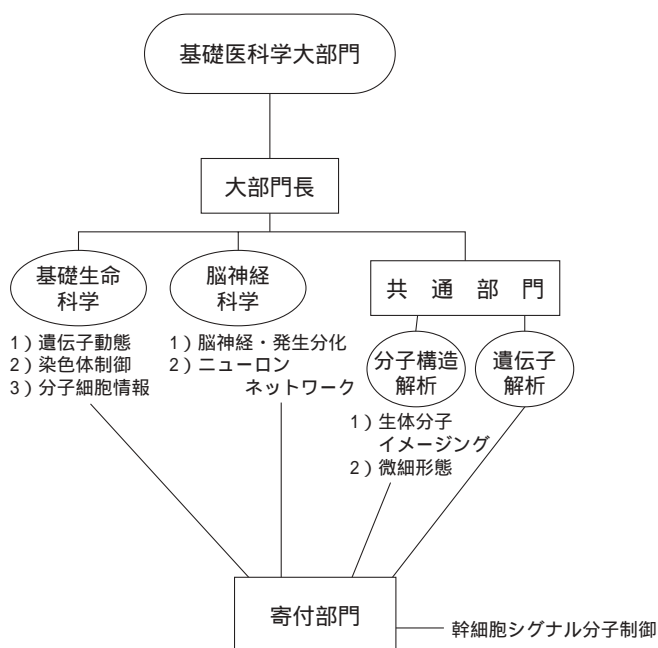
この共通部門では研究を進める一方で、技術開発も行ない、設備も含めて医科学研究所全体に広かれた共通部門として位置づけられている。

Department of Basic Medical Sciences is composed of Division of Molecular Biology, Molecular and Developmental Biology, Cellular and Molecular Signaling, Molecular Neurobiology, Neural Network, Molecular Genetics and Molecular Structure.

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, 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 Neural Network in the field of Neuroscience. There is a Division of Stem Cell Regulation as a donation Laboratory.

We set up two divisions as a Common Core Facility in the Department of Basic Medical Sciences: 1) Division of Molecular Structure 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
助手 医学博士 武川 睦寛
助手 薬学博士 舘林 和夫

PROFESSOR: Haruo Saito, Ph. D.
RESEARCH ASSOCIATE: 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。

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 osmostress 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.

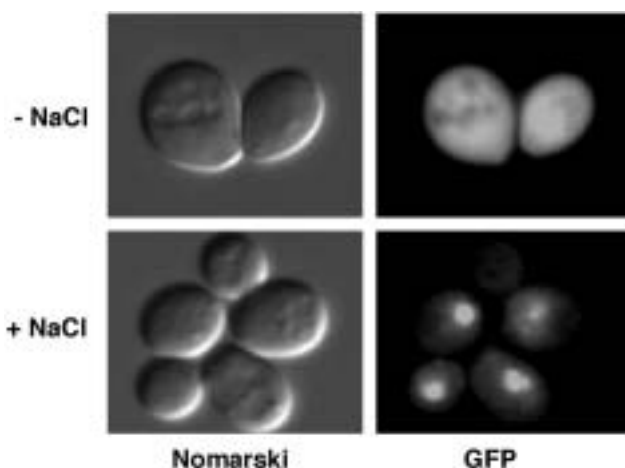


図1 酵母を高濃度の食塩などによる浸透圧ショックにさらすと，活性化されたHog1 MAPキナーゼは迅速に細胞質から核へ移動する。この実験では，Green Fluorescent Protein (GFP) と融合することによって，Hog1を可視化している。

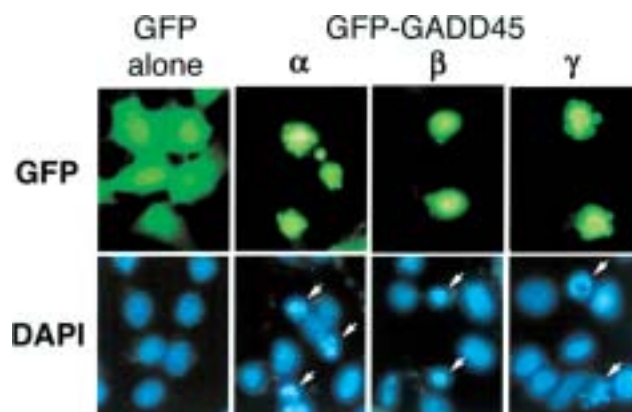


図2 哺乳類細胞にGADD45関連遺伝子を導入するとストレス応答MAPキナーゼ経路を活性化し，アポトーシスを誘導する。

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.

私たちの研究は、情動や記憶学習といった高次脳機能の分子機構を対象とし、特に、シナプスに局在する機能分子の役割に焦点を当てている。具体的には、神経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、細胞接着分子等である。私たちは受容体機能やシナプス伝達、シナプス可塑性を解析し、動物個体におけるこれらの役割を電気生理学的、生化学的、分子遺伝学的、行動学的アプローチを駆使して研究している。現在の研究課題は以下の通り。

1. シナプス可塑性におけるNMDA受容体のチロシン酸化の役割の解明
2. 細胞接着分子とシナプス可塑性：カドヘリンやテレンセファリンなどの細胞接着分子の機能解析
3. シナプス可塑性における細胞内カルシウムの役割の解明
4. 神経伝達物質放出機構の解明：シナプス前終末でのシナプス可塑性の解析
5. シナプスでのグルタミン酸濃度の制御とシナプス可塑性：グルタミン酸トランスポーターの機能解析
6. ノックアウトマウスを用いた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統合的解析
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：MAPキナーゼやRas蛋白などの機能解析
8. シナプス可塑性における神経調節物質の役割の解明：ノルアドレナリンやアセチルコリンなど
9. 2方向性のシナプス修飾のメカニズム
 - 9a. 代謝型グルタミン酸受容体依存的なシナプス可塑性
 - 9b. 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
10. 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 whole animals with electrophysiological, biochemical, molecular genetic and behavioral approaches.

1. NMDA receptor phosphorylation and synaptic plasticity.
2. Adhesion molecules and synaptic plasticity: Functional analysis of cadherin, telencephalin and so on.
3. Intracellular calcium regulation and synaptic plasticity.
4. Mechanisms of neurotransmitter release: Presynaptic plasticity
5. Regulation of synaptic glutamate concentrations and synaptic plasticity: Functional analysis of glutamate transporters.
6. Analysis of muscarinic acetylcholine receptor functions using knockout mice: Comprehensive study using the five lines of mutant mice lacking each subtype.
7. Role of intracellular signaling molecules in synaptic plasticity: Functional analysis of MAP kinases, Ras proteins and so on.
8. Modulatory neurotransmitters and synaptic plasticity: noradrenaline, acetylcholine and so on.
9. Mechanisms of bidirectional synaptic modification.
 - 9a.Characterization of mGluR-dependent synaptic plasticity.
 - 9b.Molecular mechanisms of metaplasticity: plastic regulation of synaptic plasticity.
10. Synaptic plasticity in the amygdala and emotions.

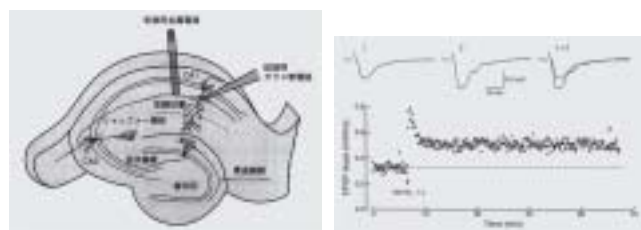


図 1 動物モデル（マウス）を用いた電気生理学
 a. マウスの海馬切片を用いた電気生理学実験法。
 b. シナプス可塑性の例。テタヌス刺激後のシナプス伝達長期増強現象。

Fig. 1 Electrophysiology using the mouse as an animal model.
 a. An electrophysiological technique on a hippocampal slice.
 b. An example of synaptic plasticity: Long term potentiation after a tetanic stimulus.

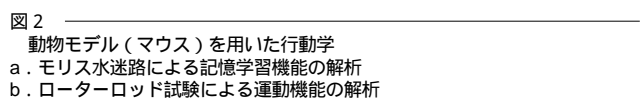


図 2 Behavioral study using the mouse as an animal model.
 a. Analysis of learning and memory function using a Morris water maze.
 b. Analysis of motor function with a rota rod test.



教授 医学博士 片山 栄作

PROFESSOR: Eisaku Katayama, M.D., D.M.Sc.

細胞内あるいは生理的環境において機能遂行中の蛋白質分子の動的3次元構造解析

急速凍結ディープエッチ・レプリカ電子顕微鏡法を用いれば、あらゆる生命現象の現場で機能遂行中の蛋白質分子を瞬間的に凍結固定し観察することができる。またわれわれの開発した3次元再構成法およびコンピュータ・シミュレーション（いずれも特許出願中）により、それぞれの粒子の3次元表面プロファイルを可視化し、分子モーターや受容体蛋白質の機能に伴う構造変化を解析できるようになった。われわれは、これらの手法を駆使した「1分子の構造生物学」を提唱し、「1分子生理学」や「細胞生物学」との融合を目指している。

Analyses of three-dimensional architecture of individual protein molecules under physiological environment in cells and *in vitro*.

Utilizing quick-freeze deep-etch replica electron microscopy and 3-D image reconstruction/simulation procedures developed by us (Patent pending), we can instantaneously capture any biological phenomenon and visualize three-dimensional surface profiles of protein molecules in function. The structural information thus obtained is used to analyze the operation mechanisms of molecular motor proteins and some receptor proteins. We propose a “structural biology of single molecules”, aiming for its combination with “single-molecule physiology” and “cell biology”.

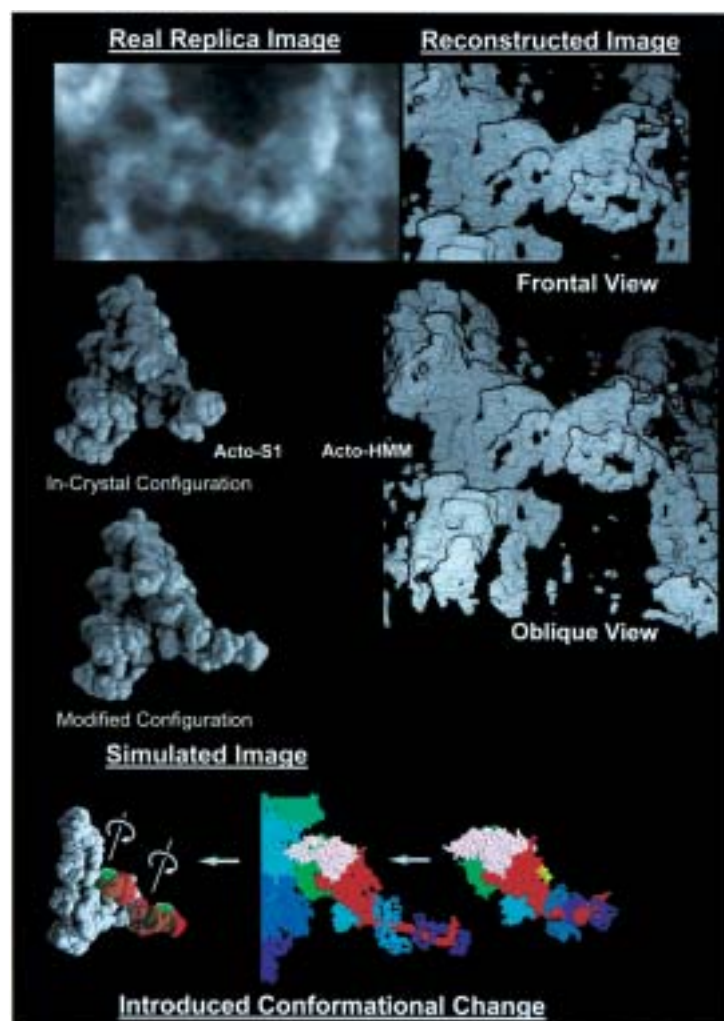


図1 上左：急速凍結フリーズレプリカ法によるアクチン重メロミオシン硬直複合体の超高倍率像。右：その3次元再構成像。左中：アクト・S1ドッキングモデルの原子座標からコンピュータ・シミュレーションした硬直複合体の像。下：複合体形成の際にミオシン頭部で起きると推定されるコンフォメーション変化。

Fig. 1 Ultra high magnification views of rigor acto heavy meromyosin complex. Top left: original quick freeze replica image. Right: its 3 D reconstructed images. Middle left: computer simulation of acto S1 docking model. Bottom: possible conformational change of myosin head introduced by strong rigor binding to actin.

助手 医学博士 鈴木 えみ子
助手 医学博士 相 良 洋

RESEARCH ASSOCIATE: Emiko Suzuki, D.M.Sc.
RESEARCH ASSOCIATE: Hiroshi Sagara, D.M.Sc.

私達の体を構成している細胞や組織には様々な機能分子がそれぞれ適材適所に配置されており、この配置が乱れると機能異常がおこる。当研究室では、機能分子の細胞内配置やこれを支える細胞の膜構造や細胞骨格の形態が遺伝子によって制御される機構を、分子生物学的な手法と電子顕微鏡及び蛍光顕微鏡法を用いて解析している。現在、以下の研究を行っている。

æ, ショウジョウバエ神経系の機能蛋白質の解析

a) 網膜光情報変換系蛋白質の細胞内局在化機構：光エネルギーを電気信号に変換する一連の反応を行うシグナル伝達系（光情報変換系）の蛋白質群が視細胞の感桿分体という光受容体で高分子複合体を形成しており、感桿分体基部のSRCという特殊な滑面小胞体にも光情報変換に関与する酵素群が局在していることを明らかにした。この複合体の形成機構やこれらの蛋白質の細胞内局在化機構を解析している。

b) シナプスの機能分子の局在と機能発現：行動異常突然変異の原因遺伝子解析から同定した蛋白質の局在や他のシナプス蛋白質との位置関係、および機能的相互関係を解析している。また、シナプス形成時の細胞動態と機能分子の局在との関係を解析している。

æ,, RPE65ファミリー蛋白質の解析

我々がニワトリ網膜色素上皮細胞で発見したRPE65蛋白質は、動物種を越えて良く保存されており、レチノイドの代謝に関与していることがわかった。RPE65に対する抗体や遺伝子プローブを用いて、様々な動物でRPE65ファミリー蛋白質の局在を検討し、レチノイド代謝におけるRPE65の機能を解析している。

以上の研究の他に、コアラボラトリー微細形態室として、電子顕微鏡法の技術支援と共同研究を行っている。

Cells and tissues of our bodies contain various functional molecules distributed in right places for their activities. Perturbation of the arrangement of these molecules causes physiological dysfunction. Our final goal is to elucidate the genetic mechanisms that regulate the distribution of functional molecules in relation to the cellular structures. Using molecular and genetic tools in combination with fluorescence and electron microscopy, we are currently pursuing following projects.

æ, Analyses of functional molecules in *Drosophila* nervous system

a) Proteins of retinal phototransduction: We have found that the proteins of the signaling cascade that converts the light energy to electrical signals (phototransduction) form macromolecular complexes in the photoreceptive organelle, rhabdomere, and that the related proteins are distributed in the specialized smooth endoplasmic reticulum, SRC. We are studying the mechanism of assembly and localization of these proteins.

b) Synaptic proteins: We have identified several new proteins in synapses by the screening of behavioral mutants. We are analyzing the mechanism of localization of these proteins and functional correlation with other proteins. We are also studying the developmental aspects of synaptic protein localization and their function.

æ,, Analyses of the RPE65 family proteins

RPE65, that we have identified in chick retinal pigment epithelium, is a phylogenetically conserved protein and is suggested to be involved in retinoid metabolism. We are studying the distribution of this and related proteins in various species using antibodies and genetic probes, in an attempt to understand its roles in retinoid metabolism.

In addition to above investigation, we are carrying out technical support and collaboration works as Core Laboratory of Fine Morphology.

Signaling complex in *Drosophila* phototransduction

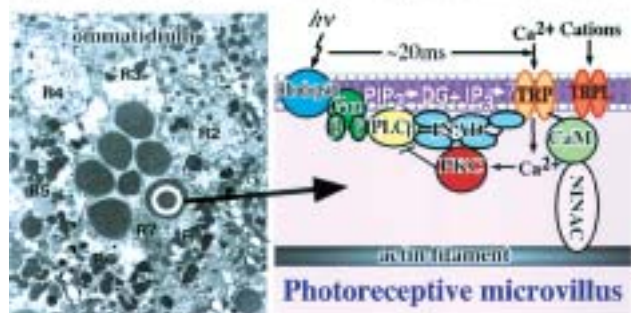


図1 アダプター蛋白質INADによって会合したショウジョウバエ視細胞の光情報変換複合体。

Figure 1 Signaling complex assembled by the adaptor protein INAD in *Drosophila* phototransduction.

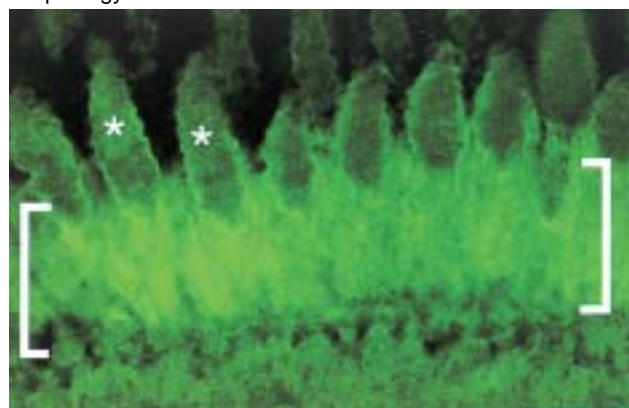


図2 ゼリガニ網膜のRPE65相同蛋白質。蛍光抗体染色像。脊椎動物の色素上皮に相当する色素細胞層（括弧に挟まれた部分）にRPE65相同蛋白質が局在する。*印：視細胞の光受容体（外節）。

Figure 2 Immunofluorescence micrograph of RPE65 homologous protein in a Crayfish retina. It localizes in the pigment cell layer (area between brackets). Asterisks, photoreceptor outer segments.

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
 助手 薬学博士 服部 光治

PROFESSOR: Katsuhiko Mikoshiba, M. D., Ph. D.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Takafumi Inoue, M. D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Takayuki Michikawa, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Mitsuharu Hattori, Ph. D.

脳神経発生・分化分野は、1) ほ乳類の脳神経系がいかに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に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（成長円錐の伸張など）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ッ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。

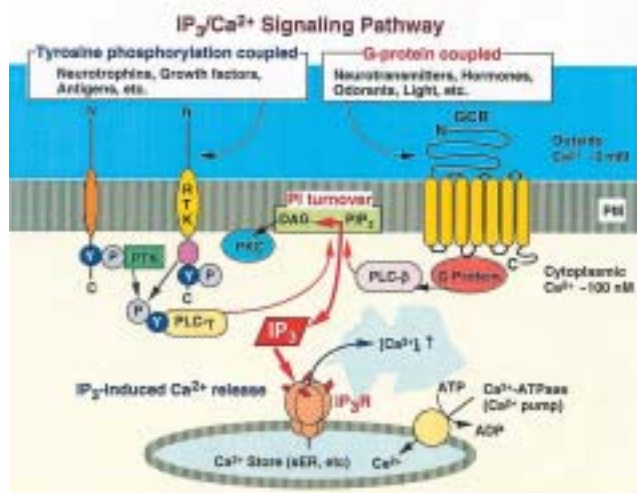


図 1 IP_3 誘導 Ca^{2+} シグナル伝達と IP_3 受容体

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.

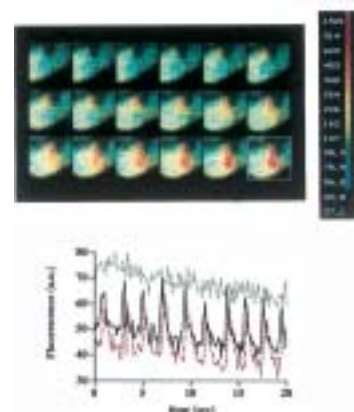


図 2 カルバコール刺激したラット唾液腺単離導管の、時間空間的な細胞内 Ca^{2+} 濃度変化

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
助手 理学博士 伊藤 耕一

PROFESSOR: Yoshikazu Nakamura, Ph. D.
RESEARCH ASSOCIATE: Koichi Ito, 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よって依存する。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医工学

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。

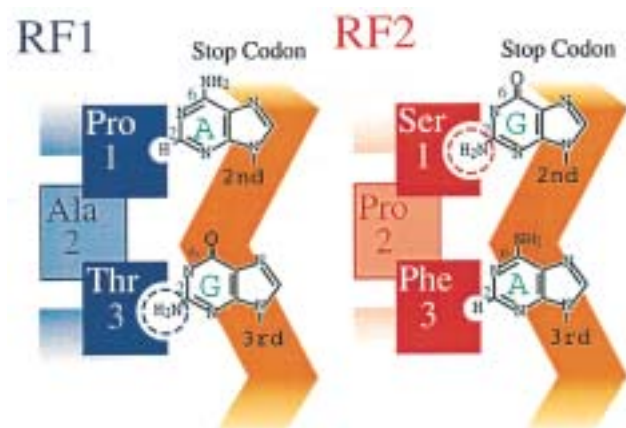


図1 バクテリアの解離因子に発見されたトリペプチド・アンチコドン。終止コドンの2文字目と3文字目のプリンを、1文字目と3文字目のアミノ酸が識別する。

Fig. 1 The tripeptide anticodon of bacterial release factors. The first and third amino acids discriminate the second and third purine bases. The C-2 amino group of G is a primary target for discrimination by Pro and Phe, while Thr and Ser permit both C-2 amino group and proton of purine (ref. Ito et al. *Nature* 403, 680-684, 2000).

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 selenocysteine 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.

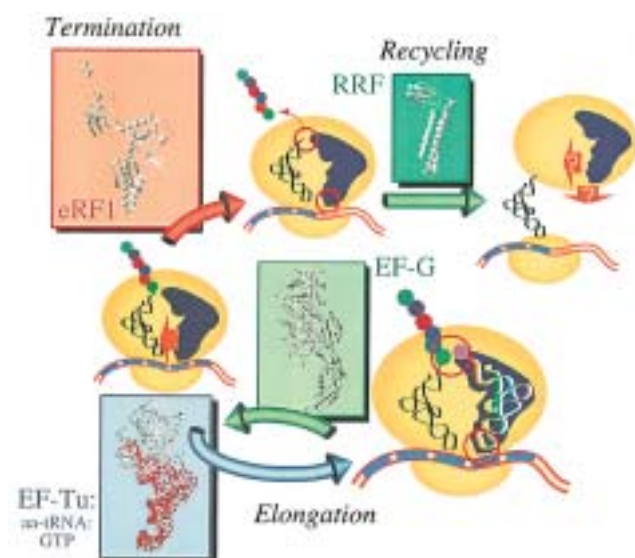


図2 tRNAを擬態する翻訳因子。高度好熱菌のリボソーム再生因子（RRF）の構造は我々の研究室で解明された。各翻訳因子は、見かけはtRNAに似ているが、作用の内容は異なる。

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

薬学博士 小林 一三

ASSOCIATE PROFESSOR: Ichizo Kobayashi, Ph. D.

