

東京大学医科学研究所概要

**THE INSTITUTE
OF MEDICAL
SCIENCE
THE UNIVERSITY
OF TOKYO**



2006

医科学研究所は、1892年に設立された私立衛生会附属伝染病研究所を前身としています。創立時より細菌学を中心とした微生物学・免疫学の基礎研究を展開するとともに、病院を擁し、研究所で製造したワクチンや抗血清を用いて診療に当たっていました。すでに基礎から臨床への橋渡し研究“トランスレショナルリサーチ”を実践していたといえます。1967年に、伝染病を主な研究対象とする伝染病研究所は医科学研究所に改組されました。この改組にあたってはいろんな議論がありました。ひとつは研究所のあり方についての本質的な議論でした。二つの考え方があり、一つは「大学附置研究所は本来比較的限局された明確な研究課題を持ち、その標榜課題に向かって研究所の全力を集中すべきである」という考えであり、もう一つは、「東京大学のようにわが国を代表する総合大学では、比較的自由に問題を取り上げ重点的に複数の柱を持って研究を行う研究所があっべき」という考えです。後者の考え方が多くの大学人に支持され、特定のミッションを明確にした名前ではなく、「医科学研究所」という多様性を容認する名前がつけられました。ただし、疾病を対象とする研究所であり、改組後も引き続き病院を附属させ続けることとなりました。

生命科学、基礎医学研究の成果をいち早く臨床の場に生かすためにはトランスレショナルリサーチの実践の仕組みを構築することが重要であるという認識の下、わが国のみならず米国をはじめとする先進国ではそのための施策が講じられています。現在、わが国の大学で医学部附属病院と独立した病院を有しているのは医科学研究所だけであり、高度な医療レベルを保ち重篤疾患を対象としたトランスレショナルリサーチを実践するモデルを提供することが期待されています。改組以来医科学研究所は「がん」「感染症」を中心に「その他の難治疾患」も視野に入れた基礎研究を展開し、国際的に高く評価される成果をあげています。医科学研究所の基礎研究部門で生み出される成果のみならず、「がん」「感染症」を中心とした外部の疾患研究の成果とも連携して先端医療開発を強力に推進することは、高いレベルの研究を推進することとあわせて、医科学研究所の使命といえます。

基礎医学、生命科学を深め、そこから得られる多くの情報を統合的に理解し、さらにその理解に基づいて先端的な医療を開発するために、医科学研究所では教職員、研究員、大学院生約1,000人が、白金台キャンパスで、奄美実験施設で、そして北京感染症拠点で活動しています。

所長 山本 雅



The predecessor of the Institute of Medical Science was founded as a private institute in 1892 under the name "The Institute for Infectious Disease". Focused since its founding on expanding basic research in microbiology and immunology and at the same time possessing a hospital, the institute produced vaccines and antisera, and applied these effectively in medical diagnosis and treatment. Bridging fundamental studies with clinical application, it is fair to say that they were already practicing translation research. In 1967, having up until then targeted its research mainly against communicable diseases, the Institute for Infectious Disease was reorganized into the Institute of Medical Science. At the time of this reorganization, there was much heated debate. The essential dispute was over the proper role of a single research institute, and there were two lines of thinking. The first was that "a university affiliated research institute, by its nature, should have a relatively clear and confined research task, and concentrate all its energies and research on championing that task." The opposing argument was that "at a flagship university of our country such as the University of Tokyo, it is most appropriate for an institute to have multiple pillars of research with relative freedom to take up research tasks." The people of the university mostly supported the latter way of thinking, saying that it was not necessary to define a specific mission by giving it a name, and instead chose "Institute of Medical Science," a name connoting approval for research diversity. However, as a research institute targeting illness, it was decided that the institute should continue to maintain its affiliated hospital following the reorganization.

In order to speed the movement of results from life science and basic medical research to the clinic, advanced countries such as ours as well as the USA implement policies to create systems for putting translational research into practice. Currently among our country's universities, the Institute of Medical Science, University of Tokyo (IMSUT) is the only medical research institute to have its own independently affiliated hospital, and it is anticipated that it can offer a model for implementing translational research targeting serious illnesses with high level medical care. Since its reorganization, IMSUT has expanded basic research with emphasis on cancer and infectious diseases while also including other serious ailments in its sphere of research, and has garnered high international recognition for its accomplishments. Besides promoting high level research in IMSUT's own basic research departments, IMSUT is to cooperate with external research on cancer and infectious diseases to contribute powerfully to the development of state-of-the-art medical treatment.

The teaching staff, researchers and graduate students of IMSUT, together about 1000 individuals carrying out their activities on the Shirokanedai campus, the Amami Research Facility, and the Beijing Joint Laboratories, are deepening our knowledge of basic medical and life science, taking gathered information to achieve integrated insights, and then taking those insights as the basis for developing leading edge medical care.

Tadashi Yamamoto, Ph. D., Dean



平成18年6月1日撮影。ここにいる出席者は全職員のほぼ3分の1にあたる。

沿革

HISTORY 4

機構

ORGANIZATION 6

研究活動

RESEARCH ACTIVITIES

感染・免疫部門

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

Department of Microbiology and Immunology 12

- Division of Bacterial Infection 13
- Division of Immunology 14
- Division of Host-Parasite Interaction 15
- Division of Virology 16
- Division of Infectious Genetics 17
- Division of Mucosal Immunology 18

癌・細胞増殖部門

- 癌細胞シグナル分野
- 腫瘍細胞社会学分野
- 癌遺伝形質分野
- 分子発癌分野
- 腫瘍分子医学分野(1)
- 腫瘍分子医学分野(2)
- 腫瘍抑制分野

Department of Cancer Biology 19

- Division of Oncology 20
- Division of Cancer Cell Research 21
- Division of Cancer Genomics 22
- Division of Cellular and Molecular Biology 23
- Division of Biochemistry(1) 24
- Division of Biochemistry(2) 25
- Division of Genetics 26

基礎医科学部門

- 分子細胞情報分野
- 神経ネットワーク分野
- 分子構造解析分野
- 脳神経発生・分化分野
- 遺伝子動態分野(1)
- 遺伝子動態分野(2)

Department of Basic Medical Sciences 27

- Division of Molecular Cell Signaling 28
- Division of Neuronal Network 29
- Division of Biomolecular Imaging 30
- Division of Molecular Neurobiology 31
- Division of Molecular Biology(1) 32
- Division of Molecular Biology(2) 33

寄付研究部門等

DONATION LABORATORIES

- 細胞プロセッシング(CERES)寄付研究部門
- 細胞ゲノム動態解析(ピー・エム・エル)寄付研究部門
- 幹細胞組織医工学(日立プラントテクノロジー・デニックス・アルブラスト)寄付研究部門
- 再生基礎医科学(オリエンタル・トミー・ソフトバンク)寄付研究部門
- 探索医療ヒューマンネットワークシステム(アインファーマシーズ)寄付研究部門
- バイオスタティスティクス人材養成ユニット
- 先端臨床プロテオミクス共同研究ユニット
- 研究拠点形成治療ベクター開発室
- 研究拠点形成ゲノム医療プロジェクト推進
- 研究拠点形成間葉系幹細胞プロジェクト推進
- 文部科学省再生医療の実現化プロジェクト幹細胞探索領域
- 文部科学省再生医療の実現化プロジェクト幹細胞制御領域

Division of Cell Processing (CERES) 34

Division of Cellular Peptomics (BML) 35

Division of Stem Cell Engineering (Hitachi Plant Technologies, Denics, ArBlast) 36

Division of Molecular and Developmental Biology (Oriental・Tomy・Softbank) 37

Division of Exploratory Research (Ain Pharmaciez) 38

Laboratory of Biostatistics (Biostatistics Training Unit) 39

Division of Advanced Clinical Proteomics 39

Core Facility For Therapeutic Vectors 40

Promotion of Genome Based Medicine Project 40

Mesenchymal Stem Cell Project 41

Project of Developmental Stem Cells 41

Laboratory of Stem Cell Regulation 42

附属研究施設

ヒトゲノム解析センター
ゲノムデータベース分野
DNA情報解析分野
ゲノムシーケンス解析分野
シーケンス技術開発分野
シーケンスデータ情報処理分野
機能解析イン・シリコ分野
ヒト疾患モデル研究センター
高次機能（幹細胞治療）研究分野
細胞機能研究分野
遺伝子機能研究分野
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
感染症国際研究センター
高病原性感染症研究部門
感染制御部門微生物学分野
感染制御部門ウイルス学分野
感染制御部門細菌学分野
病原微生物資源室
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
アジア感染症研究拠点
附属病院
先端診療部
血液腫瘍内科
感染免疫内科
小児細胞移植科
アレルギー免疫科
ゲノム診療部
放射線科・放射線部
腫瘍外科
関節外科
麻酔科・手術部
医療安全管理部
医療情報部
セルプロセッシング・輸血部
中央材料部
検査部

教育活動

RESEARCH FACILITIES

Human Genome Center	43
Laboratory of Genome Database	44
Laboratory of DNA Information Analysis	45
Laboratory of Molecular Medicine	46
Laboratory of Genome Technology	47
Laboratory of Sequence Analysis	48
Laboratory of Functional Analysis <i>in Silico</i>	49
Center for Experimental Medicine	50
Laboratory of Stem Cell Therapy	51
Laboratory of Cell Biology	52
Laboratory of Gene Expression & Regulation	53
Advanced Clinical Research Center	54
Division of Molecular Therapy	55
Division of Cellular Therapy	56
Division of Infectious Diseases	57
Division of Bioengineering	58
Division of Clinical Immunology	59
Division of Medical Data Processing Network System	60
International Research Center for Infectious Diseases	61
Department of Special Pathogens	62
Division of Microbial Infection	63
Division of Viral Infection	64
Division of Bacteriology	65
Pathogenic Microbes Repository Unit	66
Laboratory Animal Research Center	67
Laboratory of Molecular Genetics	68
Amami Laboratory of Injurious Animals	69
Research Center for Asian Infectious Diseases	70
Research Hospital	71
Department of Advanced Medical Science	72
Department of Hematology/Oncology	73
Department of Infectious Diseases and Applied Immunology	74
Department of Pediatric Hematology/Oncology	75
Department of Rheumatology and Allergy	76
Department of Applied Genomics	77
Department of Radiology	78
Department of Surgery	79
Department of Joint Surgery	80
Department of Anesthesia and Surgical Center	81
Department of Clinical Trial Safety Management	82
Department of Medical Information System	83
Department of Cell Processing and Transfusion	84
Department of Medical Supply Center	85
Department of Laboratory Medicine	86

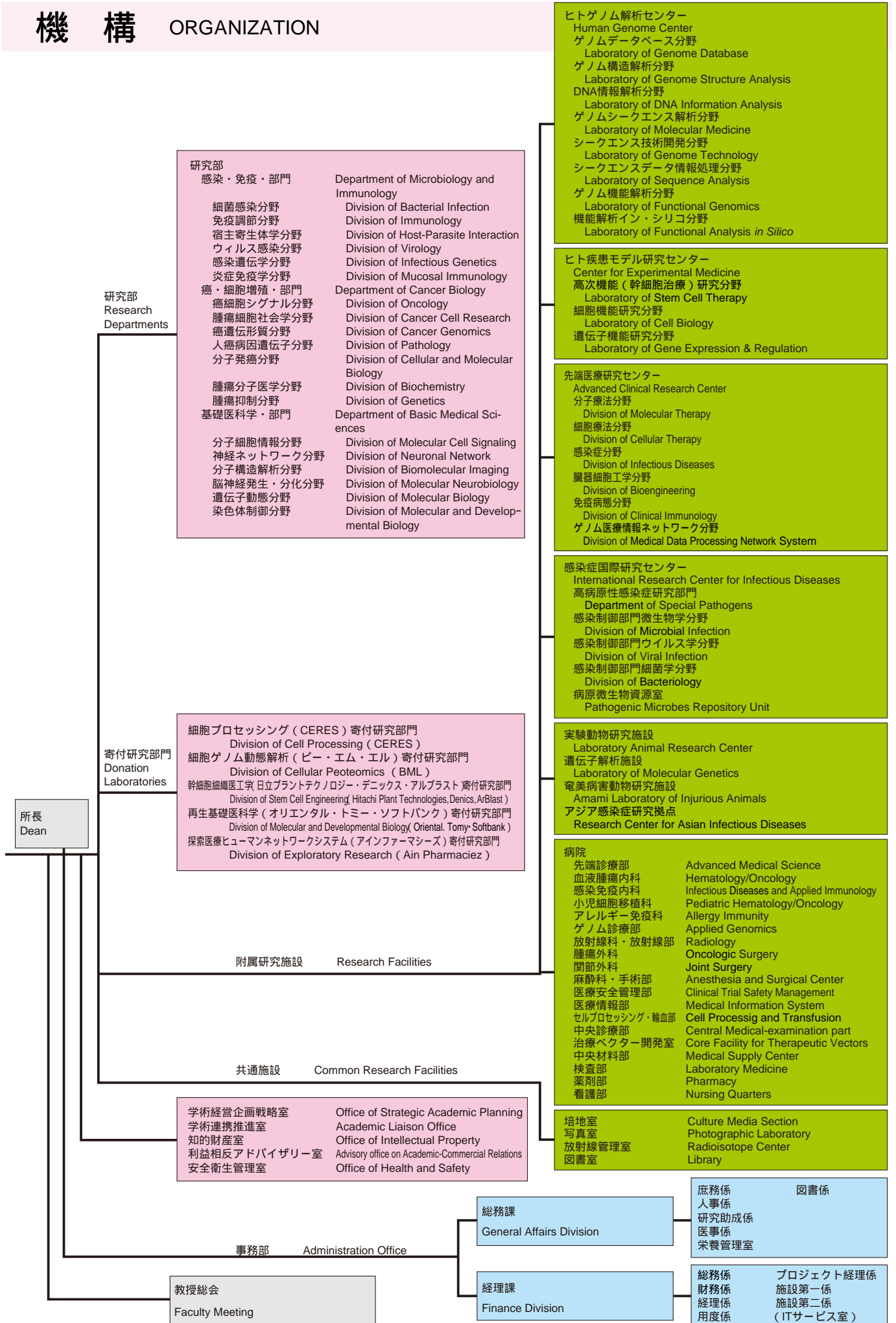
EDUCATION	87
-----------	----

沿革 HISTORY

- 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。
- 平成12年：遺伝子制御(エーザイ)寄付研究部門が終了した。
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、新たに分子療法分野、細胞療法分野、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 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 100th 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 though renamed in Japanese, retained the same English name.
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 re-named to Division of Molecular Therapy, Division of Cel-

- ンスデータ情報処理分野，ゲノム機能解析分野，機能解析イン・シリコ分野）の増設が認められた。
微生物株保存施設が廃止された。
ゲノム情報応用診断（大塚製薬）寄付部門が設けられた。
ゲノム知識発見システム（日立）寄付研究部門が終了した。
細胞プロセッシング（旭化成）寄付研究部門が旭化成とニッショーの2社の寄付研究部門として再発足した。
- 平成13年：病院が改組され，病院のエイズ診療部が廃止され，病院にゲノム診療部，医療安全管理部，先端医療研究センターに免疫病態分野が新設された。同時に，内科，外科，小児細胞移植科，感染免疫内科，臓器移植科を廃止し，内科，外科，放射線科の3診療科に統合された。
プロテオーム解析（ABJ & Millipore）寄付研究部門が設けられた。
近代医科学記念館を開設した。
- 平成14年：細胞ゲノム動態解析（ビー・エム・エル）寄付研究部門が設けられた。
- 平成15年：総合研究棟・新病院棟が竣工した。バイオスタティスティクス人材養成ユニット（京都大学 医科学研究所）が設けられた。神経情報シグナル共同研究ユニット（NTT 医科学研究所）が設けられた。
幹細胞組織医工学（歯胚再生学）（デニックス・日立メディコ）寄付研究部門が設けられた。
- 平成16年：国立大学法人法（平成15年法律第112号）により東京大学は国立大学法人東京大学と改称となった。
先端臨床プロテオミクス共同研究ユニット（島津製作所・凸版印刷）が設けられた。
機能プロテオミクス共同研究ユニット（幸良会）が設けられた。
- 平成17年：感染症国際研究センターが新設されその下に高病原性感染症部門，病原性微生物資源室，感染制御部門が新設された。さらに感染制御部門の下に微生物学分野，細菌学分野，ウイルス学分野の3分野が新設された。
再生基礎医科学（オリエンタル・トミー・ソフトバンク）寄付研究部門が設けられた。
探索医療ヒューマンネットワークシステム（アインファーマシーズ）寄付研究部門が設けられた。
- 平成18年：アジア感染症研究拠点が開設された。
幹細胞組織医工学（歯胚再生学）（デニックス・日立メディコ）寄付研究部門が幹細胞組織医工学（日立プラントテクノロジー・デニックス・アルプラスト）寄付研究部門として再発足した。
- 2001：Department of Clinical AIDS Research was reorganized into Department of Genomic Medicine and Department of Safety Management in the Hospital, and Division of Clinical Immunology in the Advanced Clinical Research Center. At the same time, five clinical departments were unified into three Departments of Internal Medicine, Surgery and Radiology.
Donation Division of Proteomics Research (ABJ & Millipore).
The Medical Science Museum was built and opened.
- 2002：Donation Division of Cellular Proteomics (BML).
- 2003：General Research Building and Hospital Building were completed. Three donation laboratories/divisions were established.
Donation Laboratory of Biostatistics (Kyoto univ IMSUT)
Donation Division of Neural Signal Information (NTT IMSUT)
Donation Division of Stem Cell Engineering (Tooth Regeneration) (Denics, Hitachi Medical)
- 2004：The University of Tokyo became the National Universities corporation University of Tokyo and was renamed in accordance with the law establishing the National Universities corporation (Heisei 15 law No. 112).
Donation Division of Advanced Clinical Proteomics (Shimadzu, Toppan).
Donation Division of Functional Proteomics Research (Koryokai).
- 2005：The Division of Special Pathogens, the Division of Infectious Disease Control, and the Pathogenic Microbes Repository Unit were newly established, each within the newly established International Research Center for Infectious Diseases.
In addition, the Division of Microbiological Infection, Division of Viral Infection and Division of Bacterial Infection were newly established.
Donation Division of Molecular and Developmental Biology (Oriental, Tomy, Softbank).
Donation Division of Exploratory Research (Ain Pharmaciez).
- 2006：Research Center for Asian Infectious Diseases .
Donation Division of Stem Cell Engineering (Hitachi Plant Technologies, Denics, ArBlast).