生き物は、なぜ病気になるのだろうか。いくつかの病気は外から侵入する病原体という遺伝子群によって引き起こされる。同じように、ゲノム自身の中にも利害の異なる遺伝子単位があり、それらの間の衝突によって「病気」が引き起こされる。私たちは、制限酵素修飾酵素の遺伝子がこのような意味での病原体であることを発見し、そのバイオロジーの研究をスタートさせている。個々の遺伝子の活動と宿主 (=ゲノム) の相互作用によって、さまざまなゲノムの変化と進化がもたらされる。生体内での遺伝子の組み換えと修復を、このような見方から解析し、治療への応用をめざしている。一方、制限修飾遺伝子の自己維持機能を利用するバイオテクノロジー研究をも進めている。

æ, 制限酵素修飾酵素遺伝子の病原体としてのふるまい

æ,, 細菌ゲノムの進化と制限修飾遺伝子

æ" 遺伝子組換えの機構と役割

æ» 遺伝子組換えの治療への応用

æ... 制限修飾遺伝子の機能を利用したバイオテクノロジー

One genome is a community of genes with potentially different interests. Their collaboration and conflicts underlie various aspects of DNA metabolism, genome rearrangements and diseases. Our goal is to understand genes, genomes, their interactions, their changes, and diseases from this point of view.

We found that a gene complex for a restriction enzyme and a modification methylase can behave as a pathogenic element that increases its frequency by attacking host genome. We are starting biological study of these elements. Various types of cellular processes and DNA recombination may be understood in relation to the interaction between these pathogenic elements and the host. These interactions likely lead to genome evolution. We also attempt to apply this understanding to therapy. The self maintenance of restriction modification genes provides a unique strategy in stable maintenance and expression of useful genes in biotechnology.

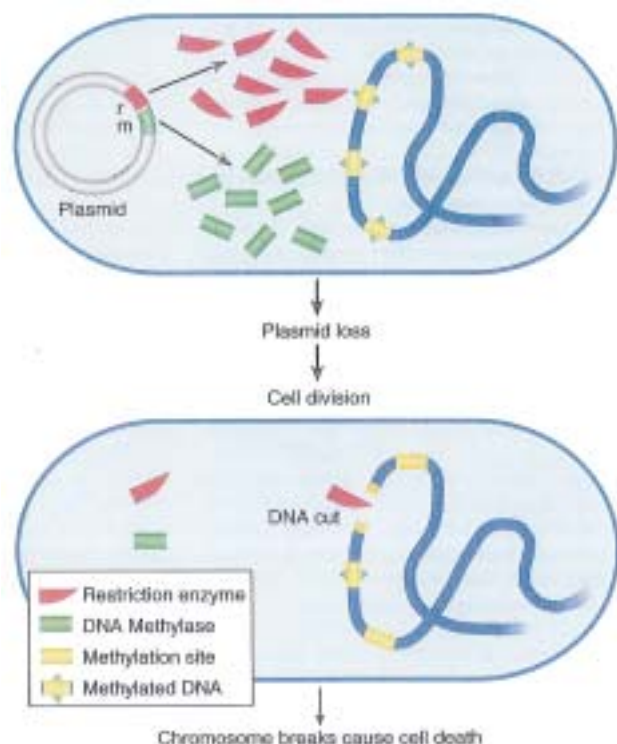
æ, Restriction modification gene complexes as genomic parasites

æ,, Genome evolution and selfish genetic elements

æ" Mechanisms and roles of recombination

æ» Application of recombination to therapy

æ... Application of restriction modification gene complexes to biotechnology



図の説明

制限修飾酵素によるプログラムされた細胞死。制限修飾遺伝子が失われると、制限酵素がDNAの非修飾部位を切断し、細胞を死に至らしめる。

Fig.

Programmed cell death induced by restriction enzymes. Loss of the restriction modification gene complex causes formation of undermethylated sites in DNA that triggers double strand breaks by restriction enzymes, resulting in cell death.

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, 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らしい。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と細胞侵入性赤痢菌によって引き起こされる非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", 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)。最近では、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... 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

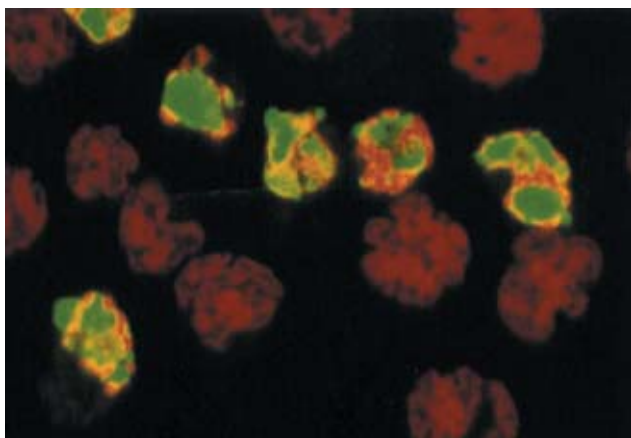


図1 ポリ(ADP リボース)ポリメラーゼに対する切断部位特異抗体で染色したヒトT細胞Jurkat。細胞死は3, 4ジクロロイソクマリンで誘導した。PIによる核染色(赤色)に対してFITCで緑色に染まっているのがアポトーシス細胞。

Fig. 1 Cleavage site directed antibody against caspase 3 catalyzed poly (ADP ribose) polymerase stain apoptotic human T Jurkat cells (green) treated with 3, 4 dichloroisocoumarin. 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, 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" 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... 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

教授	医学博士	新井 賢一
助教授	医学博士	渡辺 すみ子
助手	医学博士	佐藤 憲子
助手	工学博士	佐藤 伸哉

Professor: Ken ichi Arai, M. D., Ph. D.

Associate Professor: Sumiko Watanabe, Ph. D.

Research Associate: Noriko Sato, M. D., Ph. D.

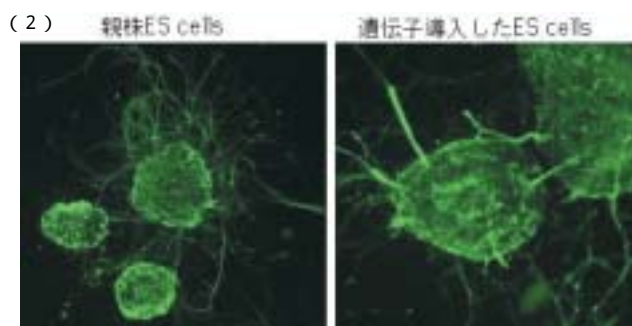
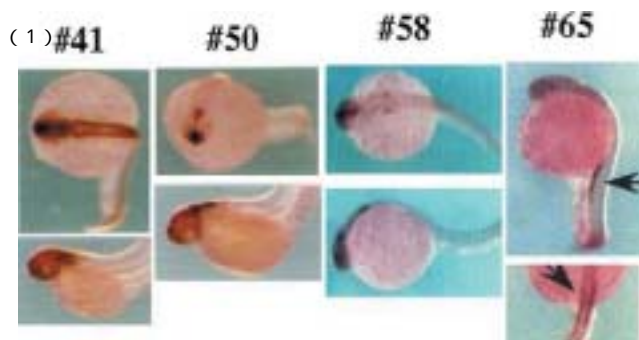
Research Associate: Shinya Satoh, Ph. D.

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、アフリカツメガエル等を使用し、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» ES細胞をもちいた網膜再生、移植研究
- æ... ES細胞と体細胞の核構造の変化と発生制御の分子機構
- æ% 転写因子による免疫反応の制御とその応用
- æ 自然免疫作用の分子機構、などを行っている。

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。



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” 未分化ES細胞とEmbryoid body形成後4日目の細胞のOct 3/4 (緑)とBrachyury遺伝子(赤)のFISHを行った。両遺伝子座ともマウス17番染色体上に存在する。細胞分化によって、2つの遺伝子領域の複製タイミングは変化しなかったが、S期核の両遺伝子間距離がアレルの間で差を生じる傾向にあった。このことは、分化によりクロマチン伸縮度がアレルの間で変化している可能性を示唆した。

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, zebrafish and *Zenopus* 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» Regeneration of retina using mouse ES cells and their transplantation
- æ... Regulation of development by reprogramming of nuclear structures
- æ% Regulation of immune response by transcription factors
- æ Molecular mechanisms of innate immunity

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 1)



(3 2)

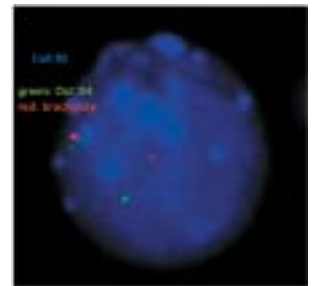


Fig. legend

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” Oct3/4 (green) and Brachyury (red) regions on mouse chromosome 17 were visualized by FISH in undifferentiated (1) and differentiated (2) BrdU positive ES cells. Differentiation was induced for 4 days by embryoid body formation. Although replication timing has not been influenced by differentiation, allelic differences of spatial distances between both regions have been detected in differentiated cells.

客員教授 理学博士 横田 崇
客員助教授 医学博士 西中村 隆一
助手 薬学博士 水野 憲一

VISITING PROFESSOR: Takashi Yokota, Ph. D.
VISITING ASSOCIATE PROFESSOR: Ryuichi Nishinakamura, MD, Ph. D.
VISITING RESEARCH ASSOCIATE: Norikazu Mizuno, Ph. D.

当研究部は幹細胞の自己複製機構、分化機構をサイトカインレセプターを含めたシグナル伝達分子遺伝子を導入することにより解析し、さらに、幹細胞機能の改変、幹細胞の増幅、幹細胞への遺伝子治療などの応用面にも迫る研究を目的としている。現在の研究課題を以下に記す。

æ, 胚性幹細胞(ES細胞)の自己複製および分化にかかわるシグナル伝達系の解析

すでにサイトカインと細胞培養系が存在する胚性幹細胞をもちて、白血病細胞増殖抑制因子(LIF)受容体からの自己複製シグナル伝達機構を分子生物学的に解析する。

æ,, 腎臓形成におけるマスター遺伝子の解析

腎管形成に必要な遺伝子をアフリカツメガエル動物極細胞より同定し、マウス相同遺伝子の遺伝子欠失マウスを作製することにより、腎管形成における遺伝子の機能を解析する。

æ” 造血幹細胞の体外増幅

造血幹細胞を受容体を含めたシグナル伝達分子の遺伝子レベルで改変し、自己複製能を高めたり、その機能を目的に応じて修飾する技術を開発する。細胞株と共にトランスジェニックマウスを用い個体レベルと細胞レベルで解析する。

æ> 神経幹細胞の自己複製機構解析

神経幹細胞はEGF, bFGF存在下で未分化状態を維持する。神経幹細胞特異的な細胞表面マーカーを同定することにより、神経幹細胞を濃縮する技術を開発する。さらに神経幹細胞の自己複製機構を解析する。

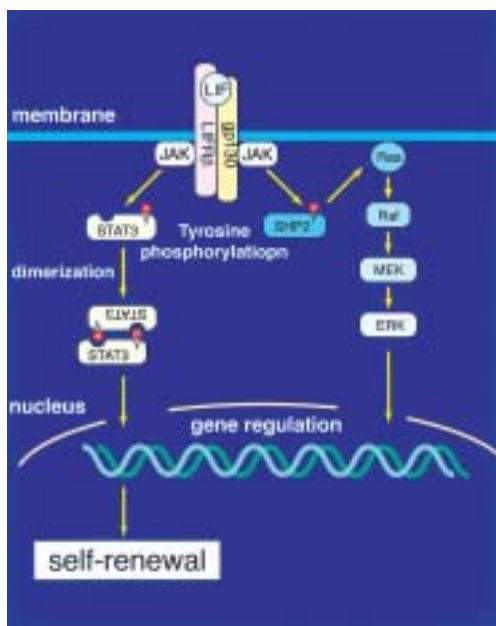


図1 ES細胞における自己複製シグナル伝達機構

ES細胞の自己複製因子LIFは、STAT3系、MAPキナーゼ系などの複数のシグナル伝達分子を活性化。我々は最近、転写因子STAT3の活性化がES細胞の未分化状態の維持に必要かつ十分であることを見出した。今後、STAT3の標的遺伝子(群)を同定することにより、ES細胞が多分化能を維持するメカニズムの本質に迫りたいと考えている。

Fig. 1 Self renewal signal transduction in ES cells

LIF, a self renewal factor for ES cells, regulates several signaling pathways in ES cells. We have found that STAT3 activation is necessary and sufficient for maintenance of undifferentiated ES cells. Now we are trying to identify the target(s) of STAT3 to understand the self renewal mechanism of ES cells.

Our research interest is to characterize functional molecules of stem cells, particularly 1) signaling molecules mediated by cytokine receptors that regulate proliferation and differentiation of stem cells, and 2) genetic manipulation of stem cells by appropriate vector system. There are no established stem cell lines and self renewal factors for stem cells, except embryonic stem (ES) cells and leukemia inhibitory factor (LIF), respectively. Therefore, in vitro expansion of stem cells is essential not only for analyzing their self renewal mechanism, but also for a variety of clinical applications, such as bone marrow transplantation, tissue regeneration, and gene therapy. The followings are our major projects.

æ, Analyses of signal transduction mechanisms involved in self renewal and differentiation of ES cells using chimeric receptor approach

æ,, Identification of essential genes for kidney formation using animal caps of Xenopus embryos and knockout mice

æ” Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells (HSC) using chimeric receptor transgenic mice

æ> Identification and establishment of neural stem cells from mouse fetal brain

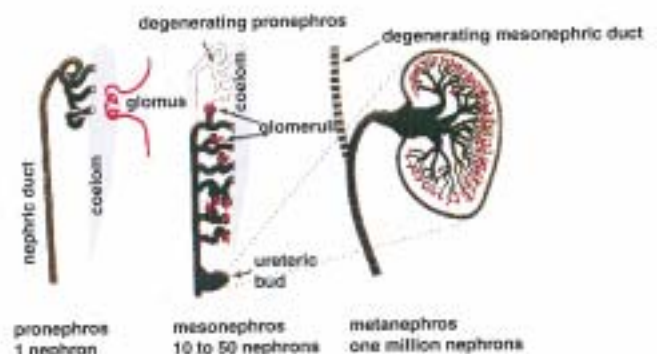


図2 腎臓の発生

腎臓の発生は前腎、中腎、後腎(成人の腎臓)の3段階に分けられる。ツメガエル初期胚の動物極細胞をアクチビンとレチノイン酸処理をすると3日後に前腎管が生成する。この系を用いて、われわれは数個の遺伝子をカエルとマウスで単離した。現在、腎臓発生におけるその遺伝子の機能を解析中である。さらに、腎臓前駆細胞を単離し、試験管内及び生体内腎臓分化系を確立する予定である。

Fig. 2 Kidney development.

Kidney development is divided in three stages: pronephros, mesonephros, and metanephros (kidney in adult). Animal caps of Xenopus embryos, which are treated with activin and retinoic acid, give rise to pronephric tubules in three days. Utilizing this system, we have cloned several genes both in frogs and in mice, and are analyzing their functions in kidney development. We also plan to isolate kidney progenitors and establish differentiation systems in vitro and in vivo.

客員教授 理学博士 高橋 恒夫
助手 医学博士 長村 登紀子
助手 医学博士 渡辺 信和

VISITING PROFESSOR: Tsuneo A. Takahashi, D. Sc
RESEARCH ASSISTANT: Tokiko Nagamura, M.D., Ph. D.
RESEARCH ASSISTANT: Nobukazu Watanabe, M.D., Ph. D.

細胞プロセッシング研究部門は、医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、細胞分離・凍結施設として今日までに4,200を超える脐帯血を保存している。脐帯血出庫数も順調に伴い、121名の患者に127unitsの脐帯血を送り出している。バンクの規模拡大に加え、我々は品質管理のために2001年3月にISO9002を取得した。また、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を海外の各バンクと設立した。また、アジアのバンクをまとめるAsiaCORDも設立し、事務局として活動している。研究部門の活動では、1997年度より樹状細胞研究を押し進め、医科研の臨床部門を支援している。2001年度から脐帯血移植の成績向上のため脐帯血NK細胞/NKT細胞の増幅や、脐帯血造血幹細胞のhominingに関する研究を開始している。また、脐帯・胎盤由来間葉系細胞を用いた再生医療に関する研究にも取り組んでいる。現在進行中のプロジェクトを紹介する。

・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FACTH/NETCORDによる共同ガイドラインの基本をつくり、それに基づいて細胞処理を行っている。我々はこれらの基準の維持管理システムとして国際規格ISO9002を採用し、2001年3月に認証を受けて1年以上にわたりこれを運用、システム上の数々の利点を見出している。

移植用脐帯血は凍結保存され国際間で移植も比較的容易に行われることから、国際レベルでのバンク協力体制の確立は重要である。2002年7月までに、当バンクは約2,000UnitをNETCORD、BMDWに登録し、海外へ8Unitを出庫してきた。また2001年7月、アジア諸国とともにAsiaCORDを設立し、アジアにおけるドナー検索の迅速化を計っている。それに関連し、ベトナムにおける公的脐帯血バンクの設立を技術援助している。

近年、小児だけでなく成人への脐帯血移植も一般的となり、ほぼ半々の割合となっている。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、現在我々は成人に対する必要最低限の血液幹細胞量を検討している。

・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)と甲狀腺癌患者(5例)の樹状細胞療法を進めている(第 相臨床試験)。

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の機能を解析し、比較検討を行った。未成熟CBMo DCsはPBMo DCsとほぼ同様の貪食能、遊走能を示した。CBMo DCsのアロリン/球混合反応におけるT細胞活性化は、PBMo DCsのそれより高かった。RT-PCR解析の結果、未熟CBMo DCsも未熟PBMo DCsと同様にLPS刺激後にIFN γ 、GM-CSF、IL 6、およびIL 12 p 40を産生した。これらの結果より、CBMo DCsはPBMo DCsと同様に高い抗原提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の利用が期待される。

・脐帯血NK細胞/NKT細胞の増幅と活性化

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、これらの増幅と活性化はCTLとともにGVLT反応に貢献するものと期待される。我々は、脐帯血単球よりIL 15とFlt3Lを用いて2-3週間の培養でNK細胞を3-174倍に増幅した。これらの細胞はperforinなどの細胞傷害機能分子を発現し、K562等に対して高い細胞傷害活性を有していた。一方、V 24 \cdot Vb11 \cdot NKT細胞は、IL 15、Flt3L/IL 7存在下でgalactoceramide(GalCer)を添加したときのみ増幅し、PMA+ionomycinで刺激後IFN γ とIL 4を産生した。今後、NK細胞/NKT細胞による*in vitro*でのT細胞のTh1/Th2バランス制御などの研究を進める予定である。

・脐帯血、G-CSF動員末梢血、および骨髄由来造血幹細胞におけるhomining関連分子の解析

我々は、脐帯血造血幹細胞の骨髄へのhomining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CD34 $^{+}$ 細胞における接着分子の発現をflow cytometerで解析比較すると、脐帯血由来CD34 $^{+}$ 細胞ではCD49e、CD49f、CD54の発現が低く、また、骨髄間質からのSDF 1をキャッチするCXCR 4分子も低発現であった。さらに、組織に侵入する際に必要なMMP 2/MMP 9の発現も低かった。これらの分子群は、stem cell factor(SCF)で脐帯血由来細胞を48時間培養すると、CD34 $^{+}$ 細胞における発現が増強した。NOD/SCIDマウスを用いた実験では、脐帯血細胞のSCF処理により脐帯血移植後の血液再構成が促進されることが明らかとなり、今後の臨床応用が期待される。

・胎盤由来間葉系細胞を用いた再生医療への応用

我々は、娩出後のヒト胎盤から間葉系細胞を単離・培養し、*in vitro*での細胞生物学性状を解析した。trypsin処理とFACS sorting、あるいはexplant法を用いた方法で得られた間葉系細胞も同様の細胞表面マーカーを示し(CD34 $^{+}$ CD45 $^{-}$ SH2 $^{-}$ SH3 $^{-}$)、Hoechst33342で染まらないside population(SP)の頻度は0.1%以下と低頻度であった。これらはc-Metなど種々の分化誘導因子のレセプターmRNAを構成的に発現し、分化関連マーカーであるrenin、cardiac actin、keratinなどのmRNAも発現していた。さらに、*in vitro*で骨芽細胞、軟骨細胞および神経系細胞に分化誘導可能であった。現在、NOD/SCIDマウスを用いて*in vivo*での分化誘導を解析中である。

Division of Cell Processing was established in IMSUT on September 1995 to support the institute through cell therapy and gene therapy. After establishment of Tokyo Cord Blood Bank on September 1997, more than 4,200 units of cord blood(CB) have been stored by July, 2002. We have shipped 127 units of cord blood for 121 patients with hematopoietic malignancies, etc. In addition of enlargement of banking scale, our bank acquired ISO 9002 on March 2001, and we are supporting to establish international NetCord. We are also supporting the clinical departments through dendritic cell therapy for patients with malignancies. Expansion of NK cells and homing of stem cells are studying to improve the results of CB transplantation. In addition, we have started research for regeneration medicine using placenta derived mesenchymal cells.

Quality management and internationalization of cord blood bank.

Tokyo cord blood bank(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 FAHCT NetCord standards developed by the international cord blood bank network. In order to keep these standards, we adopted the international quality management system, The International Organization for Standards(ISO)9002. We got certified as ISO 9002 on March, 2001 and passed two inspections after then.

Tokyo CBB has registered 2,000 units of CB in NetCord and Bone Marrow Donor World Wide(BMDW) by July, 2002, and shipped 8 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. The ability of CBMo DCs to stimulate T cells in an allogeneic mixed lymphocyte reaction was significantly higher than that of PBMo DCs. Determination of cytokine mRNA levels by RT-PCR revealed that both immature CBMo and PBMo DCs stimulated by LPS produced IFN γ , GM-CSF, IL 6 and IL 12 p 40. 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 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 GVLT effects and engraftment after stem cell transplantation. We have studied the effect of IL 15 and Flt3L on the expansion and activation of NK cell. After 2 to 3 weeks culture with IL 15 and Flt3L, NK cell expanded at 3 to 174 folds. These expanded cells expressed perforin molecules, and cytotoxic activity against K562 was also recognized, which was inhibited by perforin inhibitor. V 24 \cdot Vb11 \cdot NKT was expanded in the culture with IL 15, Flt3L, IL 7 and galactoceramide. These NKT cells produced IFN γ and IL 4 in response to PMA+ionomycin. These results indicated that CB derived NK cells and NKT cells may contribute to the clinical use for anti leukemia therapy.

Different expressions of adhesion molecule and chemokine receptor repertoire among cord blood, mobilized peripheral blood, and bone marrow derived CD34 $^{+}$ cells

Both adhesion molecules and chemokine receptors play a critical role in hematopoietic stem/progenitor cells engraftment and hematopoietic reconstitution. We herein hypothesized that some defects of adhesion molecules and chemokine receptors expressed on HS/PCs in cord blood(CB) might account for delayed hematopoietic reconstitution of CB transplantation recipients. We compared levels of the adhesion molecule and chemokine receptor expressions 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.

Multilineage potential of human placenta derived mesenchymal cells.