機 構 ORGANIZATION



構内配置図

MAP OF THE INSTITUTE



1号館



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

4号館



- 4階 免疫調節分野・免疫病態分野
- 3階 細胞機能研究分野
- 2階 宿主寄生体学分野・感染遺伝学分野
- 1階 RI研究施設・放射線管理室
- 地階 RI研究施設

合同ラボ棟



- 3階 再生基礎医科学(オリエンタル・トミー・ソフトバンク)部門・幹細胞組織工医学(日立プラント・デニックス・アルプラス)部門・探索医療ヒューマンネットワークシステム(アインファーマシーズ)寄附研究部門
- 2階 細胞ゲノム動態(ビー・エム・エル)部門
- 1階 遺伝子動態分野・細胞ゲノム動態(ビー・エム・エル)部門

アムジェンホール

- 1階 新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻

旧ゲノム解析センター

- 2階 バイオスタティスティクス人材養成ユニット
- 1階 先端臨床プロテオミクス共同研究ユニット

臨床研究A棟

- 4階 細胞プロセッシング (CERES)
- 3階 細胞プロセッシング (CERES)・治療ベクター開発室
- 2階
- 1階 高次機能(幹細胞治療)研究分野
- 地下1階 先端医療研究センター
- 地下2階 ゲノムシークエンス解析分野

2号館



- 4階 オープンスペースラボ(予定)
- 3階 新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻(予定)
- 2階 新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻(予定)
- 1階 オープンスペースラボ(予定)・図書閲覧室(予定)
- 地階 分子構造解析分野(予定)

ヒトゲノム解析センター



- 4階 ゲノムデータベース分野・シークエンスデータ情報処理分野
- 3階
- 2階 理化学研究所
- 1階 放射線管理室

附属病院A棟(病院棟)



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

附属病院B棟

- 地下1階 検査部

附属病院C棟

- 2階 放射線科・関節外科
- 1階 セルフプロセッシング・輸血部

臨床研究B棟

- 1階 細胞療法分野

研究棟(別館)

- 2階 高次機能(幹細胞治療)研究分野(幹細胞制御領域)・FACSフロアボトリー
- 1階 癌遺伝形質分野

近代医科学
記念館

3号館



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

動物センター



実験動物センター

総合研究棟



- 8階 機能解析イン・シリコ分野・DNA情報解析分野
- 7階 ゲノムシークエンス解析分野
- 6階 シークエンス技術開発分野・理化学研究所
- 5階 遺伝子動態分野・腫瘍抑制分野
- 4階 分子細胞情報分野・炎症免疫学分野
- 3階 ウイルス感染分野・細菌感染分野・病原微生物資源室
- 2階 高次機能(幹細胞治療)研究分野・実験動物研究施設
- 1階 遺伝子機能研究分野・分子発癌分野
- 地下1階 実験動物センター
- 地下2階 機械室

クレストホール

- 2階 遺伝子動態分野
- 1階 先端臨床プロテオミクス共同研究ユニット

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
	m ²	m ²	m ²
港 区 地 区	68,907		
研 究 所		11,885	54,764
病 院		4,093	23,102
小 計	68,907	15,978	77,866
奄 美 地 区	8,834	805	805
計	77,741	16,783	78,671

(平成16.5.1現在)

主要建物内訳

名 称	構 造	建面積	延面積	建築年月
		m ²	m ²	
1 号 館	鉄筋コンクリート造3階建(一部5階)地下1階	3,533	13,537	昭9.3
2 号 館	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	704	4,141	昭45.3
3 号 館	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	898	5,592	昭58.9
4 号 館	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	834	4,411	平7.2
総 合 研 究 棟	鉄骨鉄筋コンクリート造8階建地下2階	1,415	12,825	平15.3
附属病院A棟(病院棟)	鉄骨鉄筋コンクリート造8階建地下2階	1,539	15,767	平15.3
附属病院B棟(旧診療棟)	建鉄筋コンクリート造2階建地下1階	815	2,156	昭53.3
附属病院C棟(旧MRI棟)	鉄筋コンクリート造2階建	225	457	平8.3
旧リニアック室	鉄筋コンクリート造平屋建	63	63	昭39.10
旧シンチスキャナー室	鉄筋コンクリート平屋建	77	77	昭46.3
解 剖 室	鉄筋コンクリート造平屋建	153	153	昭15.10
臨 床 研 究 A 棟	鉄筋コンクリート造5階建地下2階	252	2,542	昭48.3
臨 床 研 究 B 棟	コンクリートブロック造平屋建	268	268	昭41.3
ベクター開発室	鉄骨造平屋建	231	231	平14.3
研究棟(別館)	耐火造混用2階建	239	468	昭17.3
合 同 ラ ボ 棟	鉄骨造3階建	670	1,995	平13.3
ヒトゲノム解析センター	鉄筋コンクリート造4階建地下1階	842	4,554	平9.3
動 物 セ ン タ ー	鉄筋コンクリート造5階建地下1階	475	3,798	昭45.12
アムジェンホール	鉄骨造2階建	241	482	平8.3
旧ゲノム解析センター	鉄骨造2階建	267	536	平4.2
クレストホール	鉄骨造2階建	249	480	平9.3
看 護 師 宿 舎	鉄筋コンクリート造3階建(一部4階)	457	1,375	平6.3
集 会 所	木造平屋建	248	248	昭25.10
白 金 ホ ー ル	鉄骨造2階建	396	624	平12.1
近代医科学記念館	鉄筋コンクリート造1階建	304	303	平13.3
そ の 他 建 物	倉庫等(外国人宿舎及び国際交流会館は含まない)	583	783	
計		15,978	77,866	

予 算 ACCOUNTS

予 算

(平成17年度)

【運営費交付金】

(単位：千円)

	研 究 所	病 院	計
人 件 費	1,878,391	1,126,915	3,005,306
物 件 費	2,615,403	2,480,466	5,095,869
計	4,493,794	3,607,381	8,101,175

【外部資金】

研究費補助金	1,814,999
受託研究費	2,649,078
共同研究	779,666
寄附金	195,557
計	5,439,300

病 院

1. 病床数

(平成18.3現在)

内 科 感染免疫内科	外 科	計
100	35	135床

2. 患者延数

(平成17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	19,012	2,988	67	1,436	23,503
入 院	17,767	6,581	24	0	24,372

3. 病院収入

(平成17年度)

外 来	入 院	計
1,011,591,471	1,368,869,101	2,380,460,572

図 書

(平成18.3未現在)

	洋 書	和 書	計
蔵 書	57,067	9,713	66,780
定期刊行物	963	320	1,283種類

職員 STAFF

所 長 山 本 雅
Dean Tadashi Yamamoto

現員（平成18.5現在）

		研究所 Institute	病 院 Hospital	計 Total
教 授	Professor	33	1	34
助教授	Associate Professor	19	6	25
講 師	Lecturer	5	6	11
助 手	Research Associate Clinical Associate	62	16	78
事務職	Official	30	6	36
技術職	Technical Official	46	105	151
計		195	140	335

客員教授等（寄付研究部門） Visiting Faculties

	細 胞 プロセス	細胞ゲノム 動態解析	幹細胞組織医 工 学	再生基礎 医 科 学	探索医療 ヒューマン ネットワーク ワークシステム	計
客員教授	1	1	1(委嘱)	1	0	4
客員助教授	1	1	1	0	1	4
教員(助手相当)	2	4	1	1	2	10

大学院生 Graduate Students

（平成18.4現在）

研 究 科	修 士	博 士	計
医 学 系	4	151	155
理 学 系	15	23	38
農学生命科学	0	2	2
薬 学 系	0	3	3
情報理工学系	3	2	5
新領域創成科学	73	29	102
計	95	210	305

研 究 生	Research Students	16
-------	-------------------	----

事 務 部 Administration

事務部長 關 正 敬
Secretary General Masahiro Seki

総務課長	糸 井 和 昭	経理課長	鈴 木 敏 人
総務課副課長	小 林 建 夫	経理課副課長	塩 田 俊 仁
専門員	坏 源 洋	専門員	新 妻 一 三
栄養管理室長	畠 山 高 年	主 査	高 野 晃 宏
庶務係長	菊 地 みつ子	総務係長	眞 鍋 浩 二
人事係長	古宇田 稔	財務係長	西 村 勇樹雄
研究助成係長	渡 邊 隆 之	経理係長	藤 崎 聖 一
医事係長(兼)	坏 源 洋	用度係長	石 塚 泰 史
図書係長	柳 原 恵 子	施設第一係長	山 本 雅 久
		施設第二係長(兼)	高 野 晃 宏
		プロジェクト経理係長	佐 納 悠 司

歴代所長

FORMER DEANS

初代	北里	柴三郎	明25.11.30 ~ 大3.11.5	Shibasaburo Kitasato	1892 ~ 1914
事務取扱	福原	鎌二郎	大3.11.5 ~ 大4.1.15	Ryojiro Fukuhara	1914 ~ 1915
第2代	青山	胤通	大4.1.15 ~ 大5.3.31	Tanemichi Aoyama	1915 ~ 1916
第3代	林	春雄	大5.4.1 ~ 大8.6.4	Haruo Hayashi	1916 ~ 1919
第4代	長与	又郎	大8.6.4 ~ 昭9.2.1	Mataro Nagayo	1919 ~ 1934
第5代	宮川	米次	昭9.2.1 ~ 昭15.11.20	Yoneji Miyagawa	1934 ~ 1940
第6代	三田村	篤志郎	昭15.11.20 ~ 昭19.5.13	Tokushiro Mitamura	1940 ~ 1944
第7代	田宮	猛雄	昭19.5.13 ~ 昭24.3.31	Takeo Tamiya	1944 ~ 1949
第8代	長谷川	秀治	昭24.3.31 ~ 昭31.3.15	Shuji Hasegawa	1949 ~ 1956
第9代	武田	徳晴	昭31.3.15 ~ 昭31.12.1	Yoshiharu Takeda	1956 ~ 1956
第10代	長野	泰一	昭31.12.1 ~ 昭33.12.1	Yasuichi Nagano	1956 ~ 1958
第11代	工藤	正四郎	昭33.12.1 ~ 昭40.4.1	Masashiro Kudo	1958 ~ 1965
第12代	山本	郁夫	昭40.4.1 ~ 昭43.11.14	Ayao Yamamoto	1965 ~ 1968
第13代	佐々	之学	昭43.11.14 ~ 昭46.7.22	Manabu Sasa	1968 ~ 1971
事務取扱	常松	之典	昭46.7.22 ~ 昭46.12.31	Yukinori Tunematu	1971 ~ 1971
第14代	佐々	之学	昭47.1.1 ~ 昭48.6.30	Manabu Sasa	1972 ~ 1973
第15代	山下	本条	昭48.7.1 ~ 昭52.3.31	Tadashi Yamamoto	1973 ~ 1977
第16代	積田	寛人	昭52.4.1 ~ 昭54.3.31	Hiroto Shimojo	1977 ~ 1979
第17代	小高	亨健	昭54.4.1 ~ 昭58.3.31	Toru Tsumita	1979 ~ 1983
第18代	小豊	久真男	昭58.4.1 ~ 昭62.3.31	Takeshi Odaka	1983 ~ 1987
第19代	木幡	陽	昭62.4.1 ~ 平2.3.31	Kumao Toyoshima	1987 ~ 1990
第20代	廣澤	一成	平2.4.1 ~ 平4.3.31	Akira Kobata	1990 ~ 1992
第21代	吉田	光昭	平4.4.1 ~ 平8.3.31	Kazushige Hirosawa	1992 ~ 1996
第22代	新井	賢一	平8.4.1 ~ 平10.3.31	Mitsuaki Yoshida	1996 ~ 1998
第23代	山本	雅	平10.4.1 ~ 平15.3.31	Ken-ichi Arai	1998 ~ 2003
第24代			平15.4.1 ~	Tadashi Yamamoto	2003 ~

歴代病院長

FORMER DIRECTORS OF THE RESEARCH HOSPITAL

初代	高木	友枝	明28.9.16 ~ 明29.7.30	Tomoe Takagi	1895 ~ 1896
第2代	守屋	伍造	明32.4.5 ~ 明34.5.13	Gozou Moriya	1899 ~ 1901
第3代	柴山	五郎作	明34.5.14 ~ 大3.6	Gorosaku Shibayama	1901 ~ 1914
第4代	二木	謙三	大3.11.5 ~ 大9.12.4	Kenzo Futaki	1914 ~ 1920
第5代	宮川	米次	大9.12.4 ~ 昭20.10.3	Yoneji Miyagawa	1920 ~ 1945
事務取扱	田宮	猛雄	昭20.10.3 ~ 昭21.3.9	Takeo Tamiya	1945 ~ 1946
第6代	美甘	義夫	昭21.3.9 ~ 昭26.10.30	Yoshio Mikamo	1946 ~ 1951
第7代	北本	治雄	昭26.11.1 ~ 昭44.3.31	Osamu Kitamoto	1951 ~ 1969
第8代	石橋	幸雄	昭44.4.1 ~ 昭46.3.31	Yukio Ishibashi	1969 ~ 1971
第9代	石稻	綱政	昭46.4.1 ~ 昭49.3.31	Tsunamasa Inou	1971 ~ 1974
第10代	真下	啓明	昭49.4.1 ~ 昭52.3.31	Keimei Mashimo	1974 ~ 1977
第11代	大谷	杉士	昭52.4.1 ~ 昭56.3.31	Sugishi Ootani	1977 ~ 1981
第12代	藤井	源七郎	昭56.4.1 ~ 昭60.3.31	Genshitiro Fujii	1981 ~ 1985
第13代	三輪	史朗	昭60.4.1 ~ 昭62.3.31	Shiro Miwa	1985 ~ 1987
第14代	秋山	暢夫	昭62.4.1 ~ 平3.3.31	Nobuo Akiyama	1987 ~ 1991
第15代	島田	馨隆	平3.4.1 ~ 平6.3.31	Kaoru Shimada	1991 ~ 1994
第16代	浅野	茂隆	平6.4.1 ~ 平15.8.31	Shigetaka Asano	1994 ~ 2003
第17代	岩本	愛吉	平15.9.1 ~ 平18.8.15	Aikichi Iwamoto	2003 ~ 2006
第18代	山下	直秀	平18.8.16 ~	Naohide Yamashita	2006 ~

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。

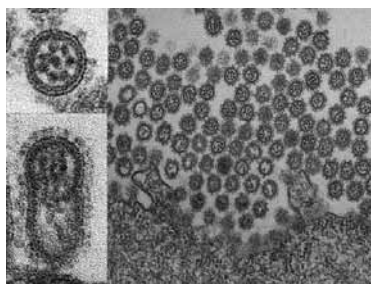


図1 インフルエンザウイルスのゲノムRNAは8本にわかれており、これらは核蛋白質やポリメラーゼとともにRNP複合体を形成している。ウイルスが増殖する際、RNP複合体がどのようにウイルス粒子内に取り込まれるのかは長年の謎だったが、規則的に並ぶ8本のRNPが1セットとなって取り込まれることが明らかになった。

Figure 1 The genome of influenza A virus is fragmented into eight RNP complexes in which the RNA segments are associated with viral polymerase and nucleoprotein. However, the mechanisms how these RNPs are incorporated into virions is not understood. Recently we revealed that a set of eight RNPs that were arranged in a distinct pattern (a central complex surrounded by seven peripheral complexes) was incorporated into each virion.

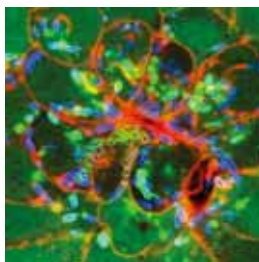


図2 赤痢菌に感染したMDCK細胞 緑：LC3(オートファジー), 赤：phalloidin(アクチン), 青：LPS(赤痢菌)

Figure 2 Autophagy induced by the Shigella. Accumulation of GFP-LC3 around bacteria is shown. MDCK/GFP-LC3 cells infected with the Shigella icsB mutant for 4 h have been stained with anti-LPS antibody (blue) and rhodamine-phalloidin (red)

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

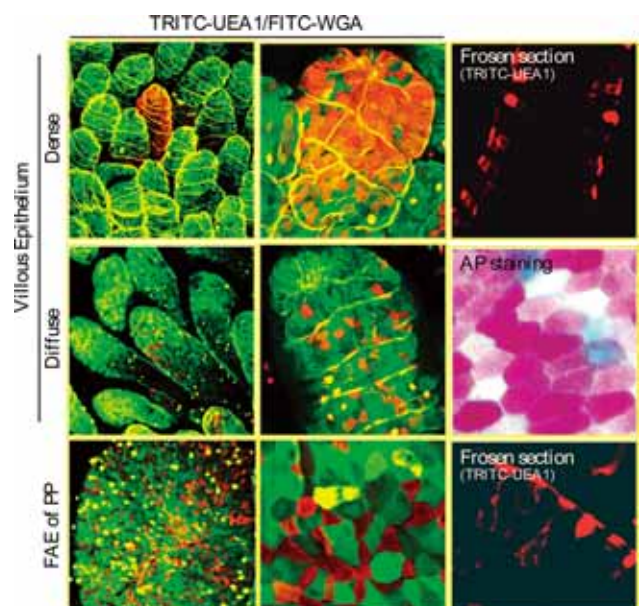


図3 Villous M Cell(絨毛M細胞)の発見
Fig. 3 Discovery of intestinal villous M cells.

教授	医学博士	笹川 千尋	Professor: Chihiro Sasakawa, D.M. Sc.
助手	医学博士	小川 道永	Research Associate: Michinaga Ogawa, D.M. Sc.
助手	医学博士	三室 仁美	Research Associate: Hitomi Mimuro, D.M. Sc.
助手	医学博士	鈴木 仁人	Research Associate: Masato Suzuki, D.M. Sc.

本研究分野では、主要な消化器系粘膜病原細菌である赤痢菌、ヘリコバクターピロリ、腸管病原性大腸菌の病原性および感染成立にいたる細菌と宿主の相互作用を分子レベルで明らかにすることを目標に研究を行っている。さらにその知見をもとに、ワクチンの開発、マウス等動物を用いた疾患モデルの開発ならびに細菌感染症の診断、予防、治療等へ応用することを意図している。

(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割を占める細菌性赤痢の起因菌である。本菌は腸管下部に到達後粘膜上皮へ侵入する。さらに上皮細胞内では菌体の一極でアクチン重合を誘導して細胞内・隣接細胞へ拡散する。赤痢菌の粘膜上皮への感染に伴う細胞内のシグナル伝達、細胞骨格再構成、細胞死誘導機構等を明らかにするとともに、赤痢菌のタイプⅢ分泌装置から分泌されるエフェクター分子による宿主自然免疫応答制御の分子機構を解明する。これらの知見に基づいて新規赤痢ワクチンの開発を行う。

(2) ヘリコバクターピロリ

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

(3) 腸管病原性大腸菌

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

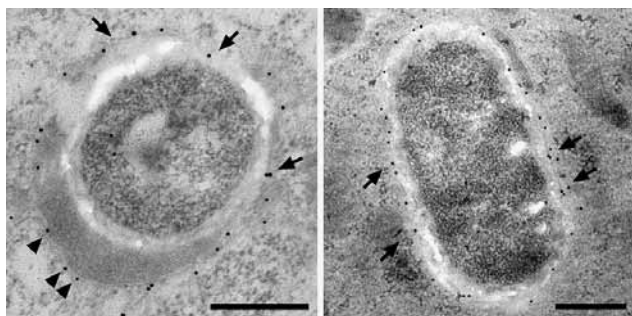


図1 オートファゴソームに捕獲された細胞内赤痢菌（金コロイドはオートファゴソームのマーカータンパク質LC3を示す）

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

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

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

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

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

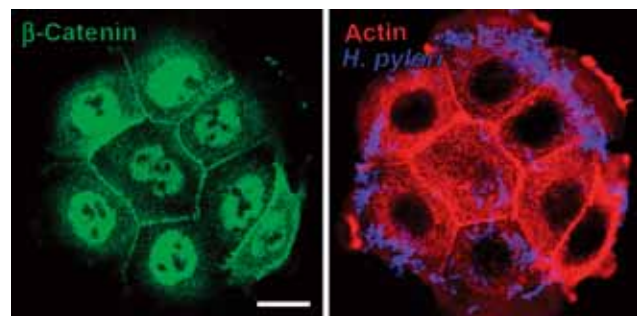


図2 ヘリコバクターピロリ感染による胃上皮細胞のアドヘレンスジャンクションの崩壊

Fig. 2 Breakdown of adherens junctions in *H. pylori* infected gastric epithelial cells.