We cultured freshly isolated mesenchymal cells from human placenta, and analyzed their cell biological features *in vitro*. Cells separated using trypsin/EDTA or explant method were cultured for 10-14 days, then analyzed by flow cytometer. CD34 $^{+}$ CD45 $^{-}$ SH2 $^{-}$ cells showed the fibroblastic shapes after sorting following by few days culture. Most of these CD34 $^{+}$ CD45 $^{-}$ SH2 $^{-}$ cells were stained by Hoechst 33342 and less than 0.1% of these cells belonged to side population(SP). RT-PCR analysis showed that these placenta derived cells expressed constitutively mRNA of some growth factor receptors; BMP4/RII, c-Met, and retinoic acid receptor type a, in addition to rennin, cardiac actin and keratin mRNA. These CD34 $^{+}$ CD45 $^{-}$ SH2 $^{-}$ cells could be introduced to the chondrocytes, osteoblasts and neuronal cells. We are investigating the possibility of differentiation of these cells using NOD/SCID mouse.



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
 助 手 医学博士 川 島 敏 行
 助 手 医学博士 尾 崎 勝 俊

VISITING ASSOCIATE PROFESSOR: Tetsuya Nosaka, M.D., D. M. Sc.
 VISITING RESEARCH ASSOCIATE: Toshiyuki Kawashima, M.D., D. M. Sc.
 VISITING RESEARCH ASSOCIATE: Katsutoshi Ozaki, M.D., D. M. Sc.

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ー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ージング細胞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ている。

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 have recently established based on retrovirus mediated gene transfer, we have 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 an efficient retrovirus packaging cell line 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 have recently generated the mice displaying dwarfism and lymphoid deficiency by gene targeting of TSG that was isolated by SST REX. We are also making model mice of human leukemia caused by chromosomal translocations by bone marrow transplantation after retroviral gene transfer.

客員助教授 医学博士 井ノ上 逸 朗
 助 手 医学博士 中 島 敏 晶
 助 手 医学博士 吉 田 健 一

VISITING ASSOCIATE PROFESSOR: Ituro Inoue, M.D.
 VISITING RESEARCH ASSOCIATE: Toshiaki Nakajima, M.D., Ph.D.
 VISITING RESEARCH ASSOCIATE: Kenichi Yoshida, D.V.M., Ph.D.

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ことにより、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.

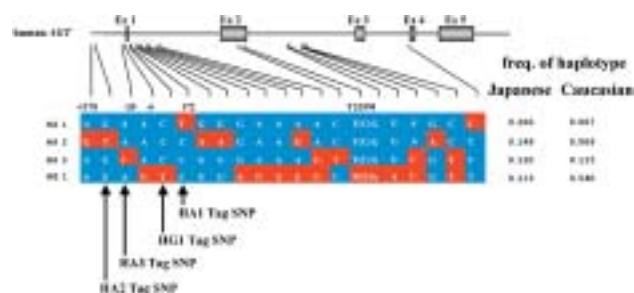


図 1 日本人、白人におけるアンギオテンシノーゲンハプロタイプとそれぞれタグとなるSNPs

Fig. 1 Angiotensinogen haplotype in Japanese and Caucasian and haplotype-tagged SNP.

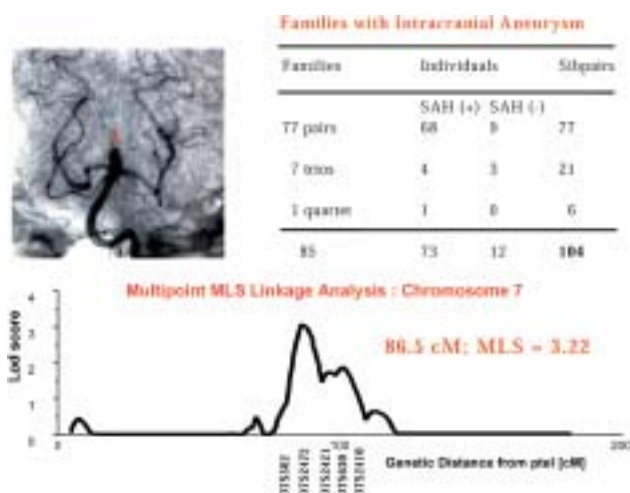


図 2 脳動脈瘤罹患同胞収集とノンパラメトリック連鎖解析

Fig. 2 Families with intracranial aneurysm and the results of non parametric linkage study

客員助教授 理学博士 山下 孝之
助手 医学博士 小田 司

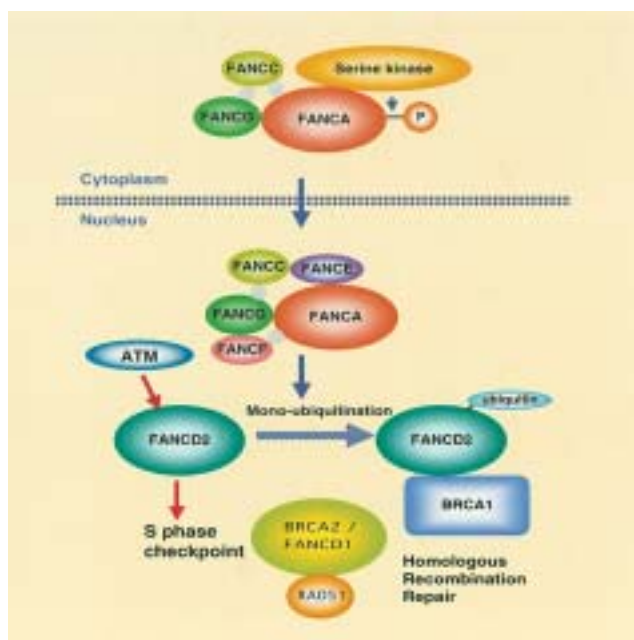
VISITING ASSOCIATE PROFESSOR: Takayuki Yamashita M. D., Ph. D.
VISITING RESEARCH ASSOCIATE: Tsukasa Oda, Ph. D.

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8群（A, B, C, D1, D2, E, F, G）に分類され、これらに対応する分子が同定されている。このうちFANCA, C, E, F, G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（FA分子経路）。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。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 aging. 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 eight genetically distinct groups (A, B, C, D1, D2, E, F, G). Five encoded proteins by FA genes, FANCA, C, E, F and G 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. 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貧血蛋白群が形成する分子経路のモデル

FANCA, C, Gは複合体を形成し、細胞質から核へと移行する。FANCAは細胞質に存在するセリン・キナーゼによりリン酸化を受ける。核内ではFANCA, C, E, F, Gが複合体を形成し、これに依存してDNA損傷によりFANCD2のユビキチン化が亢進し活性化される。活性型FANCD2はBRCA1と相互作用する。また、BRCA2の異常がFAの臨床表現型の原因となる。

Fig.

Model of the Fanconi anemia pathway

FANCA, C and G proteins make a complex, which translocates from the cytoplasm into the nucleus. FANCA is phosphorylated by a cytoplasmic serine kinase. In the nucleus, FANCA, C, E, F and G make a multiprotein complex, which is required for DNA damage induced activation of FANCD2 into a ubiquitinated form. This active form interacts with BRCA1. Biallelic mutations of BRCA2 also cause a clinical phenotype of FA.

客員教授 理学博士 磯 辺 俊 明
客員助教授 理学博士 泉 友 則
助 手 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2次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動を利用した従来のプロテオーム解析法に加えて、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機能プロテオミクス研究を進めています。

多次元LC MS/MSシステム：膜ドメインや細胞内小器官に含まれる1000種類以上のタンパク質を自動的に同定できます。

ナノフローLC MS/MSシステム：フェムトモル程度の微量試料に含まれる100種類以上のタンパク質成分を1時間以内に同定できます。標識タグを利用したプルダウン法によって培養細胞から得られる機能性複合体の解析などに威力を発揮します。

BIA LC MS/MSシステム：表面プラズモン共鳴センサーによってタンパク質の相互作用をリアルタイムでモニターしながら、目的のタンパク質や薬物と相互作用する標的タンパク質を同定できるシステム作りを目指しています。

これらの解析プラットフォームを利用したプロテオミクス研究によって、細胞の増殖、分化、アポトーシスなど、基本的な細胞活動に関わるタンパク質の機能情報ネットワークと、その空間的、時間的な制御についての解析を進めていきます。

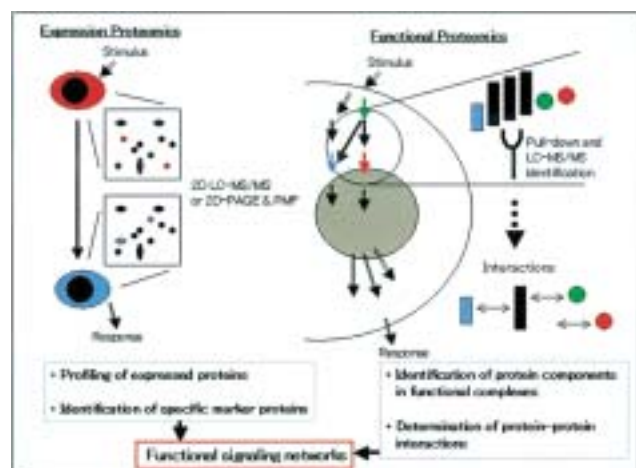


図1 発現プロテオミクスおよび機能プロテオミクスによる細胞内情報ネットワークの解析

Fig. 1 Expression and functional proteomic analyses of intracellular signaling networks.

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. Besides the conventional methods for proteomics based on two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D PAGE) and mass spectrometry (MS), our laboratory is equipped with advanced liquid chromatography (LC) based technologies to serve for functional proteomics.

Multi dimensional LC MS/MS system that allows automatic identification of nearly a thousand protein components in functional membrane domains and organelles.

Direct nano flow LC MS/MS system that allows identification of ~100 protein components within one hour, with a femtomole amount of functional complexes pulled down from cultured cells with tagged protein as a bait.

BIA LC MS/MS system for real time monitor of protein interactions by surface plasmon resonance sensor and simultaneous identification of interacting molecules by MS.

By use of these technologies as analytical platforms, we will study on the signaling networks of proteins and their spatiotemporal regulation during fundamental cellular processes such as differentiation, growth, and apoptosis of cells.

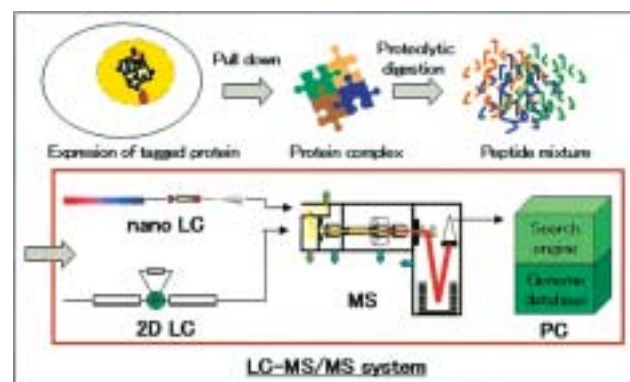


図2 標識組換えタンパク質とプロテオミクス・テクノロジーを利用した機能性複合体の解析

Fig. 2 Analysis of functional protein complexes using tagged recombinant protein and LC based proteomics technology.

客員教授 理学博士 服 部 成 介
 助 手 医学博士 後 藤 孝 也
 助 手 農学博士 小 林 道 元

VISITING PROFESSOR: Seisuke Hattori, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Takaya Gotoh, M. D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Michimoto Kobayashi, Ph. D.

免疫T細胞アナジーの分子的基盤

免疫T細胞は胸腺で自己反応性のクローンが除去されるが、なお末梢には自己抗原反応性のクローンが存在する。こうした自己反応性T細胞の反応性を抑制する機構のひとつがアナジー（無反応状態誘導）とよばれるものである。アナジーに陥った細胞ではIL-2遺伝子の発現が抑制抑制され、T細胞は増殖できない。アナジーのT細胞ではどのような出来事がおこり最終的に不活性な状態になるのかを明らかにしたい。

アプローチの方法

細胞に外的刺激が加わった際には細胞内にシグナルを中継する重要なタンパク質複合体がいくつか形成される。このような複合体の組成・性質を明らかにすることにより、どのようなシグナルが伝えられているかを調べる。このようなタンパク質複合体の解析にはプロテオミクスの手法が極めて有効である。

解析対象

細胞膜上の受容体およびそのアダプター因子を中心とした複合体、また核内の転写調節因子複合体について、その構成因子の同定と機能解析を行ない、細胞応答の仕組みを探る。

Molecular Basis for T cell Anergy:

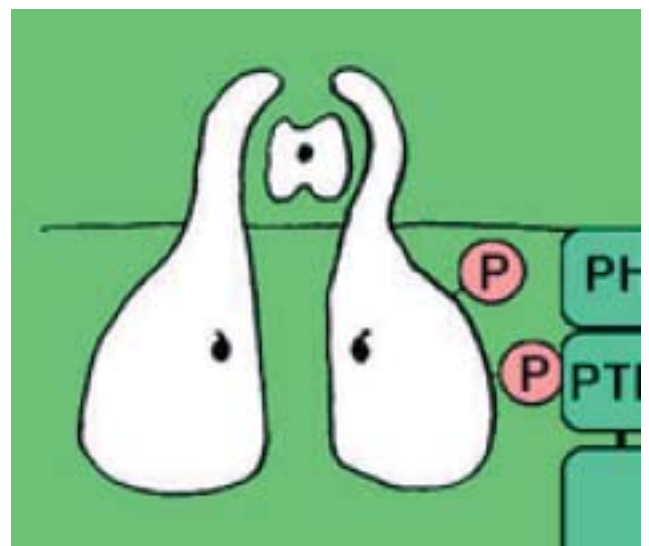
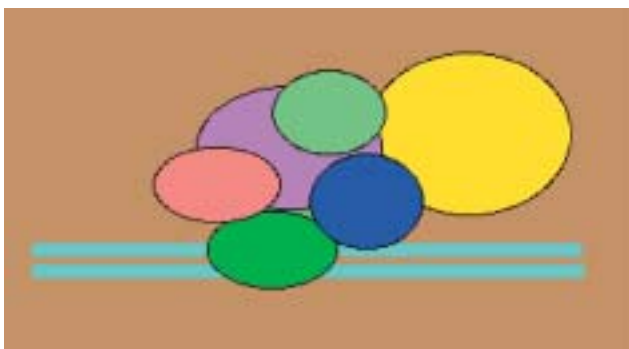
Self reacting T cells are removed by clonal selection in thymus. However, some portion of peripheral T cells are still self reacting. Anergy induction is one type of mechanisms to suppress the function of these T cells. When these T cells are induced to anergy, these cells do not produce IL-2 upon T cell stimulation, hence do not proliferate. The purpose of our study is to reveal the molecular basis for anergy induction in T cells.

Approaches:

When the cells are stimulated with exogenous stimuli, various protein complexes for signal transduction are made inside of the cells. We examine the response in T cells by identifying and characterizing components in such complexes. Proteomic analyses are suitable for such studies.

Complexes to Be Analyzed:

Protein complex containing receptors (receptosome), transcription factors (transcriptosome) will be analyzed by proteomic approaches.



ヒトゲノム解析センター

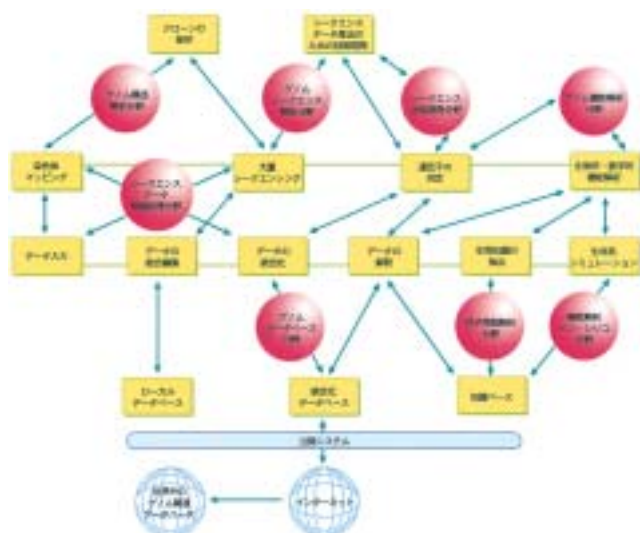
HUMAN GENOME CENTER

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年度には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 工学博士 高 木 利 久
 助教授 理学博士 中 井 謙 太

PROFESSOR: Toshihisa Takagi, Ph. D.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Kenta Nakai, Ph. D.

本研究分野は、ゲノムプロジェクトから産出される多種多様かつ大量の情報を処理するためのデータベース技術を研究開発するとともに、この技術を用いて高度で統合化されたゲノムデータベースを構築し、国内外の研究者に提供することを目的としている。あわせて、構築されたデータベースから有用な知見を獲得するための技術を開発し、生命現象の解明に貢献することを目指している。現在、主として以下の研究活動を行っている。

æ, ゲノムオントロジー・プロジェクト

究極的にはコンピュータ上で生命現象を再構築することを目指して、遺伝子産物間の相互作用ネットワークの知識や、遺伝子の機能に関する包括的な概念体系（オントロジー）を構築するゲノムオントロジー・プロジェクトに取り組んでいる（<http://www.ontology.jp>）。現在は、シグナル伝達に関する知識に重点を置いていて、分子間相互作用やシグナル伝達パスウェイのデータベースなどを開発している。さらに、専門用語辞書の整備やデータベースに収めるべき情報の文献からの自動抽出の研究にも取り組んでいる。

æ,, 問題別データベース構築とその配列解析への応用

個々の生物学的問題を深く掘り下げるためには、汎用の巨大データベースだけでは不十分なことが多く、その問題に適したデータベースを文献情報などをもとに作り上げていく必要がある。そのような観点から、転写開始点データベース（ゲノム構造解析分野との共同研究）、細菌の転写制御領域データベースなどを構築し、これらの統計的解析から得られた知見をヒントに新しい配列解析の手法を開発したり、逆にそれらの手法をテストするなどのゲノム情報科学研究を展開している。

In this laboratory, we study advanced database techniques for dealing with a variety of huge data of the genome projects seamlessly. Integrated databases constructed using these techniques are released to worldwide researchers. In addition, we also develop novel methodologies for extracting useful biological knowledge from such databases. Our current projects include:

æ, Genome Ontology Project

Aiming at the ultimate reconstruction of living organisms *in silico*, we are conducting the Genome Ontology Project (<http://www.ontology.jp>) where knowledge on the networks of protein protein interactions and the relationships between comprehensive biological concepts are organized into databases. Currently, we are most interested in the domain of biological signal transduction, constructing databases of molecular interactions and signal transduction pathways. In addition, we are compiling a dictionary of this field and are developing computer techniques of automatic information extraction from literature database.

æ,, Construction of problem specific databases and their application to sequence analyses

For detailed studies of individual biological processes, all purpose large databases are not always sufficient; problem specific databases reflecting experts' knowledge are quite useful. Thus, we have constructed such databases including DBTSS (database of transcriptional start sites), which is a collaborative work with the Laboratory of Genome Structure. They are used to obtain novel insights for developing new methodologies of sequence analyses.

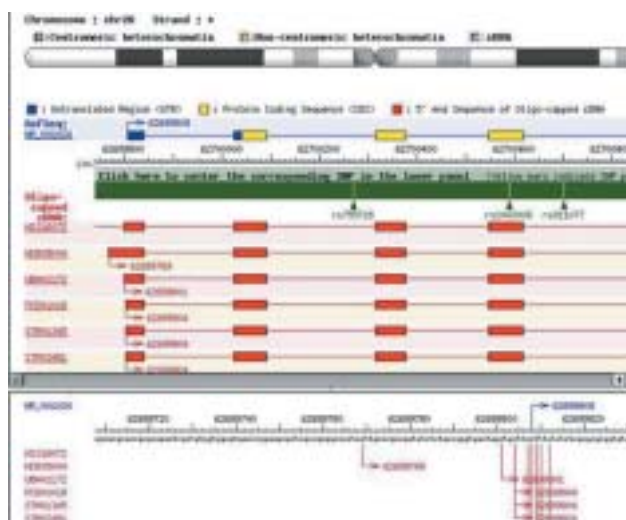


図 1
 DBTSS 転写開始点データベース（ゲノム構造解析分野との共同研究；
<http://www.hgc.ims.u-tokyo.ac.jp/dbtss/>）

Fig. 1
 DBTSS: Database of Transcriptional Start Sites (Collaborative work with
 Lab. Genome Structure)

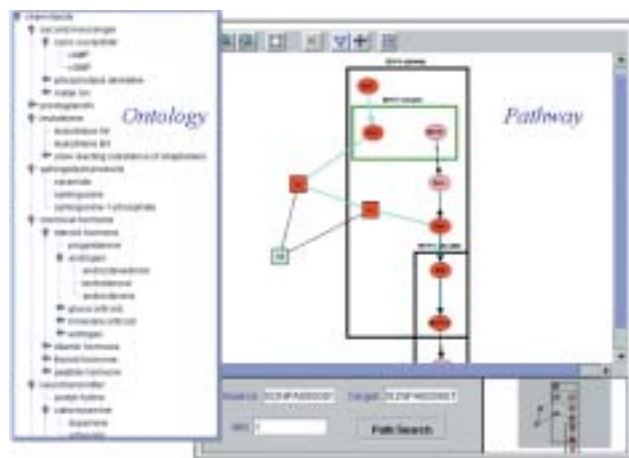


図 2
 SPARK シグナル伝達パスウェイに関するオントロジーとデータベース
 (<http://www.ontology.jp/SPARK/>)

Fig. 2
 SPARK, a database and ontology of signal transduction pathways.

助教 医学博士 菅 野 純 夫
助 手 理学博士 鈴 木 穰

ASSOCIATE PROFESSOR: Sumio Sugano, M. D., D. M. SC.
RESEARCH ASSOCIATE Yutaka Suzuki, Ph. D

本分野では、ヒトゲノム上の遺伝子の構造を確定するために、完全長cDNAライブラリーの作製と、完全長cDNAクローンのカタログ化を行い、ヒトゲノム機能解析の基盤作りを進めている。また、カタログ化によって得られた情報を元に、様々なデータベースの作製を行うと同時に、癌における遺伝子発現解析、タンパク質機能解明の方法開発を行っている。

æ. 完全長cDNAカタログ化プロジェクト：

完全長cDNAとはmRNAの5'端のキャップ構造から3'端のpolyAまでの全塩基配列を持つcDNAのことである。完全長cDNAは遺伝子の機能解析をしていく上で不可欠といってよいものである。しかし、従来の方法で作製したcDNAライブラリーは完全長cDNAの含量が10%程度であった。われわれは、完全長cDNAの含量の高いcDNAライブラリーを作製するため、オリゴキャップ法を開発した。この結果、完全長cDNAの含量が50-80%という、従来にないcDNAライブラリーの作製に成功した。現在、この方法で作製したライブラリーを用い、ヒトの全遺伝子の70%カタログ化を目標に、cDNAクローンの解析を行っている。

æ. 完全長cDNAを基盤にしたデータベース構築:

上記の、完全長cDNAカタログ化プロジェクトを推進する過程で、多量のcDNA配列データが得られる。特に、われわれの完全長cDNAクローンからは、従来情報が充分得られていなかったmRNAの5端のデータが得られる。これらと、ヒトゲノムプロジェクトで得られた他のデータを組み合わせることで、様々なデータベースを構築できる。現在構築中のものは、1) 完全長cDNA配列セット 2) 転写開始点データベース 3) プロモーター・データベース等である。

æ” 発癌・転移における網羅的遺伝子発現の解析：

尾静脈転移系を用い、転移肺に特徴的に発現する遺伝子をディファレンシャル・ディスプレイ、Real time PCR、オリゴマイクロアレイ等で検討している。特に、腫瘍細胞に接する肺細胞で、遺伝子発現変化が見られるか、マイクロダイセクションなどを用い、検討する。

æ» cDNAを基盤としたゲノム機能解析法の開発:

得られたcDNAから、タンパク質を大量に発現し、高度に精製するシステム、多数のcDNAクローンを、細胞にトランスフェクションし、その機能を解析するシステム、細胞より、タンパク質複合体を分離し、その複合体に含まれるタンパク質を、短時間で同定するシステム等、今後のゲノム機能解析に向けての方法論の開発を行っている。

The main focus of our laboratory is the cataloging the full length cDNA clones of human message and determining the precise structure of the genes. The collection of the full length cDNAs are important not only for identification of gene structures but also for the functional analysis of the coded proteins. Below are major projects that are going on in our laboratory.

æ, Full length cDNA Cataloging:

Our goal is to isolate all the human genes in the form of full length cDNA. A full length cDNA is a faithful copy of mRNA and gives us an indispensable information for identifying coding region, position of promoter, various signals for mRNA stability and translation control. In order to get full length cDNA efficiently, we developed "Oligo capping" method. Based on this method, we could make cDNA libraries whose content of full length cDNA clone is between 50 to 80%. Using the libraries made by this method, we are isolating full length cDNA clones.

æ,, Database construction:

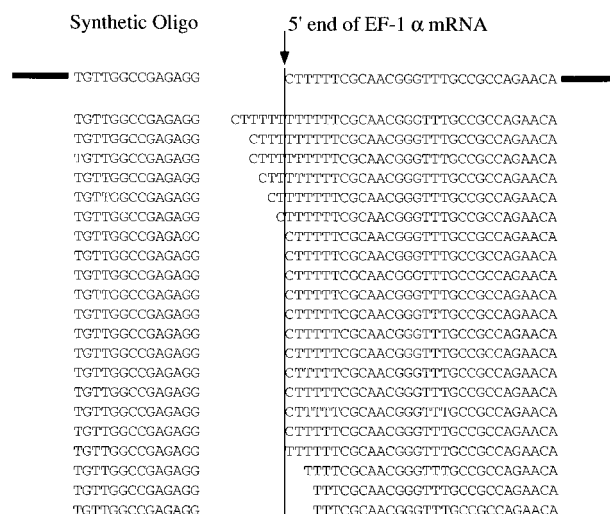
Using the data obtained during above project, we are constructing the full length representative cDNA database, mRNA startsite database and promoter database.

æ" Gene expression analysis in cancer and metastasis

Using real time PCR or oligo microarray, we are trying to identify the gene that specifically expressed at metastatic sites.

æ» Method development for functional genomics:

High through put protein analysis based on the cDNA clones are in the process of development.



オリゴキャプ法により明らかになったEF1 α mRNA5'端の多様性

Heterogeneous 5' end of EF1 α mRNA elucidated by "Oligo Capping" method

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

PROFESSOR: Satoru Miyano, Ph. D.
RESEARCH ASSOCIATE: Seiya Imoto, Ph. D.
RESEARCH ASSOCIATE: Hideo Bannai, M. Sc.

この分野は、マイクロアレイによる遺伝子発現情報、核酸配列、タンパク質のアミノ酸配列などの生物情報を対象として、知識の発見、情報の解釈、知識ベース化等のための知識情報処理システムを研究・開発し、それらを提供すると共に、関連する研究を行なっている。次の3つの研究は、互いに連携して、コンピュータによるパスウェイ解析と遺伝子ネットワーク情報の解析に応用されている。

æ, 遺伝子発現プロファイルデータ解析の研究: 遺伝子発現プロファイル情報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、ベイジアン・ネットワークとノンパラメトリック回帰による遺伝子ネットワーク推定法の開発、遺伝子ネットワークの知識ベース化と遺伝子ネットワークの視覚化、クラスター解析の研究を行っている(図1)。

æ,, 知識発見支援システムの研究・開発: 完全ゲノム配列データ, SNPデータ, 遺伝子発現データ, タンパク質のアミノ酸配列及び構造データ等からの知識発見を支援するためのシステムHypothesis Creatorを研究・開発している。この概念に基づいて、同時に、タンパク質の局在予測や異常スプライシングのためのコンピュータによる知識発見を行っている。

æ” バイオパスウェイのモデル化とシミュレーションの研究: システムバイオロジーの研究の一つとして、バイオパスウェイのモデル化とシミュレーションを通して細胞等のシミュレーションシステムを構築するための研究を行っている。生物をシステムとして捉え、遺伝子の制御情報、細胞、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機構化することにより、システムとしての遺伝子の機能などを予測することを可能にする。こうした研究は、バイオパスウェイのシミュレーションシステム Genomic Object Net (<http://www.GenomicObject.Net/>) に実現されている(図2)。

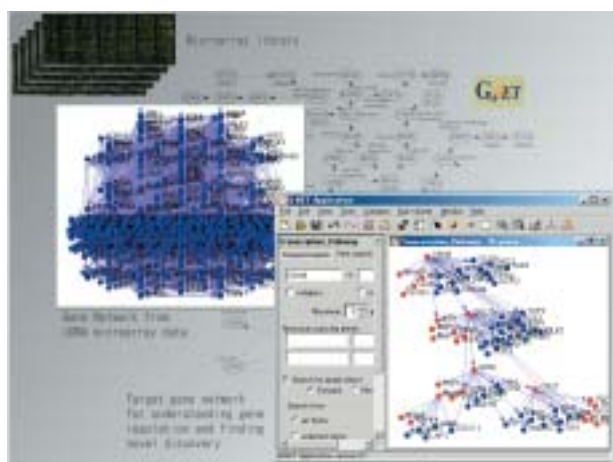


図1
ベイジアンネットワークとノンパラメトリック回帰による遺伝子発現プロファイルデータからのネットワーク推定とその可視化解析システムのスナップショット。

Fig. 1
Inference of gene network based on Bayesian network and nonparametric regression from gene expression profile data and a snapshot of its visualized network analysis system.

The aim of the research at this laboratory is to investigate and develop knowledge information processing systems for knowledge discovery, information interpretation and knowledge bases that deal with biological information about gene expression data, nucleic acid sequences and proteins. The following three topics are mutually allied to pathway and gene networks analyses on computer.

æ, Gene expression profile analysis: For inferring the genetic network from gene expression profile data, various algorithms for analyzing the network are being developed. In particular, we have realized a novel gene network inference method based on Bayesian network and nonparametric regression, a visualized gene network analysis system together with the knowledge base of the genetic network of organisms, and a clustering software library (Fig. 1).

æ,, Knowledge discovery system: We have been developing a system Hypothesis Creator (HC) for assisting knowledge discovery from complete genomes, SNP data, gene expression profile data, protein data. With this concept, simultaneously, we have been conducting various computational knowledge discoveries for protein localization prediction extraction and aberrant splicing.

æ” Modeling and simulation of biopathways: As one of the topics in Systems Biology, we have been creating a computational environment for modeling and simulation of biopathways in cells and organisms focused on gene regulatory networks, signaling pathways, metabolic pathways, and physical simulations, etc. With this approach, the functions of genes and systems of genes will be analyzed and predicted. This research is realized as a software Genomic Object Net (<http://www.GenomicObject.Net/>) (Fig. 2).

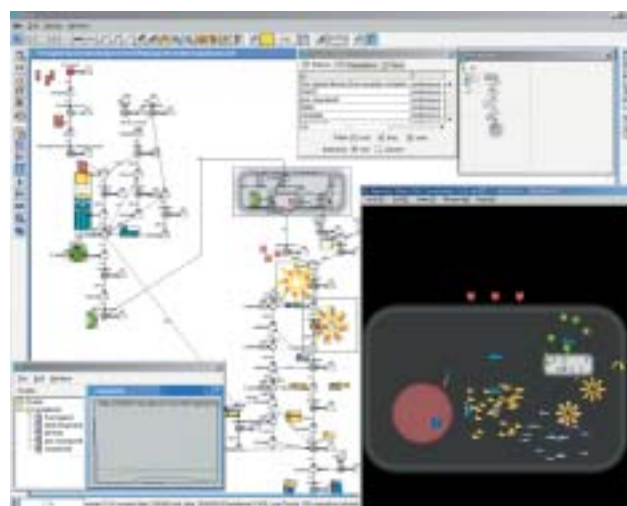


図2
Genomic Object Netを用いて遺伝子制御、代謝系、シグナル伝達などのネットワークのモデル化をスムーズに行うことができ、XMLを使ったパーソナライズな可視化環境でシミュレーションできる。図はFas ligandに誘導されるアポトーシスのモデル化とシミュレーション。

Fig. 2
Genomic Object Net realizes smooth modeling of gene regulatory networks, metabolic pathways, signaling pathways, etc. XML technology is employed to create a personally visualized simulation environment. The picture shows simulation of Fas ligand induced apoptosis signaling pathway.

教授 医学博士 中村 祐輔
 助教授 医学博士 古川 洋一
 助手 医学博士 醍醐 弥太郎

PROFESSOR: Yusuke Nakamura, M. D., Ph. D.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Yoichi Furukawa, M. D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Yataro Daigo, M. D., Ph. D.

ヒトゲノム解析研究は、医学・生物学研究にとって欠くべからざる基盤的研究プロジェクトであり、その成果は、疾病の診断、予防、治療法の開発などに広く応用され、人類に貢献するものである。われわれの目的は、世界的な協力体制のもとに進められているゲノム解析研究に貢献すると共に、それらの情報を応用して、世界的なレベルでの医学的な研究成果をあげることを目指している。特に、がんを中心とする疾患遺伝子の特定をおこない、疾患の画期的診断法・治療法の開発につながる基盤的研究を行うものである。

- æ, がん抑制遺伝子, p53, APC, PTENなどを中心とする遺伝子情報ネットワークの研究
- æ,, がんの個性診断とオーダーメイド医療の確立
- æ" DNAマイクロアレイ解析を用いた遺伝子発現情報データベースの構築
- æ» 疾患関連遺伝子(難聴・自己免疫疾患・アレルギー)などの単離
- æ... がん抑制遺伝子を利用した遺伝子治療の基盤的研究

This laboratory was established in 1996 for "Human Genome Analysis". The Human Genome Project is a research aimed to produce the most important information for life science and will have an enormous impact on the medical research. The current study in our laboratory is focused on isolation of disease related genes through genomic analysis. The major subjects are as follows.

- æ, Isolation and functional analysis of genes regulated by tumor suppressor genes, such as p53, APC and PTEN
- æ,, Establishment of "Personalized Medicine" through genetic characterization of cancer cells
- æ" Expression profile analysis by cDNA microarray
- æ» Isolation of genes associated with disease susceptibility
- æ... Cancer gene therapy using animal models

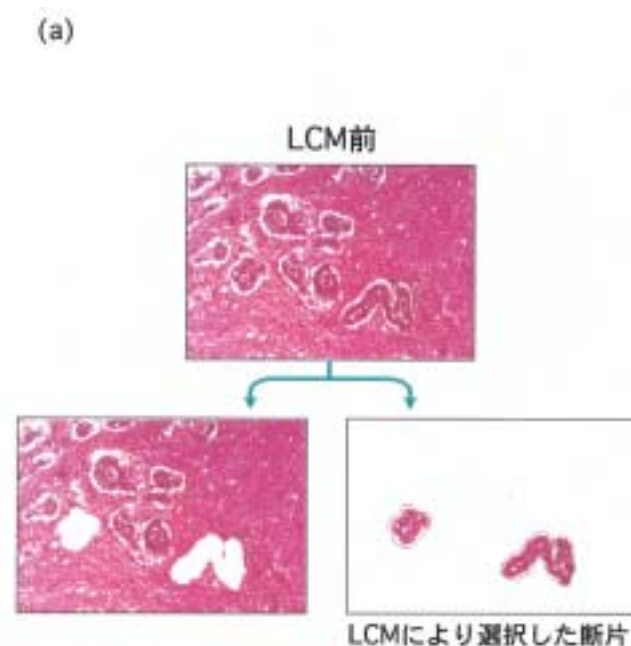


図 レーザーマイクロディセクション(a)とcDNAマイクロアレイを用いた腫瘍における遺伝子発現プロファイル解析(b)

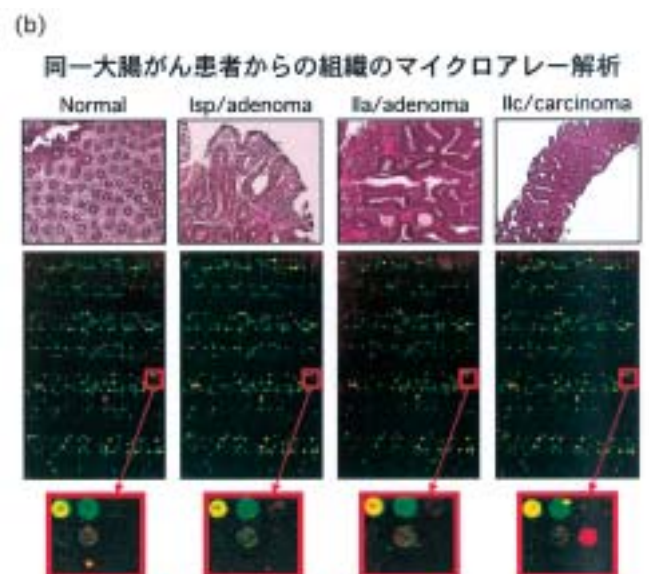


Fig Expression profile analysis (b) of tumor by a combination of LCM (Laser captured microdissection) (a) and cDNA microarray.

教授 医学博士 中村 祐輔
 助教授 医学博士 荒川 博文
 助手 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: Hirofumi Arakawa, M.D., Ph.D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Toyomasa Katagiri, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Ryuji Hamamoto, Ph. D.

ヒトゲノム解析研究は医学・生物学的研究に欠くべからざる基盤的プロジェクトであるが、本分野においては、医学的な観点からゲノム基盤情報の提供ならびにそれを応用した疾患遺伝子研究を行う。特に、SNP (Single Nucleotide Polymorphism) に代表されるDNA多型は、単に有用な多型マーカーであるのみならず、その一部は遺伝子産物の質や量に影響をおよぼすことから、疾患の易罹患性や薬剤に対する応答性（有効性や副作用）に関わることは明白である。このようなDNA多型を用いた医学的研究を行うものであり、その内容を以下に列記する。

- æ, SNPの発見とデータベースの作成
- æ,, SNPを利用した疾患遺伝子研究
- æ" 遺伝子多型の遺伝子産物の質や量に与える影響の研究
- æ» 高速大量SNPタイピング法の開発

Human genome project provides important and useful information for molecular biology as well as medical science. This laboratory was established in 1996 to develop various technologies for human genome analysis. The current study in this laboratory is focused on genetic polymorphisms including SNP (single nucleotide polymorphism) and VNTR (variable number of tandem repeat), some of which are medically and biologically important because they influence quality and quantity of gene products. Using the polymorphic information, we search genes susceptible to disease or ones related to effectiveness and side effect of drugs. The major subjects are as follows.

- æ, Discovery of SNPs and construction of SNP database
- æ,, Searching genes susceptible to diseases or ones related to drug response
- æ" Effect of genetic polymorphisms on function of gene products
- æ» Development of rapid and large scale SNP genotyping

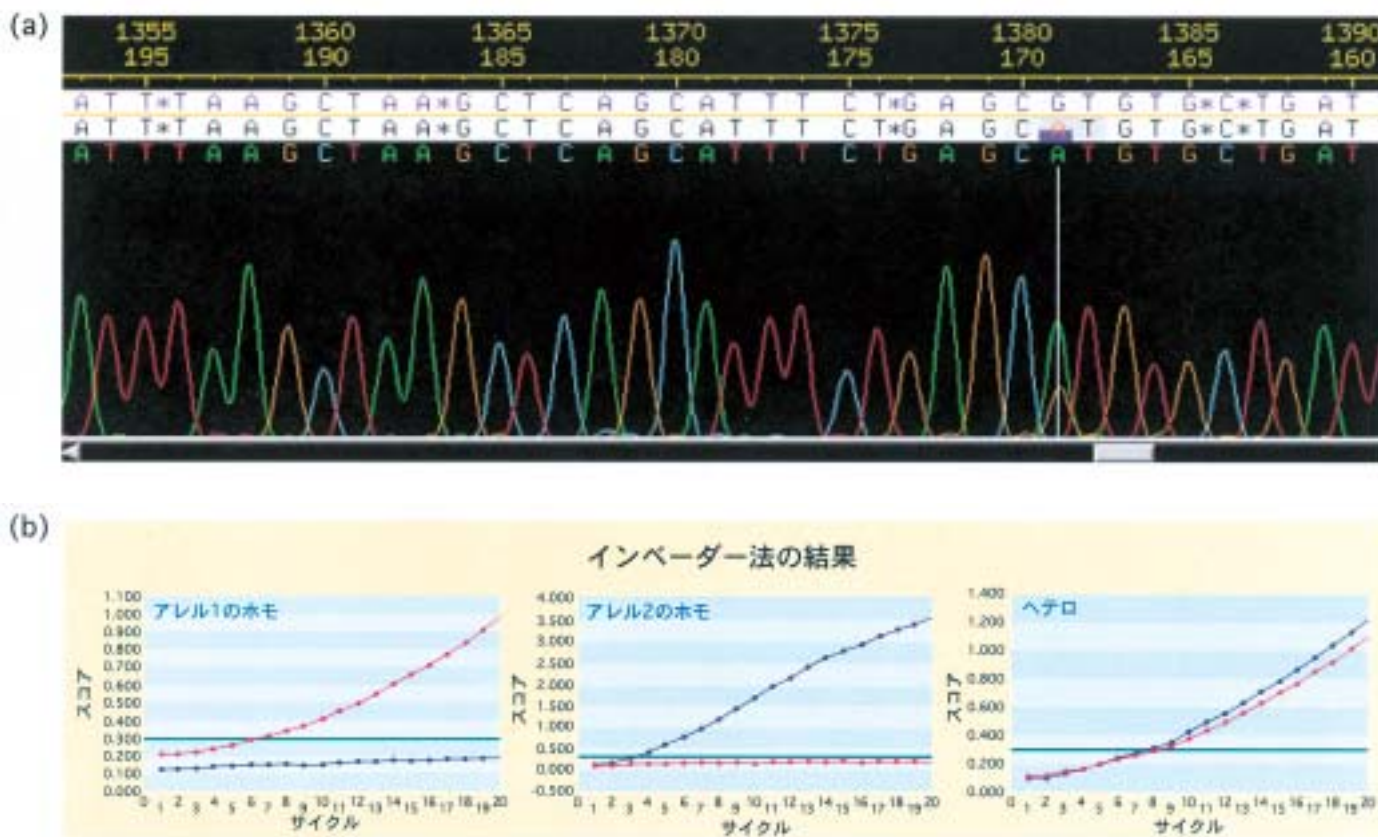


図 SNPの発見とSNPタイピング。(a) はコンピュータプログラムによるSNP発見, (b) はインベダー法によるSNPのタイピング結果を示している。

Fig Discovery of SNP (a) and SNP typing using the Invader assay.

助教授 矢 田 哲 士
 助 手 市 瀬 夏 洋
 研究員 村 上 大 勇

Associate Professor: Tetsushi Yada
 Research Associate: Natsuhiro Ichinose
 Researcher: Hiroo Murakami

本研究室の主な研究課題は、データ・マイニング技術、決定論的力学理論および統計的解析手法を用いて、ゲノム配列あるいは機能発現データ等に潜むコーディング原理を抽出する方法を開発することにある。

æ, ヒトゲノム再構成プロジェクト

ヒトゲノムの90%以上にのぼるドラフト配列が公開されている。しかしながら、これらの配列は未だ断片化されたものであるため、HGREP (Human Genome REconstruction Project) と呼ばれるプロジェクトにおいて、ドラフト配列を染色体毎に整列およびアセンブルし、遺伝子およびリピート配列等のアノテーションを作成している。

æ, 遺伝子同定システムの開発

遺伝子を発見を目的に、現在提案されている複数の遺伝子発見プログラムを統合するDIGIT (Digit Integrates Gene Identification Tools) と呼ばれる遺伝子発見プログラムを開発した。DIGITは遺伝子発見プログラムが予測した多くの偽陽性エクソンを効果的に排除するため、単一のプログラムに比べ sensitivity および specificity 両面での精度改善が可能となっている。

æ, DNA配列の統計的特徴抽出

DNA配列の統計的特徴を抽出するためにクアドツリー表現法について研究している。この方法では、オリゴヌクレオチドの頻度が、その配列的な距離空間を保存するように階層的に配置・表示される。この方法を拡張し、N次のマルコフモデルとの比較によって高次の統計情報を表現する方法を開発した。

æ, モデル遺伝子ネットワークの設計

遺伝子ネットワークの生物学的挙動を理解するために、モデル遺伝子ネットワークの設計法について研究を行なっている。定性的な発現データから定量的相互作用を有するネットワークを設計することが必要であるため、微分方程式によって表現される遺伝子ネットワークを発現のバイナリスイッチングデータを用いて構成する方法を開発した。

The main subject of our laboratory is to develop the techniques to extract coding principles from genome sequences or functional expression data by using the data mining techniques, the theory of deterministic dynamics and the statistical analysis.

æ, Human genome reconstruction project

The working draft sequences covering more 90% of the human genome sequence were released. Because these sequences are fragmentary yet, we launched a new project named HGREP (Human Genome REconstruction Project), in which we sort the draft sequences by chromosome and assemble them, and we make annotations such as genes and repeats on the sequences.

æ, Development of gene identification systems

We have developed a novel gene finding program named DIGIT (Digit Integrates Gene Identification Tools) which finds genes by combining plural existing gene finders. We have shown that DIGIT successfully discarded many false positive exons predicted by gene finders and yielded remarkable improvements in sensitivity and specificity compared with those by any single gene finders.

æ, Extraction of statistical characteristics in DNA sequences

We study a method of quadtree representation in order to extract statistical characteristics in large DNA sequences. In the method the oligonucleotide frequencies are arranged in a regular square hierarchically such that their positions are topologically preserved for the distance space. We have developed a representation system in which we can compare the characteristics between the raw quadtree representation and the Nth order Markov model.

æ, Design of model gene networks

In order to understand biological dynamics of gene networks, we develop a method to design model gene networks. Because it is required that we design the network with quantitative interactions from qualitative expression data, we have developed the method constructing the networks represented by differential equations from binary switching data of expressions.