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 紅 露 拓
 助手 医学博士 刈 米 アイ
 助手 医学博士 長 井 良 憲

Professor: Kiyoshi Takatsu, Ph.D.
 Associate Professor: Satoshi Takaki, M.D., Ph.D.
 Research Associate: Taku Kouro, M.D., Ph.D.
 Research Associate: Ai Kariyone, Ph. D.
 Research Associate: Yoshinori Nagai, 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、IL 5特異的受容体を介して、B細胞や好酸球、好塩基球に作用し、それらの増殖、生存、成熟を制御する。我々はIL 5依存性のB細胞亜集団であるB1細胞に着目し、その前駆細胞を同定し分化経路を明らかにすることで、IL 5のB1細胞分化における役割を解明しようとしている。IL 5は活性化B2細胞に作用し、AIDの発現増強とIgG1へのクラススイッチ組換え (CSR) を誘導することを明らかにしたが、IL 5によるCSR誘導機構をさらに解析し、IL 4との作用の違いを明らかにする。

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

(3) 結核菌由来ペプチドによるTh1/Th2分化機構の研究

ナイーブなヘルパーT (Th) 細胞は至適条件下で抗原刺激を受けると、それぞれ異なるサイトカインを産生する、Th1及びTh2細胞へと分化する。我々は結核菌由来のAg85Bとそのペプチド (Peptide 25) が抗原特異的なTh1細胞分化を選択的に誘導すること、アジュバント活性を示すことを明らかにした。我々の作出したP25 TCR Tgマウスを用いて、Th1/Th2細胞の分化決定機構の解明と分化制御技術の開発を試みている。また、Ag85BとPeptide 25応答T細胞の腫瘍免疫増強効果や、抗結核免疫における役割の解明を目指している。

(4) Toll like receptorシグナルによる造血分化制御の研究

Toll like receptor (TLR) は病原体に共通の構成成分を認識するレセプター分子群である。我々は造血幹細胞を含む造血前駆細胞にTLRが発現し、TLRシグナルによりマクロファージや樹状細胞への分化が誘導されることを見出した。これは感染防御のために自然免疫担当細胞を誘導する一つのメカニズムであると考えられる。造血分化制御におけるTLRシグナルの機能を詳細に検討することで、速やかで有効な自然免疫系の誘導方法の開発を目指している。

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, cytokine receptors, and Toll like receptors.

(1) IL 5 acts on B cells, eosinophils and basophils through its specific receptor. To reveal physiological roles of IL 5/IL 5R system on IL 5 dependent B 1 cells, we are characterizing early progenitors of B 1 cells and their differentiation pathway. We are also investigating molecular mechanisms of IL 5 induced IgG1 class switch recombination of CD38 activated B cells, which include induction of AID expression.

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

(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 and exerts adjuvant activity.

(4) Toll like receptors (TLRs) are known for their ability to recognize microbial components and initiate innate immune responses. We found that TLRs are expressed by hematopoietic stem/progenitor cells and TLR signaling drives the progenitor cells to become macrophages and dendritic cells. This pathogen mediated stimulation of myeloid differentiation pathways may provide a means for rapid replenishment of the innate immune system during infection. We are trying to establish a procedure for rapid and effective induction of innate immune system via TLRs on the progenitor cells.

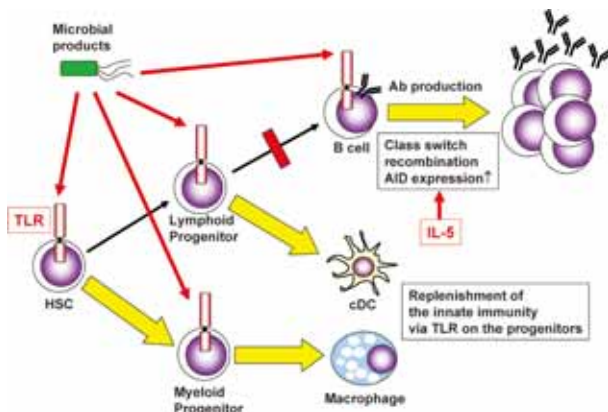


図 TLRによる造血細胞分化制御とIL 5によるB細胞活性化機構
 TLRはB細胞などの成熟免疫細胞のみならず、未分化な造血前駆細胞にも発現している。TLRリガンドの刺激により、B細胞への分化は抑制され、樹状細胞やマクロファージなどの自然免疫担当細胞への分化が促進される。

一方IL 5は受容体であるIL 5レセプターを介して、活性化B細胞に作用し、AIDの発現増強とIgG1へのクラススイッチ組換えを誘導する。

Figure

Replenishment of the innate immunity via TLR and roles of IL 5 in B cell activation.

TLRs are expressed by hematopoietic stem/progenitor cells and their signaling drives the progenitor cells to become macrophages and dendritic cells.

IL 5 induces class switch recombination of activated B cells, which include induction of AID expression.

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 箕口 滋
 助手 医学博士 水谷 壮利

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

細胞がゲノム中に存在するレトロウイルスやレトロトランスポゾンのようなゲノム内のparasiteの存在を認識しその発現を抑制するエピジェネティカルな機構は、細胞核内における宿主の重要な防御系と捉えられるようになってきた。我々は、感染細胞内で繰り広げられる激しい宿主・寄生体間の相克に注目し、これまで未知であったエピジェネティクスに関わるタンパク質、特にクロマチン構造変換因子を中心とした分子の機能解析をおこない、ウイルスや宿主の遺伝子の発現の活性化、及び発現抑制 (gene silencing) に関する機構の解明を行っている。最近になってmicro(mi)RNAやshort interfering(si)RNAといった低分子RNAが、タンパク質をコードするmRNAの発現を抑制するというRNA silencing (RNA干渉) と呼ばれる制御系が哺乳動物においても存在し、ウイルスに対する防御反応等に使用されている可能性も示されている。我々はこの点についても入念に検討を続けている。こうした成果からヒト遺伝子治療や再生医学に有用なRNA干渉を利用した、特異的に遺伝子発現を抑制するレトロウイルスベクターの開発はもとより、多くの病原性ウイルスで見られる潜伏感染、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ものと考えている。

Cellular mechanisms for the surveillance and exclusion of expression by intragenomic parasites such as provirus and retro-transposon are now being recognized as an important host cell defense system in the cell nuclei. 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. We have reported the essential roles of SWI/SNF chromatin remodeling complex in the stable expression of retrovirus. Recently, RNA silencing (also designated as RNA interference) that involves such small molecules as short interfering (sh) RNA or micro (mi) RNA, have been shown to be the major strategy of plant for the plant virus propagation. It remains still unclear, however, whether human cells also utilize this mechanism to suppress its virus replication. Therefore we will carefully test this possibility. The results will help to develop new type of retrovirus vectors that suppress specific gene expression and also give us new ideas for latent infection observed in many viruses.

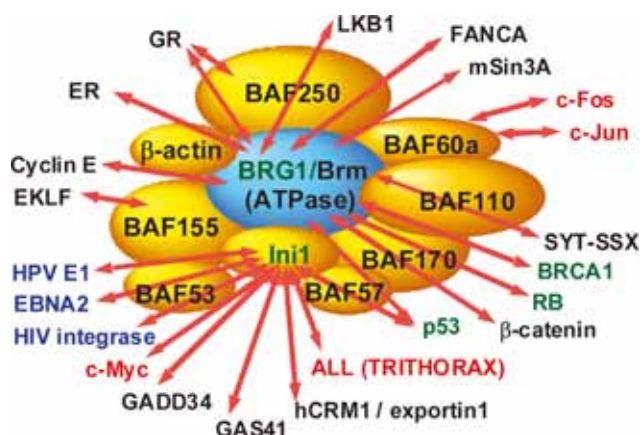


図1 SWI/SNFクロマチン構造変換因子が相互作用するタンパク質群。がん遺伝子産物(赤字)やがん抑制遺伝子産物(緑字)、さらには病原ウイルスのタンパク質(青字)が数多く含まれていて細胞の多くの機能にかかわることが示唆される。

Figure 1 Proteins that interact with SWI/SNF chromatin remodeling factor. Many oncogene products (red) tumor suppresser gene products (green) and proteins of pathogenic viruses (green) are included among them, showing the pivotal function of this complex in many human diseases.

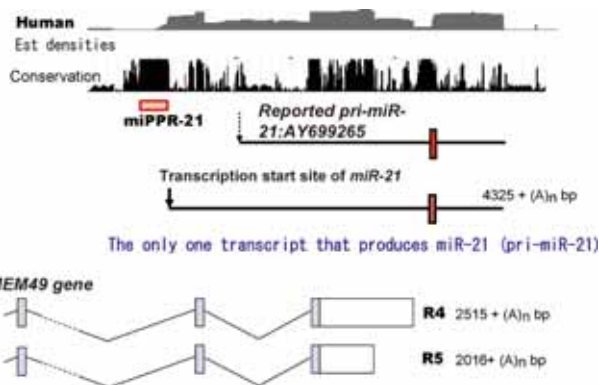


図2 ヒトmiR 21の遺伝子構造
 生物学的な機能の重要性が示されてきたmicroRNAであるが、その遺伝子構造すらほとんど解析が進んでいない。我々は、脊椎動物のmiRNAのプロモーターを予測するアルゴリズムを最近開発し、その成果の一例としてmiR 21の遺伝子構造を示す。

Figure 2 Structure of the human miR 21 gene
 Whereas the biological importance of microRNAs has been recognized, most of their genome structure are still unknown. We have recently developed algorithm predicting the promoter region of vertebrate microRNAs. Structure of miR 21 is shown as an example, which corrected the previous report from another group.

教授	獣医学博士	河岡 義裕	Professor: Yoshihiro Kawaoka, DVM, Ph.D.
助教授	農学博士	堀本 泰介	Associate Professor: Taisuke Horimoto, DVM, Ph.D.
助手	獣医学博士	五藤 秀男	Assistant Professor: Hideo Goto, DVM, Ph.D.
助手	医学博士	坂井(田川) 優子	Assistant Professor: Yuko Sakai Tagawa, Ph.D.
助手	獣医学博士	下島 昌幸	Assistant Professor: Masayuki Shimojima, DVM, Ph.D.
特任助手	獣医学博士	岩附(堀本) 研子	Project Assistant Professor: Kiyoko Iwatsuki Horimoto, DVM, Ph.D.

インフルエンザおよびエボラウイルス感染症

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

1 鳥インフルエンザウイルスのヒトへの伝播

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

2 インフルエンザウイルスのアセンブリー

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

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

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

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。

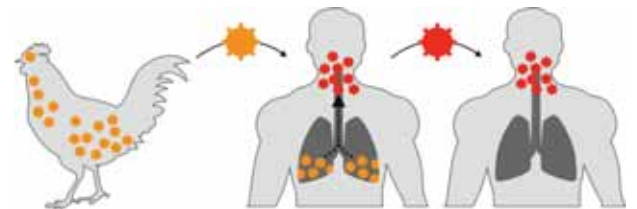


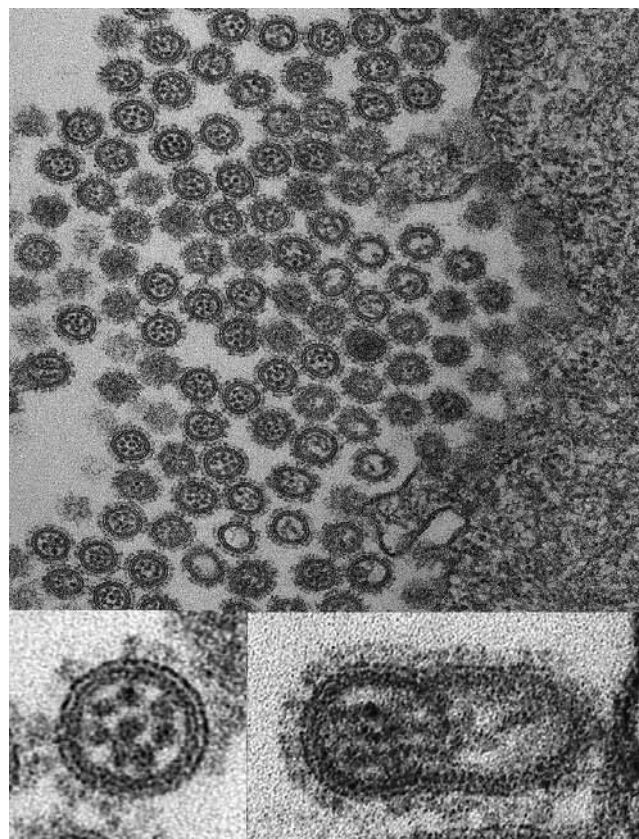
図1 H5N1鳥インフルエンザウイルスは、人の下部気道に感染し、重篤な症状を引き起こす。そこで増殖するうちに、上部気道で増殖しやすいように変化し、人から人へ効率よく伝播するようにウイルスが変異するとパンデミックに至る。

図2 インフルエンザウイルスは8本に分かれたRNAをゲノムとして持つ。感染細胞から新しいウイルス粒子が作られる際、8本のRNAは規則的な配置で並べられ、8本1セットでウイルス粒子内に取り込まれる。このようなメカニズムにより、遺伝情報が子孫ウイルスへと正確に伝えられる。

Molecular Pathogenesis of Influenza and Ebola Virus Infections

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

- 1 Transmission of avian influenza viruses to humans
Since 1996, H5N1 avian influenza A viruses have been enzootic in Asia. These viruses are highly pathogenic in poultry and were directly transmitted to humans. In 1997 and 2004, infection by these viruses resulted in significant human mortality. We are studying the molecular basis of high virulence of this virus in mammals and the viral determinants that allowed direct transmission of the virus from birds to humans.
- 2 Influenza virus assembly
The formation of virus particles involves interactions among viral proteins as well as interaction between viral and cellular proteins. To understand the mechanism of virion formation, we are investigating viral RNA incorporation into virions by analyzing the interaction among viral and host molecules.
- 3 Reverse genetics (technology for generation of influenza viruses entirely from cloned cDNA)
We have established a system for the generation of influenza viruses entirely from cloned cDNAs. Using this system, influenza viruses containing any desired mutation can be made. With this technology, we are attempting to establish novel influenza vaccines and influenza based gene delivery vectors.
- 4 Role of Ebola virus proteins during viral replication
Ebola virus causes hemorrhagic fever in humans and nonhuman primates, resulting in mortality rates of up to 90%. Even so, little is known about the molecular pathogenesis of Ebola virus infection or the pathophysiological events that occur in primates during infection with this virus. Studies of this virus have been hampered by its extraordinary pathogenicity, which requires biosafety level 4 containment. To circumvent this problem, we developed a novel complementation system for the functional analysis of Ebola virus glycoproteins. Using this system, we are studying the functions of the glycoprotein and the nature of Ebola virus receptors. We are also interested in Ebola virus replication. Thus, we are investigating the assembly process of this virus and the structural basis of the interactions of the viral proteins involved in replication.



教授 医学博士 三宅 健介
 助手 医学博士 赤司 高村 祥子
 助手 農学博士 古田 隆久
 助手 医学博士 斉藤 伸一郎

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

Research Associate:

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

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

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

当分野は、感染免疫大部門に所属し、宿主と病原体との相互作用を宿主側から検討することをテーマとしている。具体的には自然免疫における病原体認識機構の解明を目指している。これまでに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。言いかえると、ヒトがもっとも警戒する病原体成分といえる。その強い活性のために多くの疾患との関連が指摘されており、エンドトキシン認識機構を解明することで、エンドトキシン関連疾患の病態解明、新たな治療法の開発に貢献したい。

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

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

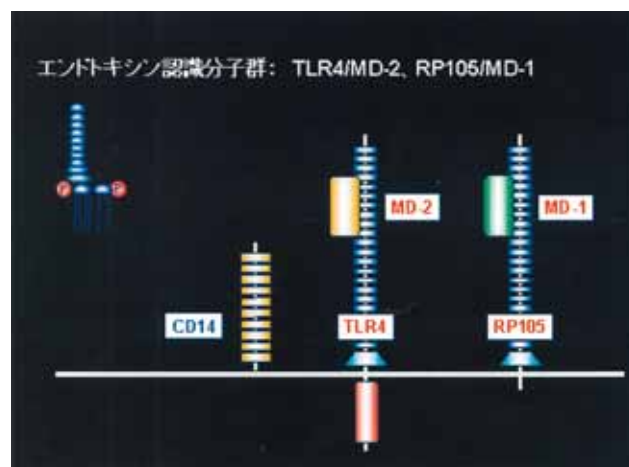


図 1

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

Fig. 1

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

教授 医学博士 清野 宏
 助手 医学博士 幸義 和
 助手 薬学博士 國澤 純

Professor: Hiroshi Kiyono D. M. D., Ph. D.
 Assistant Professor: Yoshikazu Yuki, M. B. A., Ph. D.
 Assistant Professor: Jun Kunisawa, Ph. D.

呼吸器や消化器などの粘膜組織は、呼吸、飲食などの生命活動を通じ、常時、外来異物に曝されている。感染という視点で見ると、傷口を介して感染する破傷風菌や蚊などを媒介とするマラリアなどを除き、インフルエンザやサルモネラ菌を始めとするほとんどの病原体は粘膜面を介して感染してくる。これら粘膜面を介して侵入してくる病原微生物に対する生体防御において中心的な役割を担っているのが粘膜免疫システムである。また同時に、粘膜免疫システムは我々が日々摂取している食餌性抗原や常在菌に対しては免疫寛容を誘導することで生体内の恒常性や共生関係を維持している。我々は粘膜免疫の正の応答である免疫活性と負の応答である免疫寛容のメカニズムを解明することで、各種感染症に対する粘膜ワクチンや食物アレルギー、潰瘍性大腸炎などの粘膜関連免疫疾患に対する新規治療法の開発を試みている。

1. 粘膜ワクチン開発に向けたM細胞の分子・細胞学的基盤研究とワクチンライスの応用

粘膜ワクチンの成功のためには、優れた抗原送達システムの開発が必要不可欠である。粘膜上皮細胞層に存在するM細胞は管腔に存在する抗原を補足する能力が高いことに加え、取り込んだ抗原を抗原提示細胞へ送達できることからワクチン抗原の送達標的として最も重要であると注目されている。本研究ではM細胞標的型粘膜ワクチンの開発を目指し、M細胞特異的マーカーの検索を行っている。さらにお米に病原体抗原を発現させたワクチンライスの開発も行っており、お米を用いた分子農業ワクチン生産への展開を進めている。

2. 粘膜免疫システムによる恒常性維持機構の解明と粘膜免疫療法への応用

粘膜面における免疫寛容の破綻により、食物アレルギーや花粉症、潰瘍性大腸炎などの病気が引き起こされることが知られている。本研究においては、粘膜免疫システムに存在する抑制型免疫システムを、分子・細胞レベルで解明すると共に、腸管に存在する細菌叢との共生メカニズムを解き明かすことで、食物アレルギー等の粘膜免疫関連疾患に対する新規治療法の開発を行っている。

3. 分化・発生における粘膜免疫システムのユニーク性解明と新規粘膜免疫療法への展開

粘膜免疫システムは、分化・発生の観点においても、ユニークな性質を示すことが知られている。例えば、腸管に存在するリンパ組織（パイエル板）と鼻咽頭関連リンパ組織（NALT）は、その発生に異なる分子発生経路を必要とする。また粘膜上皮細胞の間には、上皮細胞間リンパ球（IEL）と呼ばれるユニークな細胞も存在する。IELは、型TCRに加え、型TCRも発現しており、自然免疫と獲得免疫との橋渡しの役割を担っていると言われている。本研究では、特にNALTの発生メカニズムと、IELの抗原認識機構、トラフィッキング機構に着目し、そのユニーク性を明らかにすることで、新規粘膜免疫療法への展開を試みている。

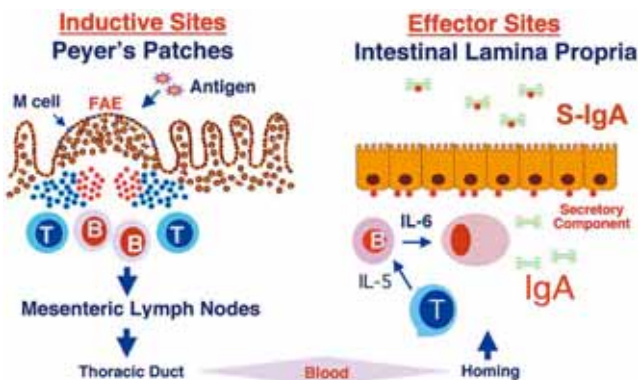


図1 IgA循環帰鼻経路 (CMIS) の概略図

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

Mucosal tissues, such as respiratory and digestive organs, continuously contact to foreign substances through breathing, eating and drinking. Mucosal immune system plays an important role in preventing the microorganisms (e.g., influenza virus and Salmonella) infection invading through mucosal sites. In addition, mucosal immune system contributes to the maintenance of mucosal homeostasis by creating symbiotic interaction with commensal bacteria and inducing immunological tolerance against food antigen. We currently focus on the elucidation of the mucosal immune system for the development of mucosal vaccine against infectious diseases and mucosal immune therapy for mucosa associated diseases, such as food allergy and inflammatory diseases.