図 1 DIGITウェブサーバ

Fig. 1 DIGIT web server

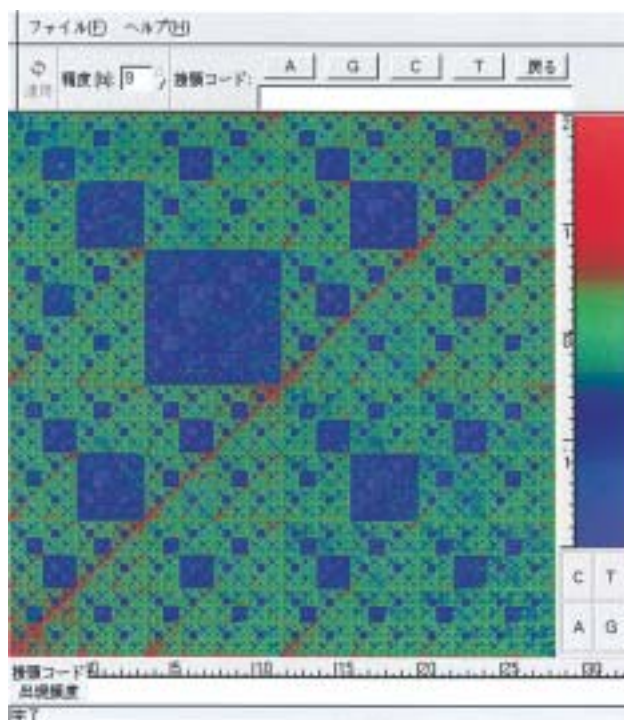


図 2 DNA配列のクアドツリービューア

Fig. 2 Quadtree viewer for DNA sequence

教授 理学博士 榊 佳之
 助教授 農学博士 程 肇
 助手 理学博士 萩原(竹内)百合子

PROFESSOR: Yoshiyuki Sakaki, Ph. D.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Hajime Tei, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Yuriko Hagiwara Takeuti, Ph. D.

近年ヒト及び各種生物のゲノム塩基配列が次々に決定され、生命現象をゲノムレベルで解明する道がひらかれた。我々はこのようなゲノム研究の進展を踏まえ、様々な生命現象をゲノムレベルで解明することをめざしている。実際の研究対象としては、ヒト21番染色体にマップされるダウン症、非メンデル型遺伝の発現様式を示すゲノミックインプリンティング現象、さらには、概日リズムを支配する生体時計に着目している。そして、これらの事象に関連する遺伝子群の同定、及びその分子機能の解明を目標にしている。具体的な研究テーマを以下に挙げる。

- æ, ヒト21番染色体上に存在するダウン症関連遺伝子群の探索とそれら遺伝子の機能解析
- æ,, Allelic message display法によるマウス及びヒトインプリント遺伝子群の探索及びその機能解析
- æ” 哺乳類の概日リズム関連遺伝子群の探索と概日リズム発振機構の解析

Recent progress of whole genome sequencing of various organisms including human enables us to investigate complex biological phenomena at genome wide levels. Among a variety of phenomena, we are currently focusing on screening and functional analyses of genes related in Down syndrome, genomic imprinting, and circadian rhythms. The following research projects are in progress.

- æ, Comprehensive analysis of functions of genes on human chromosome 21 towards the understanding of the molecular pathogenesis of Down syndrome.
- æ,, Systematic screening and functional analysis of mouse and human genomic imprinted genes.
- æ” Molecular mechanisms of circadian rhythms oscillation in mammals.



図1
ヒト21番染色体遺伝子地図

Fig. 1
Gene map of human chromosome 21 (Down syndrome region).

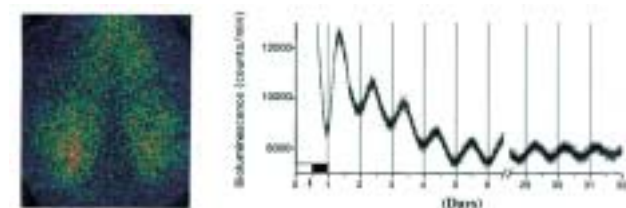


図3
*Per1::luc*遺伝子導入動物の視交叉上核を用いた*Per1*遺伝子発現日周振動のモニタリング

Fig. 3
Circadian expression of *Per1* in suprachiasmatic nucleus of *Per1::luc* transgenic animals.



図2
Allelic Message Display法によるマウス*Impact*遺伝子の同定

Fig. 2
Isolation of mouse *Impact* gene by Allelic message display method.

教授 金 久 實

PROFESSOR: Minoru Kanehisa

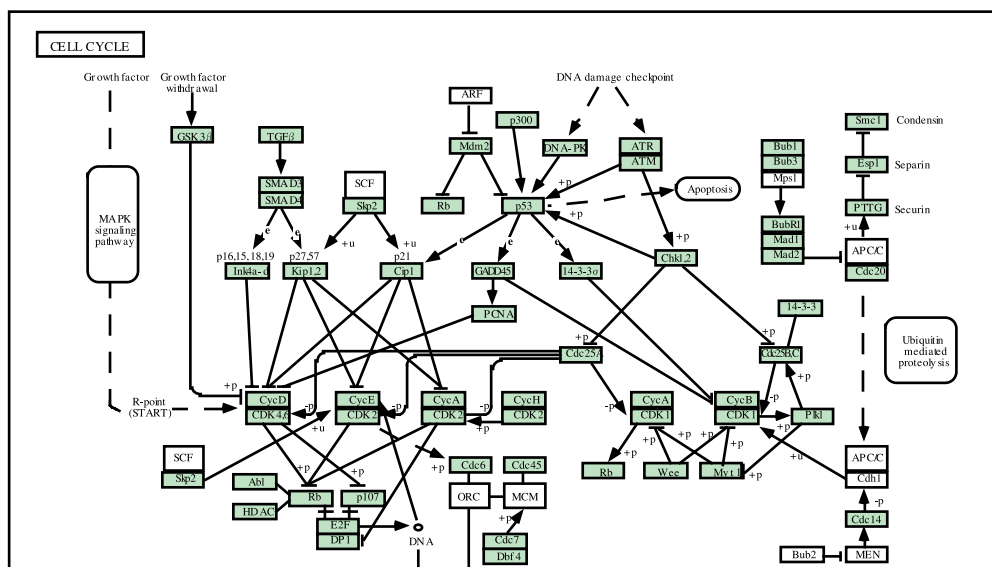
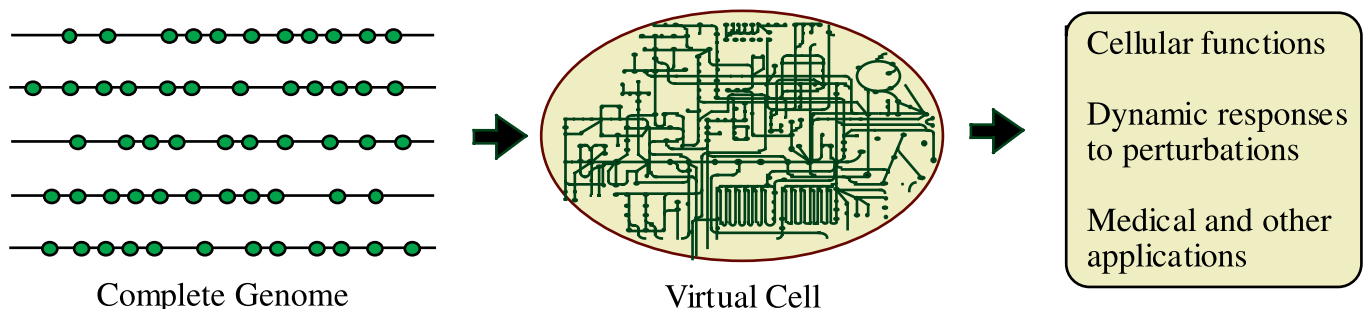
急激な勢いで増加している各生物種のゲノム配列データ、遺伝子発現データ、プロテオームデータ等は、バイオインフォマティクス研究の新しい展開をもたらしている。バイオインフォマティクスは、ゲノムから細胞レベルおよび個体レベルでの生命システムの機能と有用性を明らかにするための基本概念と実用的な方法論を提供し、実験と相補的なアプローチとして医学や生物学の様々な分野に適用されつつある。

本研究室では「ゲノム情報に基づく細胞機能の再構築」を主要な研究テーマとし、ゲノムシーケンシングが明らかにする全遺伝子のデータ（生命システムの部品のカタログの情報）と、マイクロアレイやプロテオーム等の実験による遺伝子間または分子間の相互作用データ（部品間のつながりの情報）を、統合的に解析する情報技術の開発研究を行っている。また、とくにヒトの細胞機能については、ゲノムやプロテオームの情報と、代謝、遺伝情報処理、環境情報処理、その他様々な細胞プロセス、および病気に関する知識を、コンピュータの中に蓄積したバーチャル細胞を用いて、検索や解析ができるシステムの構築も行う予定である。

With ever increasing amounts of genomic and proteomic data generated by high throughput sequencing, DNA chip, and other experimental technologies, bioinformatics has become an integral part of research and development in the biomedical sciences. It is expected that bioinformatics will provide both conceptual bases and practical methods for analyzing a large number of genes or proteins at a time toward understanding higher order functions and utilities of the cell or the organism, including human health and diseases.

This laboratory implements the concept of "functional reconstruction", which is a process of obtaining an overall picture of metabolic and other capabilities of a cell from the entire set of genes encoded in the genome. We are developing computational methods for integrated analysis of genomic and proteomic data to predict molecular interaction networks in the cell. We are also developing a new database, which may be called a virtual cell, for storing our knowledge on metabolism, genetic information processing, environmental information processing, and various cellular processes, as well as aspects of human diseases.

Functional Reconstruction of a Virtual Cell



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、現代の医科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。

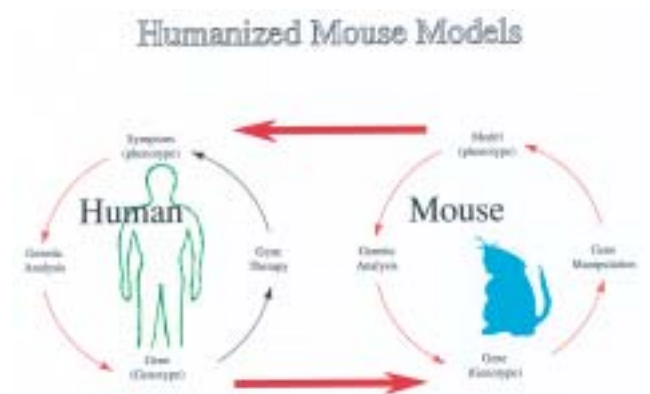
ヒト疾患モデル研究センターでは、個体を対象とする医学研究の実証的研究の最も重要な動物実験システムの創造を、実験動物の開発を通して行い、また幹細胞治療などの先端医療研究も優れた実験動物の系を用いて行うものである。

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 獣医学博士 須 藤 カツ子
 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.
 ASSISTANT PROFESSOR: Hisataka Yasuda, Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Katsuko Sudo, 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” 個体における遺伝子機能の解析

インターフェロンやIL 1などのサイトカインや、タンパク質リン酸化・脱リン酸化酵素など、疾病との関係が疑われる遺伝子のノックアウトマウスを作製し、病態形成における役割や生理機能を明らかにする。

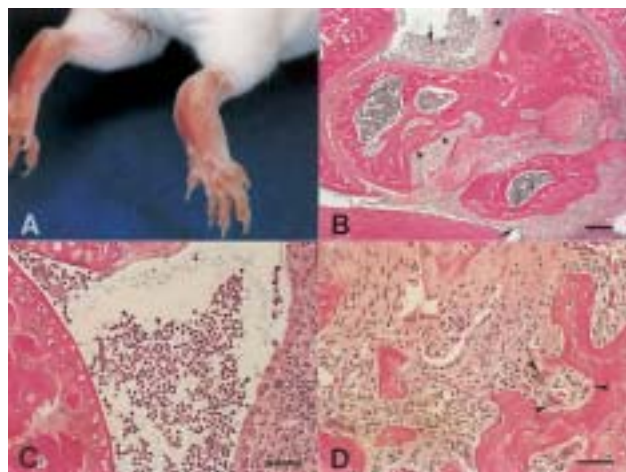


図 1 (左側) —
 IL-1レセプターアンタゴニストノックアウトマウス(A)と関節の病理像(B, C, D)
 高い頻度で関節炎を発症し、自己免疫疾患モデルとして有用である。

図 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) —
 HTLV-I-taxによる関節炎の発症機構

図 2 —
 Pathogenesis of inflammatory arthropathy in HTLV-I-tax-transgenic mouse

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

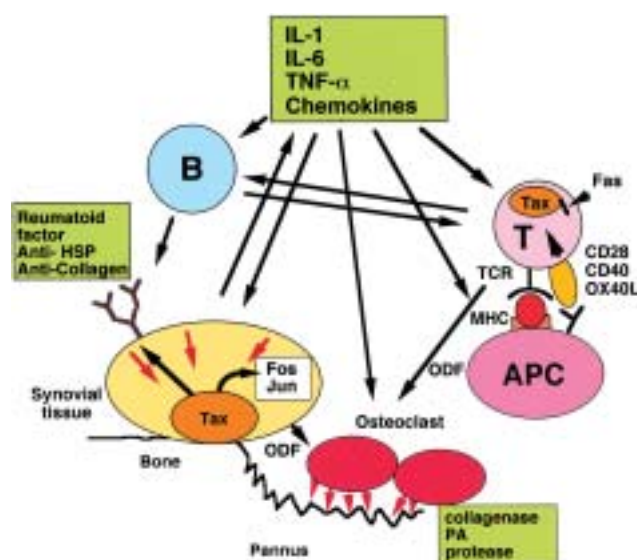
By producing transgenic mice carrying the HTLV I genome, we have first shown that this virus can cause chronic arthritis in animals. Recently, we have also found that IL 1 receptor antagonist-deficient mice develop arthritis resembling rheumatoid arthritis in humans. We are now elucidating mechanisms 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” Analysis of gene functions using gene targeting techniques

Many genes including cytokines and their signal transducers, such as IL 1, IFN, protein kinases and phosphatases, are implicated in the development of diseases. By producing gene knockout mice of these genes, we are analyzing the role of these genes in diseases and in normal physiology.



教授 医学博士 吉田進昭
 助教授 医学博士 金井芳之
 助手 獣医学博士 市瀬広武
 助手 医学博士 佐藤充治

PROFESSOR: Nobuaki Yoshida, M. D., D. M. Sc.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Yoshiyuki Kanai, M. D., D. M. Sc.
 RESEARCH ASSOCIATE: Hirotake Ichise, D. V. M., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Mitsuharu Sato, Ph. D.

当研究分野のキーワードはジーンターゲットイング、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ットイングを用いて、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。現在、RNAをターゲットにした網羅的アプローチで新規分子の同定を試みているほか、未分化ES細胞で発現しているRex 1遺伝子の発現調節機構を、プロモーターに結合する未知のRox分子の同定により解明しようとしている。

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。

æ» 自己免疫疾患発症機構の解明

疾患モデルマウス作成と平行してヒト疾患由来材料を用いた病態解析の研究を継続する。金井らが同定した転写因子様分子nucleobindin (Nuc) は自己免疫増強作用のほかにG蛋白質やprostaglandin (PG) と結合することが明らかにされている。Nucノックアウトマウスとループスマウス (MRL/lpr) との交配・戻交配を繰り返したところ、抗細胞質抗体 (ANCA) 陽性の半月体形成性腎炎と結節性多発動脈炎 (PN) が高頻度に発症し、それが最近注目されているANCA関連血管炎モデルに匹敵することがわかった。PNもSLEと同様に難治性自己免疫疾患の一つでアポトーシスの観点からも研究を行っていく。



図1 支持細胞上の未分化ES細胞

Fig. 1 Undifferentiated ES cells on feeder cells



図2 ES細胞のblastocystへのマイクロインジェクション

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

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 regulating self renewal of pluripotent ES cells, we have tried to identify a factor(s) cooperating with Oct 3/4, the critical transcription factor for maintaining undifferentiated state of ES cells. Our current focus is to identify an undefined molecule which binds to the promoter region of Rex 1, a 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.

æ» The etiopathogenesis of systemic autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE), and collagen diseases such as periarteritis nodosa (PN) like vasculitis is studied using animal models. Particularly, nucleobindin (Nuc), which we have found in autoimmune MRL/lpr mice as an autoimmunity augmenting factor, is the major interest in terms of the outbreak of systemic autoimmunity.

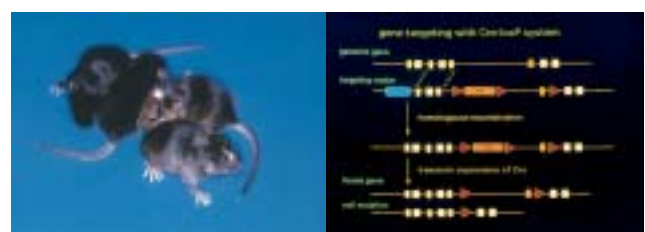


図3 キメラマウス (右2匹) と対照マウス (左2匹)

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

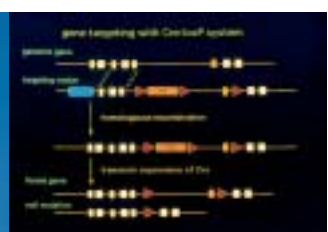


図4 Cre-loxPシステムを用いたジーンターゲットイング

Fig. 4 Gene targeting with Cre-loxP system

教授 医学博士 中 内 啓 光
 講師 医学博士 岩 間 厚 志
 助手 理学博士 依 馬 秀 夫
 助手 未 定

PROFESSOR: Hiromitsu Nakauchi, M.D., Ph. D.
 LECTURER: Atsushi Iwama, M.D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Hideo Ema, M.D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: 未定

本分野は、免疫学、分子生物学、細胞生物学、ウイルス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, 幹細胞を標的とした遺伝子治療

自己複製能および多分化能を有する幹細胞は、遺伝子治療の理想的な標的細胞でもあることから、遺伝子導入用ベクターの構築、幹細胞の分離・培養法の確立、さらには動物モデルを用いたin vivoにおける導入遺伝子の発現の解析などを行い、幹細胞への効率の良い遺伝子導入法の確立と、遺伝子治療・細胞療法への応用を目指している。

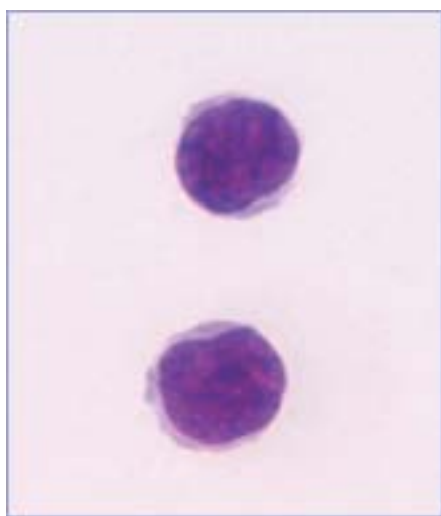


図1
マウス骨髄から分離した造血幹細胞のメイギムザ染色写真。

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

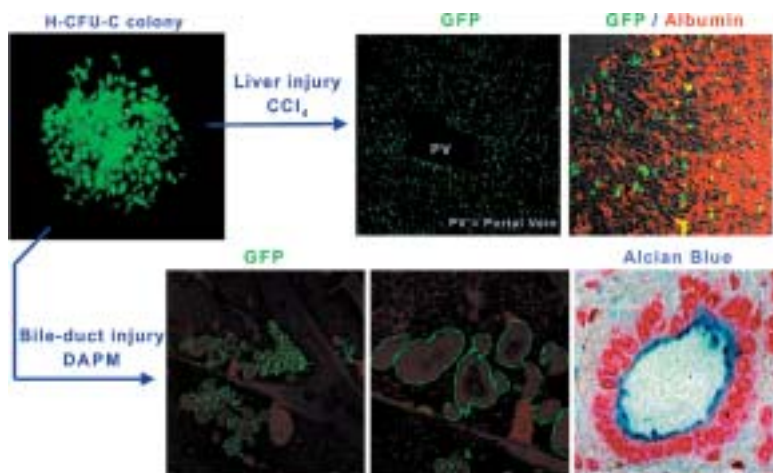


図2
レトロウイルスによってGFPマーキングされた肝幹細胞によるin vivoにおける幹細胞ならびに胆管上皮細胞の再生

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

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

基幹部門，ヒトゲノム研究センター，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，細胞プロセス（旭化成およびニッショー），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。主な研究内容はゲノム医学と再生医学の新知見の実用化に向けた技術開発研究であるが，同時に探索的臨床研究（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。推進すべき診療技術や対象疾患は時代とともに変遷しているが，現時点では主に免疫造血疾患，エイズ，固形癌を対象とする新しい細胞・遺伝子治療とゲノム医療の開発研究を遂行している。

The Advanced Clinical Research Center achieves the purpose oriented research that bridges basic science to clinical medicine by the collaboration with IMSUT Basic Research Activities, Human Genome Center, and Animal Center for Experimental Human Disease. The Center consists of five Divisions of Molecular Therapy, Cellular Therapy, Infectious Diseases, Bio-engineering, and Immunological Pathology, and three Donated Laboratories of Divisions of Cell Processing (ASAHI CHEMICAL NISSHO Co.), Hematopoietic Factors (CHUGAI), and Genetic Diagnosis (OTSUKA). Our research projects are to innovate clinical technology utilizing basic information newly obtained from basic research of Genomics and Regenerative Science. Simultaneously, the Center proposes definite plans of translational research and actively gets involved in achieving the clinical studies performed in the Research Hospital. Our diagnostic and therapeutic technologies which we should promote will be changed from time to time. Currently, our Center has been involved in the developmental researches of new cell and gene therapies targetting immuno-hematological disorders, AIDS and solid tumors.

教授	医学博士	浅野茂隆
助教授	医学博士	東條有伸
講師	医学博士	高橋聡
助手		大井淳

PROFESSOR: Shigetaka Asano, M. D., D. M. Sc.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Arinobu Tojo, M. D., Ph. D.
 LECTURER: Satoshi Takahashi, M. D., Ph. D.
 RESEARCH ASSOCIATE: Ooi Jun, M. D.

当研究部の主題は難治性血液疾患に対する新たな治療法、特に遺伝子・タンパク質・細胞を利用した治療法の開発に向けられている。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見地から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, 白血病関連遺伝子の解析

当科では特異的な染色体転座を有する複数のヒト白血病細胞株 (IMSシリーズ) を樹立している。他の研究施設との共同研究により、これらの染色体転座によって生じた融合遺伝子 (*MLL-LTG9*, *TLS/FUS-ERG*, *ETV6-NTR3*) をそれぞれクローニングした。これらの融合遺伝子は白血病発症への関与が疑われるため、遺伝子産物の機能やそのシグナル伝達を解析している。

æ,, 前臨床試験への応用を目的とするコモンマウス造血機構の解析

小型霊長類コモンマウス (CM) のCD34抗原に対するモノクローナル抗体を作製し、これを用いてCMの骨髄からCD34陽性細胞を濃縮することに成功した。CMCD34陽性細胞はNOD/SCIDマウスへのxenograftモデルにおいて造血再構築能を示した。今後、CMを幹細胞遺伝子治療その他の前臨床試験モデルに使用するために、現在CMCD34陽性細胞の生物学的特性を解析中である。

æ", 新規遺伝子治療法の開発研究

腫瘍ワクチンを骨髄非破壊的前処置による同種造血幹細胞移植療法と組み合わせ、ドナーリンパ球による抗腫瘍作用の増強を目的とする遺伝子治療法の研究を進めている。実際には、マウスの腫瘍移植モデルを用いて、腫瘍細胞とGM-CSF遺伝子導入したMHC nullのメラノーマ細胞の両者を放射線照射して腫瘍ワクチンに利用している。

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-ABLmRNAを特異的に切断するマキシザイム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。

æ», 細胞または分子標的療法の開発研究

特定の組織・細胞に発現する接着分子 (例えば血球におけるインテグリン 4-1 など) を指標としてサイトカインを供給する標的サイトカイン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チロシンキナーゼ阻害剤の効果やGvHD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。

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, Study of leukemogenesis

We have established IMS series of human leukemic cell lines which carry distinct non random chromosomal translocations. Molecular cloning identified the fusion genes (*MLL-LTG9*, *TLS/FUS-ERG*, *ETV6-NTR3*) involved in these translocations. Function and signal transduction of the fusion gene products is under investigation.