(1) Molecular and cellular characterization of M cell for the development of mucosal vaccine and rice based vaccine

M cell located in the epithelial layer of Peyer's patch (PP) and nasopharynx associated lymphoid tissue (NALT) has been considered to be a gateway for the luminal antigen based on their high ability to take and transport luminal antigen into antigen presenting cells in PP and NALT. Thus, selective delivery of antigen to M cells seems to be an effective strategy in the development of mucosal vaccine, but their immunological and physiological characteristics are unclear. In this project, we aim to identify specific molecules expressed on M cells and apply the information to the development of mucosal vaccine. We also now develop novel rice based oral vaccine expressing exogenous antigen of virus and bacteria.

(2) Elucidation of molecular and cellular mechanism in the maintenance of mucosal homeostasis and its application to mucosal immune therapy

It is known that a breakdown of the immunological tolerance or symbiotic interaction with commensal bacteria lead to mucosal immune diseases such as a food allergy, pollinosis, inflammatory bowel diseases. In this research, we have tried to elucidate how mucosal immune system discriminate commensal and pathogenic bacteria at the mucosal compartment, especially in the intestine. We also now addressing questions how mucosal tolerance is interrupted in the allergic condition such as a food or pollen allergy. These studies will provide a novel strategy for prospective mucosal immune therapy.

(3) Unique organogenesis and development pathway in mucosal immunity

Unique lymphocytes, known as intraepithelial lymphocyte (IEL) located between epithelial cells at mucosal compartments. In addition to the TCR, IEL uniquely expresses TCR, recognizing non classical MHC molecules expressed on epithelial cells, and thus, they play an important role in the bridge between innate and acquired immunity. First purpose of this project is to investigate the antigen processing and presenting pathway in epithelial cells for the activation of IEL. We also focused on the organogenesis of mucosal lymphoid organs. Our previous studies demonstrated that NALT organogenesis was totally different from PP organogenesis despite their structural and functional similarities. Thus, as another purpose of this project, we have tried to identify molecular and cellular mechanisms to determine NALT and PP organogenesis. These studies will lead to new type mucosal vaccine and mucosal immune therapy based on the uniqueness of mucosal immune system.

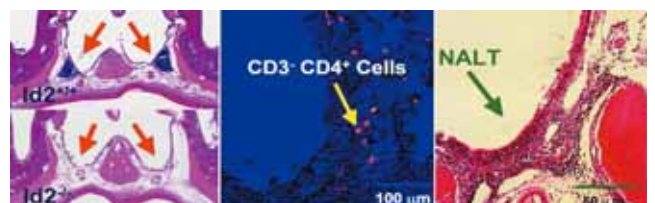


図2 Id2^{-/-}マウスにおける形成不全NALT (左)。胎仔肝臓細胞移入後、Id2^{-/-}マウスの鼻腔組織内にホーミングした正常マウス由来CD3⁺CD4⁺細胞 (中央) および再構築されたNALT (右)

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。

- (1) 癌遺伝子／癌抑制遺伝子の機能解析
- (2) 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
- (3) 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
- (4) イノシトールリン脂質情報伝達系の解明
- (5) ゲノム解析・プロテオーム解析に基づく発癌の分子機構の解析

Formation and development of cancer are multi step that involves alteration of structure and function of various genes regulating cell growth, differentiation and cell cell communication. These genes include oncogenes, tumor suppressor genes, and their related genes. In the Department of Cancer Biology, we try to establish molecular mechanisms of tumor formation and development basing on the function of these gene products. Our goal is to understand (1) how the cell growth and differentiation are regulated, (2) molecular basis of angiogenesis, (3) molecular mechanisms of invasion and metastasis of cancer, (4) 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

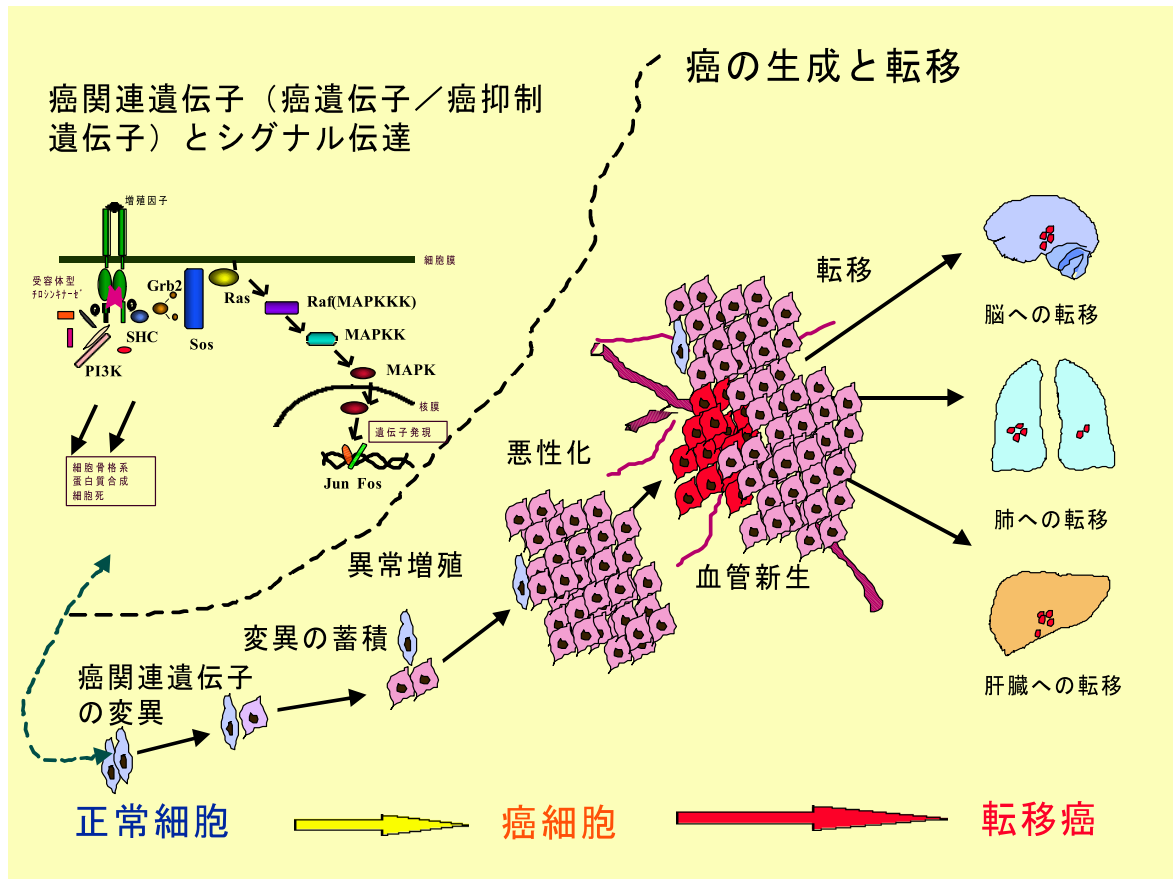


図1 細胞が癌化し悪性化する過程を示した。この過程で複数の癌関連遺伝子が変化し，細胞の増殖・分化・接着・運動等の制御が逸脱する。また，癌関連遺伝子が深く関わるシグナル伝達の一例を模式的に示してある。

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 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
 助手 医学博士 中沢 敬信

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

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

- (1) 受容体型チロシンキナーゼと細胞増殖制御に関する研究
 ヒトがんの進展に関わる、ErbB2やAlk等の受容体型チロシンキナーゼを見出した。対応する細胞外因子の解析やそれら受容体を介するシグナル伝達系の解析から、その生理機能や細胞癌化における役割を明らかにする。
- (2) 細胞周期制御に関する研究
 休止期の細胞は増殖刺激を受けて増殖を開始し細胞周期に移行する。この過程の制御の逸脱は細胞癌化につながる。本研究ではG0/G1変換やM期進行に関し、癌抑制遺伝子産物TobならびにTobに会合するNOT蛋白質群、またLATS/Ndrファミリー、Plk1等のM期キナーゼの作用機構に注目して、解析を進める。
- (3) チロシンリン酸化反応による神経可塑性の制御
 Fyn, LynなどのSrcファミリーチロシンキナーゼは、中枢神経組織でよく発現している。我々はNMDA受容体をはじめとする数種の神経棘突起内蛋白質をFyn標的蛋白質として同定している。これら標的蛋白質の作用機構やチロシンリン酸化による機能制御を解析し、学習・記憶といった神経可塑性についての理解を深める。

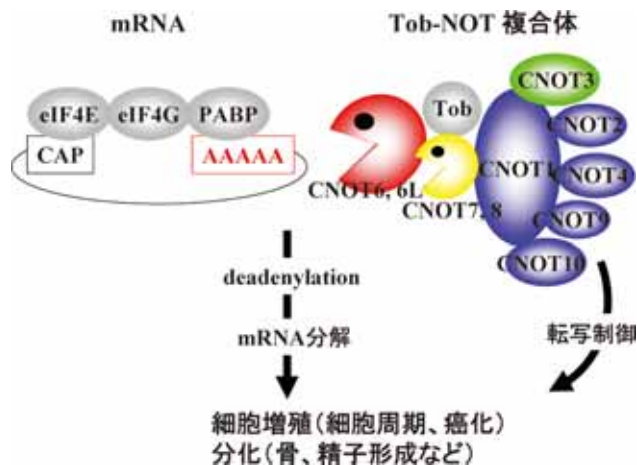


図 1
 Tob NOT複合体の機能。細胞増殖抑制蛋白質TobはCnot蛋白質群と複合体を形成している。Tob NOT複合体は核内受容体と会合するなどして特定の遺伝子の発現を制御する一方で、deadenylase活性を示すCnot6Lなどを介して特定のmRNAの安定性を制御する。

Fig. 1
 Function of Tob NOT complex. Antiproliferative protein Tob interacts with a set of Cnot proteins. Tob NOT protein complex is shown to regulate cell growth and differentiation through their interaction with transcription machinery or exhibiting deadenylase activity.