æ,, Analysis of common marmoset hematopoiesis to establish a preclinical model for translational research

We produced a monoclonal antibody (MoAb) binding CD34 antigen of non human primate, common marmoset (CM) and successfully enriched CM stem/progenitor cells using this MoAb. We are now investigating the biological characteristics of CM CD34+ cells to apply CM to a preclinical model for stem cell gene therapy etc.

æ", Development of novel gene therapy strategies

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», Development of cell/molecular targeted therapies

We are making two types of cytokine derivatives by genetic engineering. G-CSF is fused with *Pseudomonas* exotoxin lacking its receptor binding domain to eliminate myeloid leukemia cells which are resistant to chemotherapy and abundant in G-CSF receptors. IFN- γ is combined with the partial extracellular domain of VCAM-1 to be directed selectively to VLA4 positive cells including blood cells. We are also studying anti-leukemic effects of a novel tyrosine kinase inhibitor and anti-GvHD effects of a novel cytokine synthesis inhibitor for the future clinical trial.

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 真部 淳
 助手 医学博士 中島 秀明

PROFESSOR: Toshio Kitamura, M. D., D. M. Sc.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Kohichiro Tsuji, M. D., D. M. Sc.
 RESEARCH ASSOCIATE: Atsushi Manabe, M. D., D. M. Sc.
 RESEARCH ASSOCIATE: Hideaki Nakajima, M. D., D. M. Sc.

当研究部は造血制御機構の解析とその臨床応用をめざしている。現在の研究課題は、マウス、ヒト造血幹細胞の同定・純化とその分化増殖機構の解析、造血の発生機構の解析、およびこれらに基づくヒト造血幹細胞の体外増幅法の開発と、造血幹細胞移植、遺伝子治療への応用である。

æ, 胎生期造血の解析: 胎生期造血においては、造血幹細胞は aorta gonad mesonephros (AGM) 領域に発生し著明に増幅する。我々が胎生10.5日のAGM領域より樹立したAGM S細胞株は、マウスおよびヒト造血幹細胞の増殖を支持することにより、胎生期造血のみならず造血幹細胞の増幅機構の解析に新たな道を開くものと期待されている。我々はまた、全胚胎仔培養法を用いて、マウス胎仔間移植を行い、胎生期における造血発生について検討している。

æ,, 造血細胞の分化増殖機構の解析: 種々のサイトカイン受容体遺伝子導入マウスを作製し、その造血機構を解析することにより造血細胞の分化増殖機構を研究している。その結果、造血におけるサイトカインの特異性は、その受容体を発現している細胞に依存していることが明らかとなった。

æ", 造血幹細胞の体外増幅とその臨床応用: 我々は、可溶性IL-6受容体/IL-6複合体とSCFにより活性化されたgp130シグナルとc-Kitシグナルを用いたヒト造血幹細胞/多能性前駆細胞の有効な増幅法を開発した。増幅した造血幹細胞の臨床応用により、骨髄移植における採取量の減少、ドナーのリスクの軽減、移植後の輸血量の減少などが期待される。

æ», 造血幹細胞への遺伝子導入: 遺伝子治療は種々の遺伝性疾患や悪性疾患に対する治療法として期待されている。造血幹細胞は自己複製能を有することにより造血の再構築を可能としているが、我々はこの造血幹細胞を遺伝子導入の標的細胞として研究している。特に、可溶性IL-6受容体/IL-6複合体とSCFを用いた培養法は、ヒト造血幹細胞への有効な遺伝子導入法として期待されている。また、新たなレトロウィルスベクターの開発にもとりくんでいる。

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。



図1 純化ヒト造血幹細胞/前駆細胞 (FACSソートされたCD34+細胞)

Fig. 1 Purified human hemopoietic stem/progenitor cells (FACS sorted CD34+ cells)

Our major interest is to elucidate the mechanism regulating hematopoiesis. The current study is focused on the identification and isolation of human and murine hematopoietic stem cells (HSC), the mechanism of the differentiation and proliferation of HSC, the ontogeny of hematopoiesis, and the establishment of ex vivo expansion system of human HSC for stem cell transplantation and gene therapy.

æ, In mouse fetal hematopoiesis, definitive HSC initiate and significantly expand in aorta gonad mesonephros (AGM) region at 10 to 11 dpc. We have recently established a stromal cell line, AGM-S, from AGM region at 10.5 dpc, which can support the proliferation of murine and human HSC. This cell line may be useful for not only the analysis of fetal hematopoiesis but also the new approach to expansion of HSC. We are also analyzing hematogenesis in mouse embryo by interembryonic transplantation using a whole embryo culture method.

æ,, We are analyzing hematopoiesis in various transgenic mice expressing receptors for cytokines to clarify the mechanism of the differentiation and proliferation of hematopoietic cells. The results have shown that the specificity of cytokines depends on the cells expressing their receptors.

æ", We have established a novel culture system for significant ex vivo expansion of human HSC using synergistic action of gp130 and c-Kit signalings initiated by a complex of soluble IL-6 receptor/IL-6 and SCF, respectively. The expanded HSC might reduce harvesting volume, donor risk and infusion dose after stem cell transplantation.

æ», Gene therapy has been evaluated as a possible option for treatment in patients with various inherited and malignant diseases. HSC have been extensively studied as target cells for gene transfer, since reconstitution requires maintenance of self-renewal ability in donor cell population. The culture system using soluble IL-6 receptor/IL-6 and SCF is expected as a novel method for retroviral gene transduction into HSC. We also attempt to establish a novel retroviral vector system.

æ..., 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 identifying the mesenchymal stem cells in bone marrow, cord blood and placenta, and clarifying the mechanism regulating their proliferation and differentiation to establish a method which supports the development of various mesenchymal cells.



図2 全胚胎仔培養法により培養されたマウス胎仔

Fig. 2 Mouse embryo cultured by a whole embryo culture method

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 小田原 隆
 助手 医学博士 高橋 孝

PROFESSOR: Aikichi Iwamoto, M.D., D.M.Sc.,
 ASSOCIATE PROFESSOR: Yoshihiro Kitamura, M.D., D.M.Sc.,
 RESEARCH ASSOCIATE: Takashi Odawara, M.D., D.M.Sc.,
 RESEARCH ASSOCIATE: Takashi Takahashi, M.D., D.M.Sc.,

先端医療研究センター・感染症分野は、附属病院の感染免疫内科およびエイズ診療部の内科診療に深く関わり、 α 、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染症とその関連疾患、 α 、伝研以来の伝統である国際感染症などに罹患した患者を対象に、微生物学、免疫学、ゲノム医学の手法を駆使し、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。また、当研究所で独自に開発されたウイルスベクターを用いて新たな遺伝子治療法の開発を目指している。

α 、HIV感染症

HIV感染症については、主な研究対象が病態に關与するウイルスゲノムから宿主の免疫応答、病態や抗ウイルスの副作用に関するヒトゲノム研究などに移ってきた。強力な抗HIV療法（Highly active antiretroviral therapy: HAART）が行なわれるようになって、日和見感染症やエイズによる死亡者数は減少したが、HAARTによってHIV特異的な免疫応答は低下する事がわかってきた。FACSを用いた抗原特異的な細胞性免疫のアッセイ系を確立できたので、今後はHIV特異的な免疫応答の詳細な解析とHIV特異的な免疫の強化方法の研究を行っていく。HAARTの臨床的効果は明らかであるが、抗HIV薬の長期毒性も明らかとなってきた。抗HIV薬の副作用に關与する遺伝子多型の研究により、個人個人に合わせたオーダーメイドの治療を目指す。

α 、AIDS関連の日和見感染症・日和見腫瘍

HAARTの導入とともに減少した日和見感染症であるが、日和見感染症の発症をきっかけにAIDSと診断される症例もある。重要な日和見感染症であるカリニ肺炎の病原体 *Pneumocystis carinii* の *genotyping* や薬剤耐性に関わる研究を行っている。また、悪性リンパ腫、カポジ肉腫などウイルス関連の日和見腫瘍やサイトメガロウイルス、JCウイルスなどによる難治性疾患の研究を行っている。

α 、遺伝子治療

医学研究所独自に、アデノウイルスやセンダイウイルス由来のベクターが開発されている。これらのウイルスベクターを用いて、HIVに対する免疫応答の解析に用いるテトラマーの大量調製やHIV特異的な免疫応答を賦活化するための遺伝子治療法の開発を行っている。

Members of Division of Infectious Diseases are involved in the medical care of the patients who are treated in the Affiliated Research Hospital. Main subjects of the division are α , human immunodeficiency virus (HIV) infection and related disorders, α , tropical diseases such as malaria and so on. By way of microbiology, immunology and human genome medicine, we work on the pathogenesis, diagnosis and treatment of infectious diseases.

α 、HIV infection

Introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) changed the treatment of HIV infection dramatically. Our research has moved from the study of viral genome to the host HIV relationship. Using intracytokine staining and FACS, we developed an original method to measure HIV specific immune responses and found that they are not only quantitatively but also qualitatively defective. HAART has contributed to the decrease in the incidence of opportunistic infection and AIDS related death, however, long term toxicity of HAART has come to the surface. We work on the polymorphism of the genes which might be related to the toxicity of antiretroviral drugs.

α 、AIDS related opportunistic infections and neoplasms

We work on the important opportunistic infections such as *Pneumocystis carinii*, cytomegalovirus and JC virus.

α 、Gene therapy

Original viral vectors using adenovirus and Sendai virus have been developed in this institute. Using these vectors we produce massive amount of biologically active proteins and develop original method for human gene therapy.

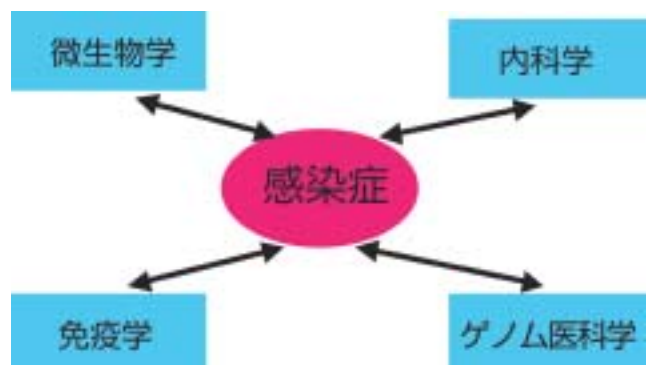


図 1 内科学、微生物学、免疫学、ゲノム医学などの手法を用いて感染症の研究を行っている

Fig. 1 Infectious Diseases have been studied by way of internal medicine, microbiology, immunology and human genome medicine.

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 安 藤 裕 一

PROFESSOR: Hideaki Tahara, M.D., D.M. Sc.
LECTURER: Takuya Tsunoda, M.D., D.M. Sc.
RESEARCH ASSOCIATE: Yuichi Ando, M.D., D.M. Sc.

当研究分野は、附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携を持ち、1) 固形癌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、患者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施行することが研究目的である。

α、固形癌に対する遺伝子治療および免疫療法の開発

A 樹状細胞を用いた遺伝子治療の開発

樹状細胞の生体内での機能を人為的に制御し、免疫反応の方向付けを目指す。樹状細胞に免疫制御分子の遺伝子を導入・発現させる検討を重ねてきた。具体的には、樹状細胞が至適条件にて成熟した際にのみ発現するIL 12を、遺伝子導入により強制発現させることにより樹状細胞機能の改善を図ることを主たる手法としている。この他の分子に関する検討も続けている。例えば、Flt3 Ligand（以下Flt3L）は生体内の樹状細胞を増殖分化させるサイトカインとして知られる。このFlt3LをIn Vivo Electroporation法を用いて直接生体に遺伝子導入し、樹状細胞への効果とその有効性を検討した。まず、In Vivo Electroporation法により10日間にわたる血中のFlt3Lタンパクの発現が得られた。脾および骨髄中の樹状細胞の増加が得られた。また、マウス腫瘍治療モデルにおいてこの治療により有意な腫瘍の縮小を得ることができた。以上、Flt3LのIn Vivo Electroporation法を用いた遺伝子治療は生体の樹状細胞の増殖分化を効率良く誘導し、抗腫瘍効果を得ることができた。この治療は癌の遺伝子治療への臨床応用が期待される。IL 12遺伝子導入樹状細胞の応用に関しては、それを腫瘍内投与するマウスのモデルにて、強い抗腫瘍効果と全体的な腫瘍特異的免疫反応の促進が見られたので、臨床応用を考えている。

B 樹状細胞の機能を強化した癌免疫療法の基礎的検討

我々は以前よりIL 12遺伝子導入DCの腫瘍内投与による抗腫瘍免疫反応を検討してきた。IL 12のin vivo投与はNK細胞やT細胞からIFN γ を産生し、抗腫瘍効果を発揮してきたが、同時に活性化したマクロファージから多量のNOを産生することで細胞性免疫を抑制することが明らかになった。一方、OK432はStreptococcus Pyogenesの弱毒株をペニシリン処理した強力な生物活性を持つ物質で、IFN γ やIL 12を含む多くのサイトカインを分泌することが知られている。OK432とDCを用い、マウスモデルで抗腫瘍効果を検討したが著明な効果が得られなかった。そこで、NO合成を規定するiNOSの阻害剤であるL NAMEを投与し、NO産生を抑制することで抗腫瘍効果の増強を検討した。その結果、L NAME投与により著明な抗腫瘍効果を認め、CTL活性の増強を認めた。また、その効果はD NAMEでは認められなかったことより、iNOSを制御することは腫瘍特異的細胞免疫の促進にとって重要であることが示唆された。今後、樹状細胞を用いた癌免疫療法の臨床応用を考慮し、樹状細胞の機能解析と抗腫瘍効果の増強を検討していく。

C エピトープペプチドを用いた癌ワクチン療法の開発

癌ワクチン療法において、エピトープペプチドを用いる方法は中心的存在である。癌にとって重要な特異的分子を同定し、これに対するエピトープペプチドを決定することにより、強力な癌ワクチン療法が可能となる。Microarrayにより同定された胃癌特異的な分子と大腸癌特異的な分子に関して、エピトープペプチドを決定することを研究目的としている。本邦での臨床応用を考慮し、日本人に最も多いHLA A*2402とHLA A*0201拘束性のエピトープペプチドを決定し、それを用いた臨床試験を考慮している。一方、エピトープペプチドを用いた癌ワクチン療法の評価において免疫モニタリングが重要である。我々は免疫モニタリング方法としてHLA Tetramerを利用している。Tetramerによる解析で問題となる非特異的結合を極力減少させるため、HLA分子の3ドメインに変異の入ったTetramerを作製し、現在実際にワクチンした癌患者末梢血からのHLA Tetramer陽性CD8陽性リンパ球の推移を検討している。さらに、IFN ELISPOT assayによる機能的リンパ球の解析も施行している。

α、同種移植免疫における寛容誘導法の開発

A HLAクラス I トランスジェニック・マウス（TGM）を用いた特異的寛容誘導の解析ドナー特異的免疫抑制法は常に切望されているが、いまだ臨床応用に至っていない。我々は、2種類のHLAクラスITGMを用いて心移植実験を行い、ドナーのHLAクラス I由来ペプチドを胸腺内に投与すると移植心の生着が著明に延長することを確認した。しかし、成人の胸腺は退化しており、ペプチドの投与経路として適切ではない。そこで、末梢性免疫寛容誘導をめざして、強力な抗原提示能を有する樹状細胞を用いた寛容誘導法を解析している。

B 合成ペプチドによるT細胞分化の機序の解明と免疫寛容誘導

T細胞の胸腺内分化、特にnegative selectionを解明することにより、臓器移植や自己免疫疾患の治療に活用が可能である。このことを明らかにするために、HLA抗原を移入したマウス2種類を用い、遺伝子レベルで操作した樹状細胞と上記アロペプチドにより、心移植モデルにおいてドナー特異的免疫寛容を誘導することを目的としている。

In close collaboration with Department of Surgery, Research Hospital and other Research Divisions in Advanced Clinical Research Center, we have been engaged in the basic research projects; 1) To develop gene therapy and immunotherapy for the treatment of solid tumors, 2) To develop strategies to induce tolerance in allo transplantation. Based on the results of these researches, clinical trials (Phase I and II) are conducted for patients at Research Hospital.

α、Development of Gene Therapy and Immunotherapy for the Treatment of Solid Tumor

A Development of Gene Therapy using Dendritic Cells (DC)

We have been using the genetically modified dendritic cells to regulate the immune response. Specifically, the core methods is to use the dendritic cells genetically engineered to constitutively express IL 12, which are expressed by the DC only when they are fully matured in specific conditions, to improve the functions of dendritic cells. We continue to perform pre clinical evaluation of applying IL 12 gene transduced DC. Other molecules have also been examined. Flt3 Ligand (Flt3L), a recently reported cytokine, is a stimulator for proliferation and differentiation of DCs in vivo and in vitro. In this study, we analyzed the effect of Flt3L on DC mobilization, proliferation, and maturation in vivo using in vivo electroporation (IVE). After Flt3L transfection with IVE, significantly high level of Flt3L was detected in the serum for 10 days after IVE. To investigate the effects of Flt3L expression using IVE, we examined the frequency of DCs in spleen and bone marrow 7 days after IVE using flowcytometry. The frequency of DCs was significantly increased in both spleen and bone marrow after Flt3L IVE transfection when compared with those of control group. In mouse tumor models, significant anti tumor effects were associated with proliferation, and Flt3L gene transfer using IVE. These results implied that Flt3L gene transfer using IVE promotes mobilization, maturation of DCs. Furthermore, this treatment could be utilized for the clinical application of cancer gene therapy.

C Development of Immunotherapy using Dendritic Cells

We have previously demonstrated that specific antitumor immune response can be induced by intratumoral (i.t.) injection of bone marrow derived DCs genetically transduced with the gene of interleukin (IL) 12. The in vivo administration of IL 12 causes NK cells and T cells to secrete IFN γ and enhances the cytolytic functions against tumor cells. These cytokines, however, elicit abundant nitric oxide (NO) from activated macrophages, and appear to suppress cellular immunity in murine system. Moreover, OK 432, a preparation of low virulence strain of Streptococcus Pyogenes, has been used as a potent biological modifiers for treating cancer patients in clinical and is known to induce multiple cytokines including IFN γ and IL 12 in vitro. Compared with the treatment with DCs alone, the combined treatment of DCs and OK 432 did not lead to further regression of the established tumors. Furthermore, to determine whether NO induced by the in vivo administration of OK 432 is influenced with immunosuppressive effects, we also injected N nitro L arginine methyl ester (L NAME), which inhibits inducible nitric oxide synthase (iNOS) mediated NO production, with DCs and OK 432. Then, combined treatment of DCs, OK 432, and L NAME resulted in a considerable regression of the tumor growth and generated tumor specific CTLs. In contrast, the tumors treated with DCs, OK 432, and N nitro D arginine methyl ester (D NAME) showed similar to those of mice treated with DCs and OK 432. Thus, the iNOS blockade may be important in promoting tumor specific cellular immunity in mouse. These results indicate that the i.t. injection of DCs and OK 432 has essential antitumor effects on the induction of tumor specific immunity in vivo. To promote clinical efficacy, further analysis will be performed.

C Development for cancer vaccine using epitope peptide

Epitope peptide has been utilized for cancer vaccine. It has been performed that vaccination using epitope peptide can induce CTL and promote antitumor effects that appear to be specific to the tumor. To obtain more targets for immunotherapy, Microarray technique has been utilized to determine the genes expressed specifically in tumor cells. We are now focusing on the mapping of epitope peptides from the molecules specific to gastric and colon cancers restricted by HLA A*2402 (60% in Japanese) and A*0201 (20% in Japanese). After mapping of epitope peptides, we have a plan to perform the clinical trial using these peptides. Furthermore, immuno monitoring is important to evaluate for cancer vaccine. We have made the HLA Tetramer, which has the mutation at $\alpha 3$ domain of HLA molecule to decrease the nonspecific binding. Using this Tetramer assay, we have analyzed the clinical samples from the patients enrolled in immuno therapy protocols. Moreover, ELISPOT assay detecting IFN γ also has been performed for functional activity for lymphocytes.

α、Development of strategies to induce tolerance in allo transplantation

A Analysis of Specific Tolerance Induction using HLA Class I Transgenic Mice (TGM)

Although donor specific immunosuppressive therapy has been always desired, it has not been applied yet in clinical practice. We conducted heart transplantation study using two types of HLA Class I TGM, and confirmed that long term survival of heart graft can be induced by intrathymic injection of donor HLA Class I peptides. However, thymus in adults are atrophic, peptide injection is not applicable. We will evaluate the possibility of donor specific tolerance induction using DC.

B Analysis on Role of Synthetic Peptides on T cell maturation and Tolerance Induction

By examining intrathymic education of T cells, focusing on negative selection, clinical application could be developed in organ transplantation and the treatment of autoimmune disease. Our object is to investigate the feasibility of the induction of donor specific tolerance using genetically modified dendritic cells and donor HLA derived peptide in our cardiac transplant system utilizing two HLA transgenic mouse strains.

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: Hirotoshi 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), 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、及び免疫亢進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、Crk associated substrate lymphocyte type (Cas L) の結合蛋白質として、TGF betaからのシグナルを阻害するSmad 7とHTLV I由来のtransactivatorであるTAXを単離した。これらの蛋白とCas Lとの構造活性相関の解析を通じて、種々の自己免疫疾患や骨粗鬆症、ATL(成人T細胞性白血病)へのCas Lの治療応用の可能性を探索する。

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用薬を創製することをめざす。

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、慢性関節リウマチなどの疾患病態の理解をめざす。

5) NF- κ 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- κ 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-12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, CD45 and Ro52/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 immune reactivity and malignant tumors with enhancing sensitivity to chemotherapeutic agents utilizing soluble CD26.

2) To determine the biological functions of Cas L and possible therapeutic applications Crk associated substrate lymphocyte type (Cas L) is a intracellular docking protein that is heavily tyrosine phosphorylated upon engagement of beta1 integrins. By Two Hybrid screening, we identified Smad 7 and human T lymphotropic virus type I (HTLV I) TAX as binding molecules for Cas L. Through the analysis on structure function relationship between Cas L and those binding proteins, we aim to explore the possible therapeutic application of Cas L in the treatment of a various autoimmune disorders, osteoporosis, and ATL (adult T cell leukemia) that is caused by HTLV I.

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- κ B: NF- κ B 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- κ B. Further studies will merit to develop novel antiinflammatory and/or immunosuppressive drugs.

6) Structure and function of human IL-12 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.

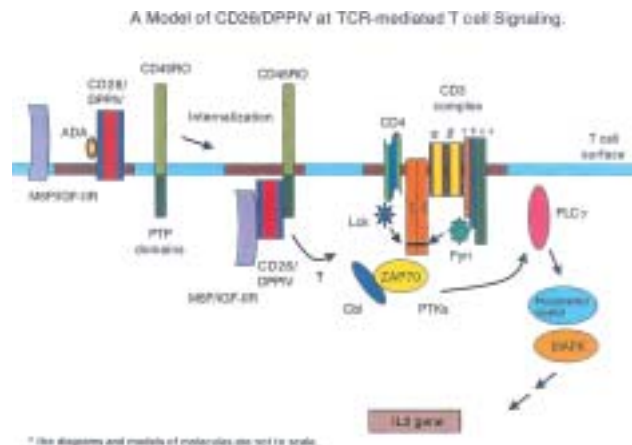


図 CD26/DPPIV分子のT細胞受容体由来シグナルモデルについて

Fig. A model of CD26/DPPIV at TCR mediated T cell signaling

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.

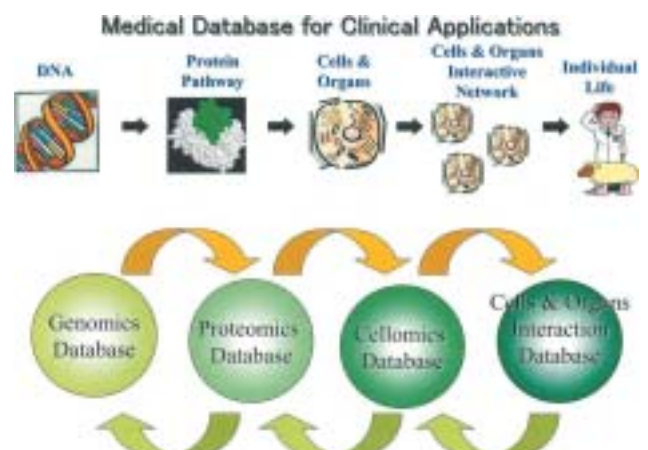
Many research projects started to study genomic disease in Japan. For the clinical application of these results, systematic studies are necessary how to integrate the genomic database and clinical data as well as new computer simulation algorithm.

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

PROFESSOR: Chieko Kai, D. V. M., Ph. D.
LECTURER: Kyoko Tsukiyama-Kohara, D. V. M., Ph. D.
RESEARCH ASSOCIATE: Ryuichi Miura, 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。

㍷, 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。

㍷, 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。

㍷, 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。

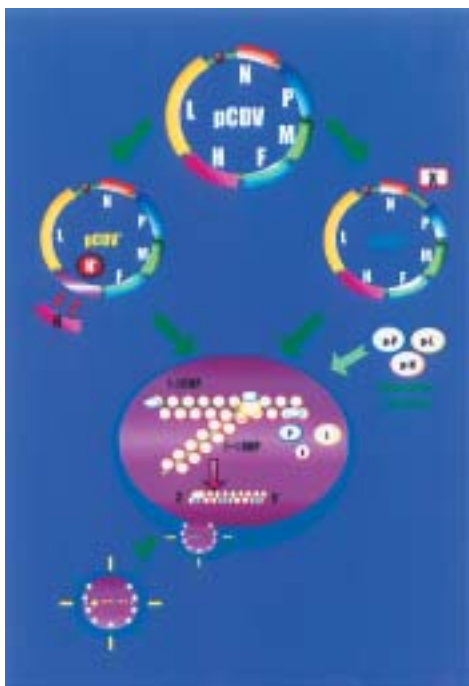


図1 CDVのリバースジェネティクス系の概略図

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.

㍷, 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.

㍷, 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.

㍷, 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.

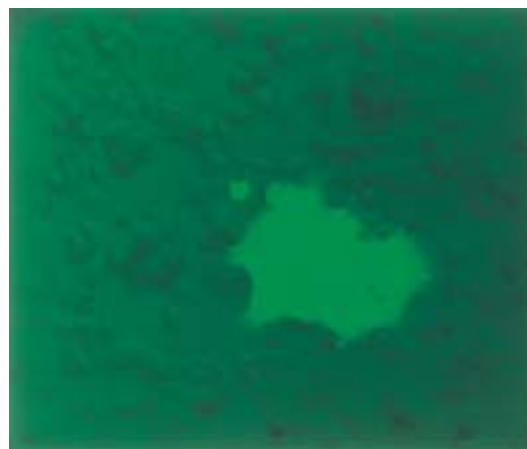


図2 GFP遺伝子を挿入した組換えCDVの感染によって形成された多核巨細胞に見られたGFPの発光。

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.

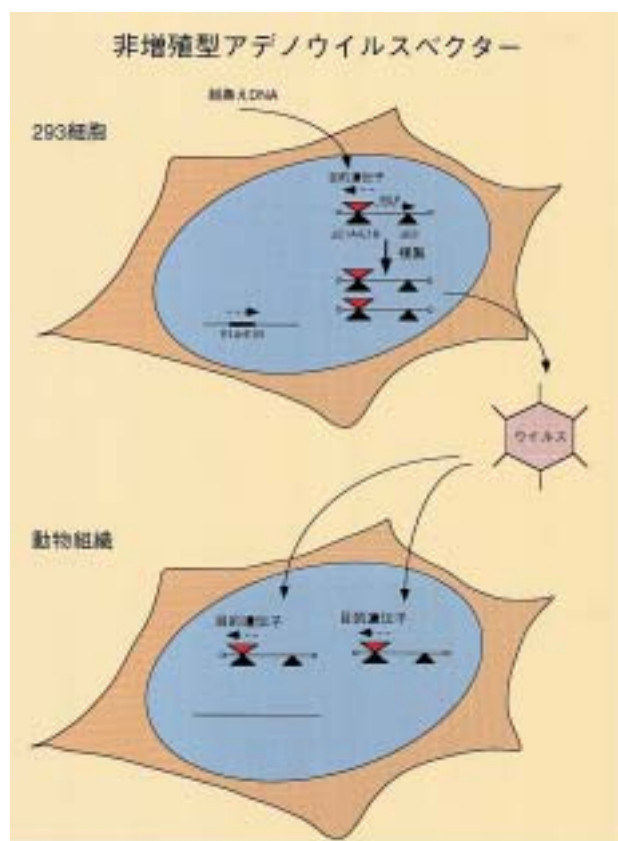


図1 非増殖型アデノウイルス発現ベクター

Fig. 1 EIA deficient adenovirus expression vector

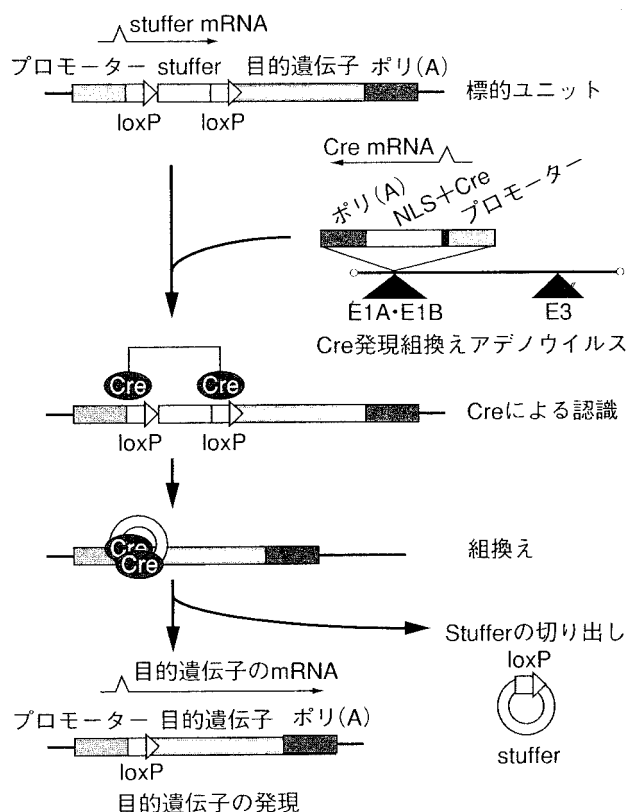


図2 組換えアデノウイルスを用いたCre/loxP系による発現制御系

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、ハブ自身も持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、実験用零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零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。

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.

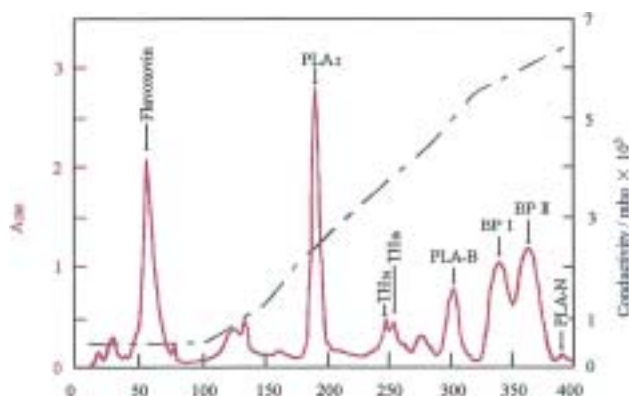


図1 ハブ毒のカラムクロマトグラフィー (Chromatography of venom proteins from Habu)



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

附属病院 RESEARCH HOSPITAL

全国唯一の国立大学附属研究所附属病院として探索的臨床研究（トランスレーショナルリサーチ）をプロジェクト的に実践する場としての役割を有する。血液疾患，感染症，自己免疫疾患，腫瘍外科，外科，放射線の5専門診療グループと，その活動を支える先端診療部，ゲノム診療部，中央診療部，検査部，細胞プロセッシング 輸血部，薬剤部，医療情報部，治験管理事務局やトランスレーショナルリサーチコーディネーターを有する医療安全管理部，看護部などの部局が存在する。これら診療グループならびに部局を有機的に連携させ探索的臨床研究（トランスレーショナルリサーチ）を効率よく推進している。すなわち，各探索的臨床プロジェクトを中心に各診療グループを越えたプロジェクトチームが編成され，先端診療部は診療面を，医療情報部が情報面を，医療安全管理部が安全面を支援する。また，附属施設として，治療ベクター研究室，臨床細胞工学室をもつ。プロジェクトは広く国内外の秀れた研究者が応募するものであるが，現在は先端医療研究センターから提案された癌免疫遺伝子治療，臍帯血移植を含めた造血幹細胞ならびに樹状細胞移植，HIVゲノム診療が行われている。

The Hospital, a national research hospital, which is the largest in Japan, plays roles as a clinical facility to practice translational researches (TR) as projects. There are five specialized groups of clinicians for hematological disorders, infectious diseases autoimmune disease, neoplastic diseases, The group activities are strongly supported by departments of advanced general medicine, radiology, central laboratory medicine, genomic diagnosis, safety control (including an office for clinical trial, and TR coordinators), medical informatics, stem cell and blood cell processing, pharmacy, nutrition, and nursing quarters. Any project for TR proposed by researchers inside and outside, if it is excellent, can be accepted. Current translational research involves immuno gene therapy, stem cell transplantation including cord blood transplantation, dendritic cell therapy, HIV genome medicine. Recently, the new facilities for clinical vector production and clinical stem cell processing and storage have been established.

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

PROFESSOR: Naohide Yamashita, M.D., Ph. D.
 LECTURER: Takashi Nakaoka, M.D., D.M. Sc.
 CLINICAL ASSOCIATE: Toshihide Nishishita, M.D., Ph. D.

先端診療部は1997年にプロジェクト診療部として発足し、遺伝子治療などの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。

æ, 樹状細胞を用いた悪性腫瘍に対する腫瘍免疫療法

臨床研究としては、悪性腫瘍に対する樹状細胞を用いた腫瘍免疫療法を行っている。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ている。第 期悪性黒色腫を対象として既に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。現在この治療を遠隔転移を伴った甲状腺癌に拡大して臨床研究を続行中である。

æ,, 神経芽腫に対する遺伝子治療

小児細胞移植科と協力し、小児の第 期神経芽腫に対する遺伝子治療を開始している。現在候補症例を募っているところであり、近々治療が開始される予定となっている。この遺伝子治療の新しい面としては、2つの遺伝子を用いた遺伝子治療であること、対象が小児なので生命倫理が特に重視される、という2点である。生命倫理については病院内の医療安全管理部とトランスレーショナルリサーチ・コーディネーターの協力を得て、十分な監視体制を作っている。

æ'' 上記の臨床研究の他に虚血性疾患に対する血管新生の前臨床研究、心血管系の発生に関与する核内レセプターの基礎研究も行っている。

Department of Advanced Medical Science was established in September 1997. We are investigating human immunotherapy for malignancies using dendritic cells, human gene therapy for neuroblastoma and other preclinical studies including neovascularization.

1 . Human immunotherapy for malignancies using dendritic cells

Malignant melanoma is an intractable disease and its prognosis is poor when the disease progresses to stage IV. We have finished phase I study of immunotherapy using dendritic cells (DCs) to stage IV melanoma patients. From 1999 to 2000 ten patients entered this study protocol. Tumor progression was stopped in one patient. In two patients obvious regressions of metastatic tumors were observed. Safety of this therapy was proved and the activation of tumor immunity has been suggested. We extended DC based immunotherapy to metastatic thyroid cancer. This phase I clinical study has already begun and we are now treating 6 patients. Some experimental autoimmune thyroiditis caused by Tg have been reported in animals. Now we are trying to detect human T cell clones stimulated by Tg pulsed DCs in vitro and to project clinical study.

2 . Human gene therapy for neuroblastoma

Neuroblastoma is the most common extracranial solid tumor of childhood. When the tumor occurs in infants (< 1year age) it is frequently localized and responds well to therapy. However in older children (> 1year age) the prognosis is far worse. We have started the clinical gene therapy protocol for neuroblastoma in collaborations with Professor Brenner in Baylor University of Texas. The aims of this study are as follows; æ, to determine the safety up to four subcutaneous (SC) injections of autologous neuroblastoma cells, which have been genetically modified by adenoviral vectors to secrete lymphotactin and interleukin 2, æ,, to determine the safety of up to eight (total) injections in patients who have received the first four injections without unacceptable toxicity and have evidence of stable disease or better after receiving these injections, æ'' to determine whether MHC restricted or unrestricted antitumor immune responses are induced by SC injection of modified autologous neuroblastomas and the cell doses required to produce these effects, and æ» to obtain preliminary data on the antitumor effects of this treatment regimen.



教授	医学博士	浅野茂隆
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	長村文孝

PROFESSOR: Shigetaka Asano, M. D., D. M. Sc.
 ASSOCIATE PROFESSOR: Arinobu Tojo, M. D., Ph. D.
 LECTURER: Satoshi Takahashi, M. D., Ph. D.
 LECTURER: Kaoru Uchimaru, M. D., Ph. D.
 CLINICAL ASSOCIATE: Fumitaka Nagamura, M. D., Ph. 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。20床の特殊無菌病棟ならびに約30床の一般病棟を使用し、2002年前半までに約400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、公的骨髓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件の非血縁者間骨髓移植と約120件の非血縁者骨髓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40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GVHDや移植片対白血病 (GvL) 効果のメカニズム解明と治療法の開発に積極的に取り組んでいる。

æ,, 遺伝子治療に関する研究

米国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「第一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「移植後再発白血病に対する免疫遺伝子治療」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と慢性骨髓性白血病に対するAblキナーゼ阻害剤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.

1) Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT)

As many as 400 cases of allogeneic or autologous HSCT have been performed and HSCT related complications including acute/chronic GvHD and opportunistic infection have been treated until the first half of 2002. 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 40 cases of CBT in adults, which appears a distinguished experience in the world. During such a transition of our stem cell source, the pathophysiology of GvHD and GvL is becoming our main theme to be elucidated, and we are now engaged in the development of novel therapeutic options for GvHD and post HSCT leukemia relapse.

2) 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.

3) Cell and Molecular Targeted Therapy

Humanized anti CD20 monoclonal antibody (rituximab) and Abl specific 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 医学博士 中 村 哲 也

PROFESSOR: Aikichi Iwamoto, M.D., D.M.Sc.

ASSOCIATE PROFESSOR: Tetsuya Nakamura, 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、我が国に有数の国際感染症の診療機関でもある。

1. HIV感染症の診療

2002年6月現在で、外来患者約150名、入院患者3～5名のHIV感染者の診療を行っている。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。その結果、HIV感染者の生命予後は著しく改善され、下図に示すように医科研附属病院のHIV感染者の年間入院患者数は1996年をピークとして大幅に減少した。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50～60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ている。単にHAARTを中断するだけであれば、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の増殖が軽度にかきこらず、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 Ⅲ 相試験)」を計画中である。

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。

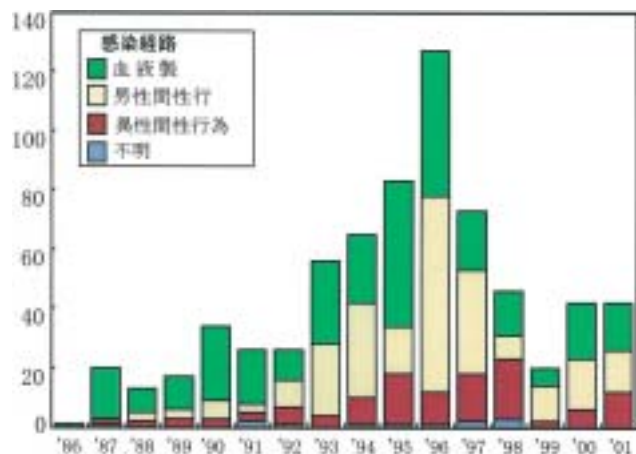


図 HIV感染者の入院件数年次推移 (東大医科研)

The Department of Infectious Disease and Applied Immunology (DADAI) was founded in 1981, and started clinic and research works for HIV infection since 1986. DADAI 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 infection

Approximately 150 outpatients and 3 5 inpatients with HIV infection are under our medical care as of June 2002. 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. As a result, the survival of HIV infected patients was dramatically improved, and the annual number of inpatients started to decrease after 1996 (see Figure below). However, it is supposed to take 50 60 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 plan a clinical study to interrupt HAART for patients after immunizing with HIV vaccine. If patients interrupt HAART without any intervention, the viral loads will rebound within one month to the level before start of 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 will start 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 Japanese society becomes international.

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

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.

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。平成13年度の当科の入院患者数は47例、そのうちリウマチ・膠原病は35例であり、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、先端的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

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。

2) 先端治療開発に向けた臨床研究

NF- κ Bは炎症、免疫応答に関連する遺伝子の発現をコントロールする代表的転写因子である。当科ならびに免疫病態分野ではNF- κ Bを標的分子とした治療法の開発に関する研究が進展中である。最近、NF- κ Bの働きを抑制する新規分子を同定し、臨床応用に向けた研究も展開されている。また、国内外の施設と共同で、潰瘍性大腸炎、RAを対象にNF- κ Bアンチセンス療法の臨床研究が計画されている。

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.

2) Clinical Research

The transcription factor NF- κ B is a major player in transcriptional regulation of a battery of genes involved in inflammation and immune reaction. We have recently identified a novel molecule for NF- κ B suppression in collaboration with the Division of Clinical Immunology. Molecular genetic analysis of this novel NF- κ B suppressor is now in progress. On the other hand, NF- κ B is considered to be a relevant target for antiinflammation. The proof of principle of anti NF- κ B therapy is clarified in a variety of inflammatory disorders. We therefore, are planning to treat patients with inflammatory bowel diseases and rheumatoid arthritis using anti NF- κ B oligonucleotide or siRNA as a tool.

助教授(併) 医学博士 辻 浩一郎
 助手 医学博士 海老原 康 博

ASSOCIATE PROFESSOR: Kohichiro Tsuji, M. D., D. M. Sc.
 CLINICAL ASSOCIATE: Yasuhiro Ebihara, 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25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。

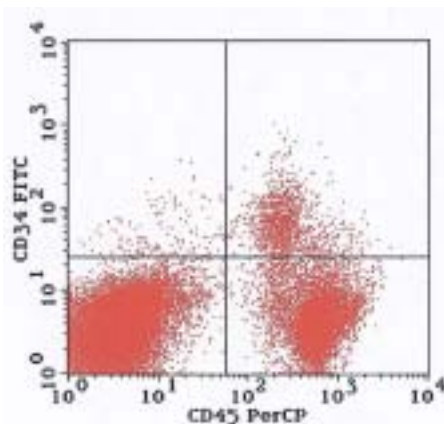


図1 ヒトCD34+細胞を移植されたNOD/SCIDマウスの骨髄細胞の解析。ヒトCD45+細胞やCD45+/CD34+細胞が認められる。

Fig. 1 Flow cytometric 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 32 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.

教授	医学博士	田原秀晃
講師	医学博士	別宮好文
助手	医学博士	武田泰隆
助手	医学博士	吉崎巖
助手	医学博士	高山卓也
教務職員	医学博士	市川直哉

PROFESSOR: Hideaki Tahara, M. D., D. M. Sc.

LECTURER: Yoshifumi Beck, M.D., D.M.Sc.

CLINICAL ASSOCIATE: Yasutake Takeda, M.D., D.M.Sc.

CLINICAL ASSOCIATE: Iwao Yoshizaki, M.D., D.M.Sc.

CLINICAL ASSOCIATE: Takuya Takayama, M.D., D.M.Sc.

CLINICAL ASSOCIATE: Naoya Ichikawa, M.D., D.M.Sc.

当研究分野は、先端医療研究センター臓器細胞工学分野、および他研究分野・診療科部門と緊密な連携を持ちながら、固形癌の手術療法を含む集学的治療に携わっている。また、消化器の内視鏡及びレントゲン検査、腹部超音波検査、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とともに血液浄化部門の運営も行っている。2001年には、105例の手術を施行した。全身麻酔下手術の内訳は、悪性腫瘍55例、その他50例である。

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及び他研究部の研究成果をいち早く臨床に導入し、実際の患者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。現在進行している第1相臨床試験の概要と治療成績、現在検討中の臨床試験について以下に述べる。

æ, 現在進行している第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

我々は日本人の60%と最も頻度の高いHLA A*2402と、日本人の約20%と次に頻度が高いHLA A*0201に拘束性を示すgp100由来エピトープペプチドおよびgp100由来改変ペプチドを用いたワクチン療法の第1相臨床試験を施行している。2002年6月末日現在、HLA A*0201 4例、A*2402 5例の第一期悪性黒色腫患者をエントリーした。安全性に関して、ペプチド接種部位におけるgrade Iの発赤、掻痒感、硬結以外の副作用は認めなかった。臨床効果、免疫学的効果と臨床効果に関しては、ペプチド特異的CTLの誘導と、それによる抗腫瘍効果が発現したと考えられる症例も経験したことから、この治療法のさらなる開発の有用性が示唆された。

B 放射線と樹状細胞を用いた免疫療法の開発

前臨床研究の結果をもとに皮膚あるいは皮下腫瘍結節に対して、放射線の局所照射に加えて強力な抗原提示細胞として知られる樹状細胞を局所に投与する治療法を考案し、第1相試験を開始した。2002年6月末日現在、3例の悪性腫瘍患者をエントリーし、治療中である。

æ,, 現在検討中の臨床試験

A 樹状細胞を用いた遺伝子治療の開発

消化器原発悪性腫瘍患者に対する、IL 12遺伝子を導入した樹状細胞を用いた遺伝子治療の臨床応用を検討中である。

B 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インターロイキン2を用いた腫瘍特異的ワクチン療法（第1相試験）

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（第1相試験）の安全性、臨床効果を踏まえて、第1相試験を検討中である。

In close collaboration with Division of Bioengineering, Advanced Clinical Research Center, and other Research/ Clinical Divisions, we have been engaged in the surgical treatment of solid tumors. Also we have been offering service in the Department of Clinical Examination. The service includes endoscopy, X ray, ultrasonic examination and angiography for various organs. AD Division has been managed as well. We performed 105 cases of operation in 2001. (Under general anesthesia; 55 cases of malignant diseases and 50 cases of other diseases.)

The principal goal of our department is to create and conduct innovative clinical trials (Phase I and II) for patients at Research Hospital. These trials have been and will be derived from the findings the basic research projects conducted at Division of Bioengineering and other research divisions.

æ, Phase I clinical trials on going

A HLA restricted epitope peptide based Cancer Vaccine for malignant melanoma

In this study, we have performed the clinical phase I trial of peptide based vaccination using gp100 restricted HLA A*2402 (60% in Japanese) and A*0201 (20% in Japanese). We have analyzed the adverse effects and immune response from vaccinated patients. Until the end of June in 2002, we have enrolled 5 patients with HLA A24 and 4 patients with HLA A2. In the safety, there have been no severe adverse effects except for the grade I toxicities including itching, erythema and nodular formation in vaccination sites. In the clinical and immunological response, peptide specific CTL induction was shown in the PBMC from one patient who had the clinical response. These results warranted the further development of this strategy.

B Development of Immunotherapy using Dendritic Cells in combination with Local Radiation Therapy and Systemic Administration of IL 2

We have started to recruit the patients with metastatic tumor in the skin as a phase I clinical trial and treated them using local administration of dendritic cells in combination with local irradiation and systemic administration of IL 2, based on the results from pre clinical studies. We have enrolled and analyzed 3 patients as of the end of June in 2002.

æ,, Clinical trials on developing

A Development of gene therapy using dendritic cells

We are developing clinical application of IL 12 gene transduced dendritic cells for cancer patients of digestive organs.

B HLA A*2402 restricted epitope peptide based cancer vaccine in combination with systemic administration of IL 2 for malignant melanoma (Phase II trial)

We are planning a phase II clinical vaccination trial using HLA restricted peptide based cancer vaccine in combination with systemic administration of IL 2 for malignant melanoma. This trial is developed from the new findings of the phase I trial.

助教授 医学博士 吉川 宏 起
 講 師 医学博士 井 上 優 介
 助 手 医 学 士 吉 川 健 啓

ASSOCIATE PROFESSOR: Kohki Yoshikawa, M. D., D. M. Sc.
 LECTURER: Yusuke Inoue, M. D., D. M. Sc.
 CLINICAL ASSOCIATE: Takeharu Yoshikawa, 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X線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。これらの機器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。MRIやSPECTは臓器・腫瘍の生理機能を測定する手段としても活用されている。また、当科の放射線治療部門では血液腫瘍の治療が重要な役割となっており、骨髄移植前の全身照射が積極的に行われている。

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) MRI造影剤の基礎的検討

MRI造影剤としては従来細胞外液分布を反映するものが臨床使用されてきたが、臓器・腫瘍特異性の高い造影剤が開発されつつある。当科では特異性造影剤について動物実験をはじめとした検討を行い、臨床使用への道筋をつけることを意図している。

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。東京大学認知・言語神経科学教室と共同でfunctional MRIによる高次機能の研究を行っており、高次機能メカニズムの解明につとめている。

3) MR spectroscopy

MR spectroscopyによる脳内代謝物質測定を二次元的・定量的に行う方法を開発しており、疾患脳の研究手段としての確立をめざしている。

4) 心筋血流・代謝の検討

東京大学循環器内科学教室、東邦大学循環器内科との協力のもとで、心筋血流・代謝の研究を行っており、心機能評価法の検討、代謝性心疾患を中心とした心疾患の病態解明を目指している。

5) 生理機能定量測定法の研究

放射性標識化合物を用いて生物学的指標を非侵襲的に測定することが可能である。我々は測定装置やデータ解析法を研究し、様々な生物学的指標を定量的に評価する方法の開発、改良を行っている。さらに、これらの方法を人疾患の病態解析に応用している。

Advances in instruments and information technology are enhancing the importance of medical imaging. We assess various diseases using advanced imaging technology such as X ray CT, MRI and SPECT. Diagnosis and evaluation of therapeutic effect by our methods have critical roles in clinical practice and are supporting project related treatments in the research hospital. MRI and SPECT also act as tools for estimating in vivo physiology of organs and neoplasms. Treatment of hematological neoplasms is a main role of our radiotherapy division, and total body irradiation prior to bone marrow transplantation is frequently performed.

Our main research projects are as follows:

1) Basic study of MR contrast media

While contrast agents reflecting the distribution of extracellular fluid have been used clinically in MRI, organ or tumor specific contrast agents are now being developed. We perform studies on such agents, including animal experiments, in order to aid in introducing them into clinical diagnosis.

2) Higher brain function by functional MRI

Functional MRI detects neuronal activity noninvasively, and is accepted as a potent tool of brain research. We investigate higher brain function by functional MRI in cooperation with Department of Cognitive Neuroscience, University of Tokyo.

3) MR spectroscopy

We develop techniques for two dimensional and quantitative evaluation of cerebral metabolites by MR spectroscopy to establish a method for investigation of brain pathology.

4) Myocardial perfusion and metabolism

We study myocardial perfusion and metabolism in cooperation with Department of Cardiovascular Medicine, University of Tokyo and Toho University. Our aims are to examine methods for the evaluation of myocardial function and to elucidate pathophysiology of heart diseases.

5) Quantitative measurement of biological indices

Biological parameters may be measured noninvasively with radioactive compounds. We investigate imaging devices and data analysis to develop and improve methods for quantitatively assessing various biological parameters. These methods are also applied to the characterization of human diseases.

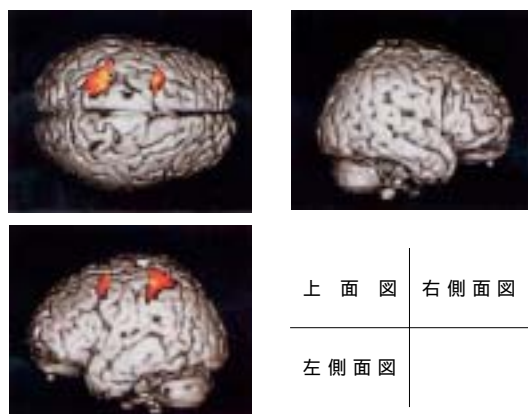


図1 これら正常者の磁気共鳴映像法による脳機能マップでは「書字」-「命名」課題および「書字」-「手指タッピング」課題の両者の共通賦活領域が示されている

Fig. 1 These functional MR maps of the brain of the normal volunteer show the common activated areas by the task of writing minus naming and writing minus tapping

助教授 医学博士 小柳津 直 樹
 助 手 医学博士 竹 内 賢 吾

ASSOCIATE PROFESSOR: Naoki Oyaizu, M.D., D.M.Sc.
 CLINICAL ASSOCIATE: Kengo takeuchi, M.D., D.M.Sc.

当検査部は生理，血液，生化・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，診断にあっている。このような日常業務に加え医科研附属病院が昨年より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・変換させる一步を踏み出している。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。またすでに稼働中の検査オーダリングシステムに病理，細菌部門を組み込み院内IT化と医療情報データベースシステム確立に寄与することも現在進行形の大きな課題ととらえている。

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 engage in extensive analysis to evaluate the effectiveness of these experimental approaches and developing molecular based surrogate makers and endpoints. Our goal is to evolve into function as an integrated diagnosis & monitoring laboratory therapy promoting and contributing to the translational research at IMSUT.

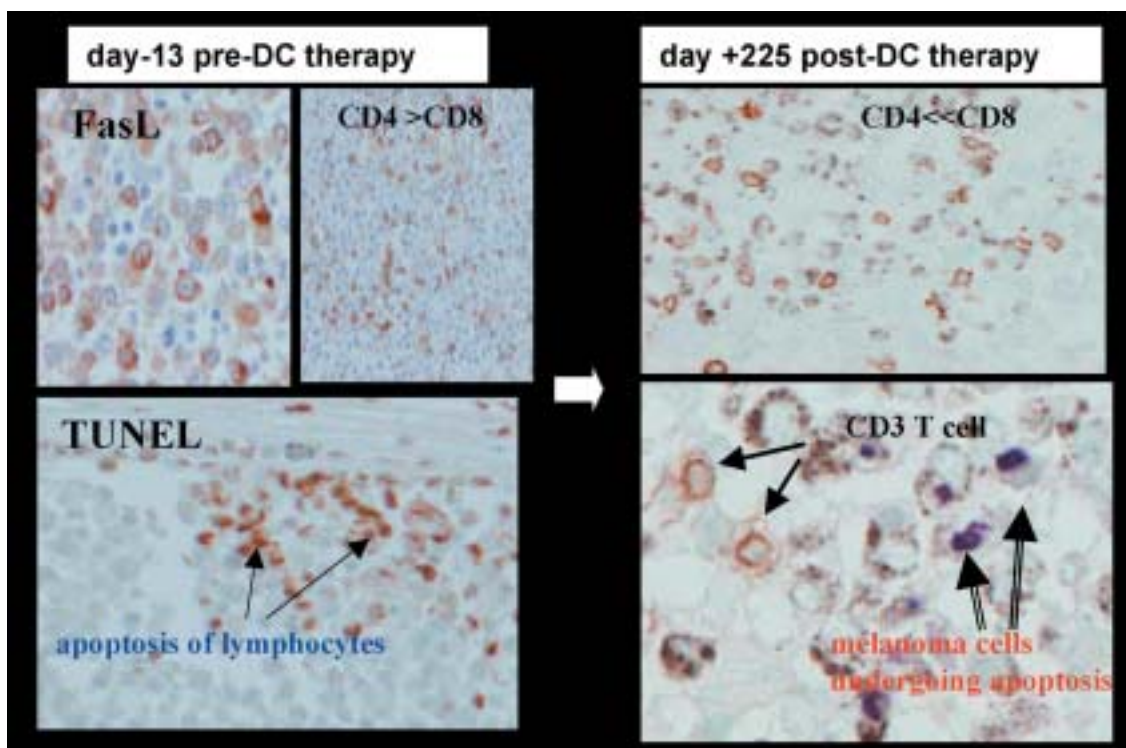


図 1

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，一方治療後は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

助教授

医学博士 林 田 眞 和

ASSOCIATE PROFESSOR: Masakazu Hayashida, 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.

助教授 医学博士 佐藤 典治
講師 医学博士 井関 徹

ASSOCIATE PROFESSOR: Noriharu Sato, M. D., D. M. Sc.
LECTURER: Tohru Iseki, M. D., Ph. D.

分子生物学の進歩により、遺伝性疾患のみならず癌やエイズなどの多くの後天性疾患の分子病態が解明されつつある。疾患の原因となる遺伝子の異常が明らかにされれば診断、予防とともに、それを標的とした治療法の開発が次の目標となる。

本院輸血部は日常業務に加え、研究所の臨床部門としての性格から、骨髄移植に代表される細胞移植治療や先端医療としての遺伝子治療をサポートする責務を有している。現在まで、造血幹細胞移植の治療成績をより向上させる目的で、純化した造血幹細胞を用いた移植、再発を抑制するリンパ球を併用した移植、移植片対宿主病を防ぐ目的でT細胞を除去した骨髄を用いた移植、同種末梢血幹細胞移植の一端を担い、さらにアンチセンス核酸分子の作用機序やリンパ造血幹細胞の分化増殖過程の解析などの基礎研究を進めてきた。これらは、種々の疾患に対する先端医療、細胞治療としてのあたら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視野にいれたものである。

白血病、癌、先天性疾患など現在の治療法では治癒が望めない疾患にとって、細胞移植、遺伝子治療は究極の治療法であり、早急に確立されることが望まれる。また、実験室での研究成果をベッドサイドに還元し、細胞移植や遺伝子治療を積極的に推進するためには、細胞の単離や遺伝子導入といった操作を無菌条件下で行う必要がある。平成9年4月からクリーン・ルームと、遺伝子導入を取り扱える臨床用P3ルームを備えた臨床細胞工芸室（Room for Clinical Cellular Technology: RCCT）が稼働を開始した。このユニットは将来的に輸血部が細胞治療部として、内科、小児科、外科など各診療科の先端医療、細胞治療のコアになるとの構想から設置されたものである。

- æ, 造血（骨髄、末梢血、臍帯血）幹細胞の生物学的特性の解析
- æ,, 造血幹細胞の単離、増幅と細胞移植、遺伝子治療への応用
- æ" Bリンパ球の初期分化過程の解析
- æ» 免疫療法のためのリンパ球クローニング
- æ... ケモカインと造血幹細胞のホーミングに関する研究
- æ% 造血器腫瘍の遺伝子異常にもとづいたアンチセンス治療法の開発



図1 分子病態に基づくあたらしい治療の展開

Fig. 1 Prospects for new therapeutic approaches based on molecular pathophysiology

Cloning and sequencing of pathogenic genes have provided useful informations for preventive medicine and conventional therapies through molecular diagnosis of various diseases including hereditary disease, cancer, and AIDS. They have also made possible new therapeutic approaches through gene manipulation.

Improving the clinical outcome of hematopoietic stem cell transplantation, we supply purified hematopoietic stem cells to clinical trials for allogeneic bone marrow and peripheral blood transplantation, and the depletion of T lymphocytes from the donor cells is undertaken to reduce the rate of graft versus host disease. We have been also engaged in basic researches to analyze the proliferation and differentiation processes of B lymphopoiesis, to establish the *ex vivo* expansion system of hematopoietic stem cells, to establish antisense therapy for hematological malignancies. These basic researches are focused not only on cytokine therapy and immunotherapy, but also on gene therapy or genetically targeted therapy that is being generated in the Institute.

Stem cell transplantation and gene therapy being ultimate therapeutic approaches for incurable diseases, their establishments (from bench to bed side) are urgently needed. It is also mandatory to separate and manipulate cells under quality controlled sterilized circumstances. For this purpose, clean rooms with clinical P3 facilities (Room for Clinical Cellular Technology: RCCT) is now operating in the Institute.

- æ, Purification of hematopoietic stem cells by the cell sorting system and characterization of their proliferating and differentiating capabilities *in vitro* and *in vivo*.
- æ,, Establishment of the *ex vivo* expansion system of hematopoietic stem cells for transplantation and gene therapy.
- æ" Analysis of early B cell development using a novel culture system for progenitor B cells
- æ» Large scale culture system of NK and CTL cells for immunotherapy.
- æ... Effects of chemokine on homing for hematopoietic stem cells
- æ% Establishment of antisense therapy for leukemias based on their gene alterations.

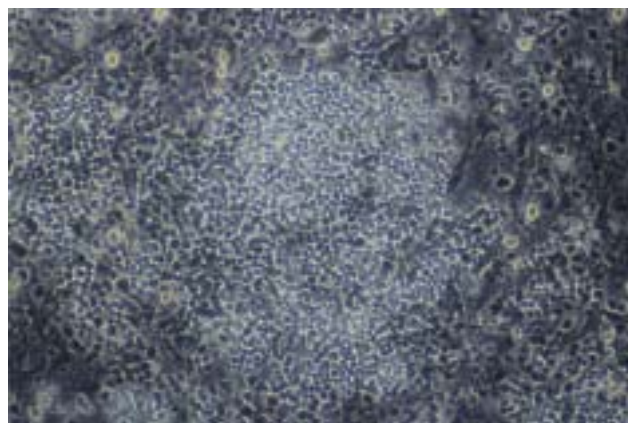


図2 ストローマ細胞に接着して増殖するBリンパ球造血前駆細胞

Fig. 2 Human progenitor B cells proliferated on stromal layer

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ったのを始め、小児の神経芽細胞腫に対する遺伝子治療を推進中である。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。

現在ゲノム診療部と小児科、ゲノム情報応用診断寄付研究部門、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開設の準備中である。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ご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）。

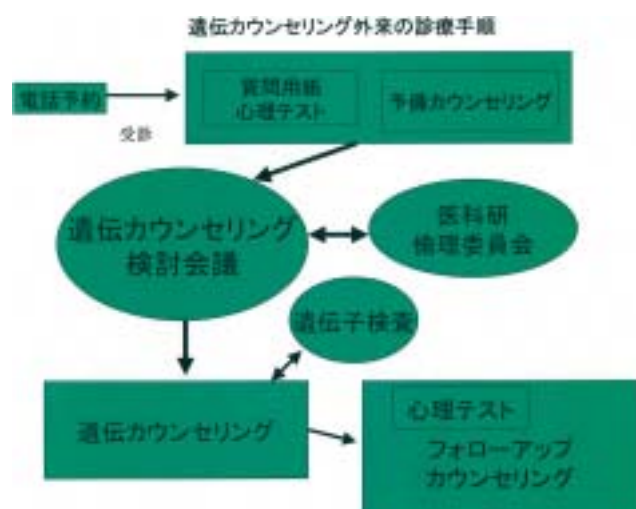
更に当院に多い血液疾患患者を主な対象として、疾患関連遺伝子群のゲノム解析研究を行っている。これはゲノム診療部、先端医療研究センター分子療法分野等が学内から参加している他、学外の主要研究機関との共同研究で、対象は慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群、移植後のGVHDなどである。

また神経芽細胞腫に対する免疫遺伝子治療、固形癌に対する樹状細胞療法など、当院で進行中の第1相試験や臨床研究においても、遺伝子解析により適切な患者の選別等に道を開くことができるかといった研究もテーマとしている。

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 and neuroblastoma using tumor cells transfected with cytokine genes. 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 an 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 are preparing to open genetic counseling 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.



教授(併) 医学博士 山下 直 秀
助手 医学博士 長 村 文 孝

PROFESSOR: Naohide Yamashita, M.D., Ph. D.
CLINICAL ASSOCIATE: Fumitaka Nagamura, M.D., Ph. D.

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が科学的・倫理的に妥当なものとして施行される事を検証する部門として平成13年に設立された。また、医療事故防止・対策に対する重要性が近年高まっており、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。

æ, 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随時研究のデザインや解析方法などに関する助言を行っており、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、医科学研究所の職員が携わる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。

æ,, 臨床研究終了時自主モニタリング：たとえ院内研究であっても研究の遂行上問題がなかったか、手続き上誤りはなかったか、副作用の確認や報告は適切に行われたか、等を検証し、研究の質を保証し、倫理面での監視を行うことは不可欠である。そのため臨床研究終了時にはモニタリングを行い病院長、責任医師宛に報告書を提出している。

æ" トランスレーショナルリサーチ・コーディネーター((TRC)活動：臨床研究を行ううえで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。特に新たな知見・治療概念に基づくトランスレーショナルリサーチでは被験者の倫理面での配慮が通常の治験よりも要求される。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を組織が組織され、共同してトランスレーショナルリサーチの倫理的・科学的な施行を監視している。

æ» 医療事故対策：近年、医療事故防止、リスクマネジメントの重要性が急速に増している。医療安全管理部ではアクシデント、インシデント報告に基づいて対策を講じる他、医療事故防止のために講習会の開催や附属病院内各部署との連携を行っている。

Division of Clinical Trial Safety Management (DCTSM) was established on April 2001 in the Research Hospital to watch the safety and ethics of translational researches. DCTSM also plays important roles on the prevention of medical accidents and risk management in the Research Hospital.

æ, Advices on protocols and pre review of the protocols for translational researches: Appropriate protocol is indispensable to carry out the clinical trials scientifically and ethically. For the researchers help, we give advices on the protocols according to the researchers needs. We ask principle investigators to submit the protocol so as to give advices and to point out the safety issues before the Institutional Review Board. Our tasks on advices for protocol are not restricted to the protocol which will be performed in the Research Hospital.

æ,, Monitoring after the completion of the study: To check the process of the study, procedures, and examination and reports on Adverse Events is essential for clinical studies, even if the Institutional ones, to guarantee the quality and ethics of studies. We perform the monitoring after the completion of study, and submit the report to Director of the Research Hospital and principal investigator.

æ" Acts of Translational Research Coordinator (TRC): We are doing of the watch of translational research in collaboration with TRC, which are organized by co medical staffs, including nurse, pharmacist, psychologist, dietician and clinical laboratory technologist. Translational Researches are based on novel technologies and concepts for treatments, cautions to protect patients' rights and careful treatments are required in comparison with the ordinal clinical trials.

æ» Prevention for medical accidents: Importance of risk management and prevention for medical accidents are growing rapidly. We manage the system of the Research Hospital based on Accident/Incident Reports. We also take place the Instructions for prevention.

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。

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。

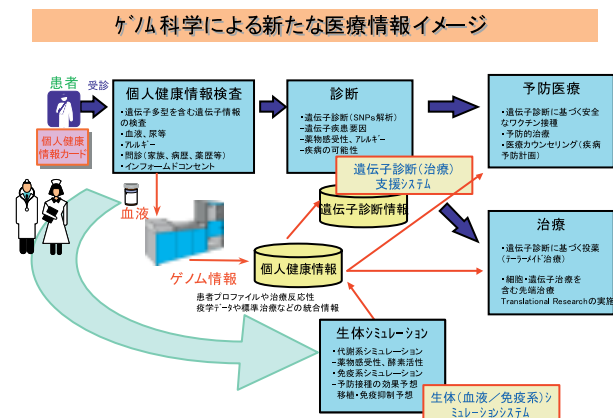
The purpose of the Division of Medical Information System is to develop and maintain the hospital information system for clinical security and improvement of medical processes. Some action programs of the division are as follows.

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。各研究分野の教官は医学系、理学系、農学生命科学、薬学系、情報理工学系研究科のいずれかの協力講座の教官として、大学院学生を受け入れている。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、教官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、学生も教官も、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、講座制の大学とは異なった特色であろう。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。医科学研究所は独自の大学院制度（独自専攻）を創設する方向で準備を進めている。

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, is prominent as an institution for graduate education. It provides an ideal environment for young people interested in following a career in scientific research. Almost all students are graduate students. The professors and staffs do not have heavy teaching obligations and can thus concentrate on guiding students in their laboratory research. The students and staffs are quite diverse in their educational backgrounds. The departments/divisions are frequently collaborating and closely interacting each other. The institute has its own programs in graduate training and is currently discussing to establish its own graduate school.

The programs provided by the Institute include graduate laboratory courses, and graduate seminar series.

In the graduate laboratory courses, each of the divisions provides a short (1 to 2 weeks) laboratory course to several graduate students. This is an excellent curriculum for introduction to the various fields by the researchers actively engaged in them.

The graduate seminar series is 6-month long seminar series by speakers invited from all over the country. The graduate students are involved in choosing the series theme.

The Institute has excellent computer facilities. Courses in gene informatics are frequently held to train beginners. There are many computer experts in the Human Genome Center and in other departments.

The students learn the most recent developments from distinguished speakers in Japan and from abroad in frequent IMS (Gakuyukai) seminars and other informal seminars.

The library is open 24 hours per day. There are facilities for computerized literature survey.

案内図 LOCATION AND TRANSPORTATION



交通機関

- V 営団地下鉄南北線・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 東京駅南口行または 大井競馬場行で、白金台駅前下車。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、白金台駅前下車。
- Y 営団地下鉄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

MEMO

MEMO

平成14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)