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

- (1) Molecular mechanisms by which cell surface receptors transmit signals to nuclear transcription factors and their regulatory proteins. Special interests are on the receptor tyrosine kinases mediated signaling pathways that are relevant to malignant transformation.
- (2) Regulatory mechanisms of cell cycle progression. Special interests are on the regulation of the G0/G1 switch, and mitotic phase progression in which Tob, Tob associated NOTs, LATS/Ndr family, and M phase kinase Plk1 are involved.
- (3) Molecular mechanisms of synaptic plasticity in the central nervous system. Particularly, we are interested in the roles of Src family kinases in regulation of NMDA receptor function as well as other target proteins in the synaptic spine.

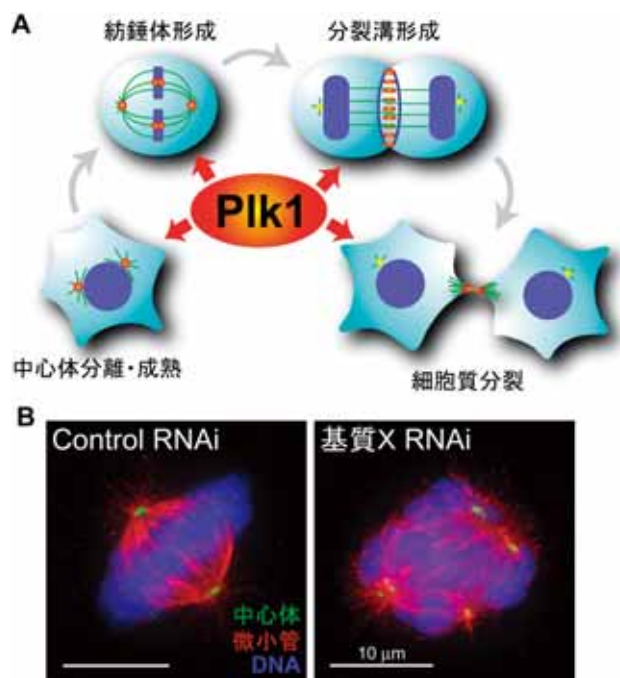


図 2
 A. Polo like kinase 1 (Plk1)の局在と役割。M期進行においてPlk1は分裂装置の様々な構造に局在し(赤色)、複数の基質を制御することによって、遺伝情報である染色体や細胞内小器官の分配に重要な役割を果たしている。B. 最近我々のグループは、固相リン酸化スクリーニングよりPlk1の基質候補分子を多数同定した。その内、基質Xは分裂期の中心体構造の安定化に必須の分子であり、Plk1による紡錘体形成の制御機構の新たな一端を明らかにした。

Fig. 2
 A. Localization and function of Plk1. Plk1 localizes to specific structures in mitotic apparatus (red) and plays crucial roles in equal distribution of genetic and cytoplasmic organelles by regulating multiple substrates. B. We recently identified many candidates of Plk1 substrate by solid phase phosphorylation screening and demonstrated that one of them, substrate X, is required to stabilize mitotic centrosomes, which is a novel mechanism regulating the spindle formation by Plk1.

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

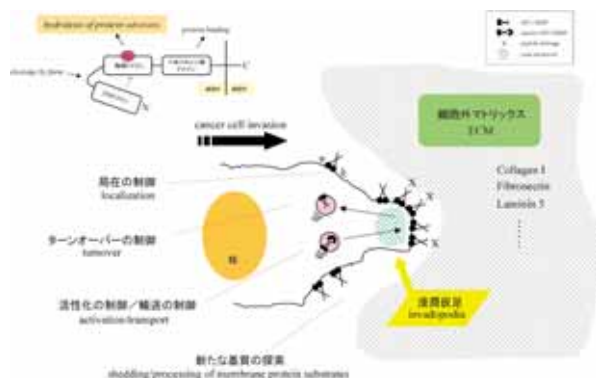
Professor: Motoharu Seiki, Ph. D.
 Lecturer: Ikuo Yana, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Naohiko Koshikawa, Ph. D.
 Research Associate: Isamu Gotoh, Ph. D.

組織を構成する細胞の増殖，分化，死，およびその機能は，細胞の内外における複雑な情報伝達システムによって制御され，その結果は，組織や器官の機能として表現される。細胞への情報は，可溶性因子，細胞間接着，細胞と細胞外基質との接着，など多様であり，しかもそれらが相互にクロストークしあって高次の細胞制御システムを形成している。

細胞表面は細胞が外界と情報を交換する主要なインターフェースであり，そこにはシグナルの授受やその制御にかかわる分子として，増殖因子やサイトカインなどのリガンドや各種受容体，インテグリンをはじめとする細胞外基質への接着分子，カドヘリンをはじめとする細胞接着分子などが多数存在している。これらの分子は遺伝子発現のレベルで制御される以外に，糖鎖付加などの翻訳後修飾，小胞と細胞膜を介した輸送および逆輸送による制御も受けている。しかし，一旦，細胞外に発現された分子の機能変換や消去は蛋白質分解酵素（プロテアーゼ）の働きに大きく依存している。蛋白質分解はすべての蛋白質に適用される制御であり，しかもその過程は不可逆的であるところに特徴がある。細胞外にはセリンプロテアーゼやメタロプロテアーゼに属する分泌型プロテアーゼや膜型プロテアーゼが多数存在しており，それぞれの酵素に対応した標的蛋白質のプロセッシングを介して細胞機能を制御している。なかでも膜型プロテアーゼの一群は細胞と細胞外環境とのインターフェースで働く酵素として，細胞が周辺の微小環境を制御するための重要な役割を担っている。

がんの悪性化は，細胞の増殖と死を制御する仕組みの破綻に加えて，細胞社会を維持する仕組みの破綻を伴って進行する。細胞外プロテアーゼの制御異常もその一端であり，がん細胞の増殖のみならず，浸潤・転移の促進に様々なレベルでかかわっている。また，がん間質における腫瘍血管新生においてもこれらのプロテアーゼは重要な働きをしている。当研究分野では特に膜型プロテアーゼによる細胞機能制御システムに着目して以下のような研究を行っている。

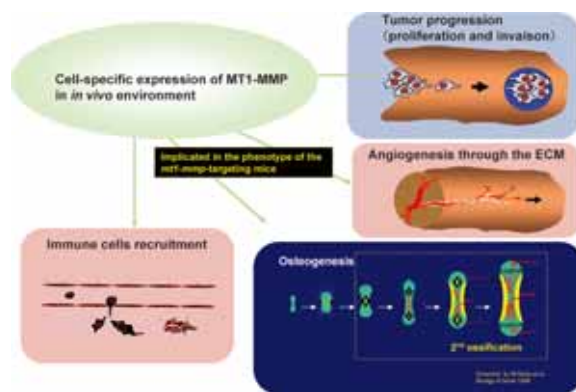
1. 膜型プロテアーゼがどのような基質を細胞表層で切断し，その結果がどのように細胞機能を制御するシグナルへと変換されるのかを明らかにする。
2. 細胞の機能発現と連動して膜型プロテアーゼが用いられる際に重要な，酵素の輸送，局在，活性制御の仕組みを明らかにするとともに，そこに関与する分子を同定する。
3. 生体における膜型プロテアーゼの役割を遺伝子欠損マウスや組織特異的欠損マウスを作成して解析する。酵素の欠損から個体レベルでの機能にいたる分子的な機序を明らかにする。
4. がんにおける膜型プロテアーゼの制御異常とその意義を解析し，がんの制御手法の開発に応用する。



MT1-MMP: membrane type 1 matrix metalloproteinase

Cell surface is the major interface for cell communication with the environment. Many proteins on the cell surface are involved in this process and these include various types of ligands, receptors, cell adhesion molecules, and accessory molecules. These proteins are regulated not only at transcription level but also by post translational regulations such as glycosylation, vesicle transport, internalization, and subcellular localization etc. Proteolysis is also an important post translational system to regulate the fate of all the proteins in an irreversible manner. Most of the extracellular proteases belong to serine or metallo proteases, and they are of particular importance in regulating the proteins in the extracellular milieu. These proteases are either secreted or membrane anchored forms. Our group has been particularly interested in the membrane anchored proteases that play critical roles in regulation of the proteins at the cell ECM (extracellular matrix) interface and act as important modulators of cellular functions.

Cancer cells develop as a result of multiple defects in the regulatory systems for cell growth and death. According to the progression of cancer, the systems regulating cell communication in tissue also break down successively. Aberrant usage of proteases is frequently associated with malignant tumors and contributes to the rapid tumor growth and spread to secondary sites. The aim of our study is to understand the cellular strategy to use the membrane proteases, such as MT1-MMP, to regulate tumor cell functions in tissue environment and to apply our knowledge to cancer therapy.



Roles of MT1-MMP

助教授 理学博士 三木 裕明
 助手 薬学博士 竹中 圭

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

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

1. 細胞運動, 形態制御を司る細胞骨格ネットワーク制御機構の解明

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

2. 形態形成を制御するWntシグナル・Hedgehogシグナルの解析

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

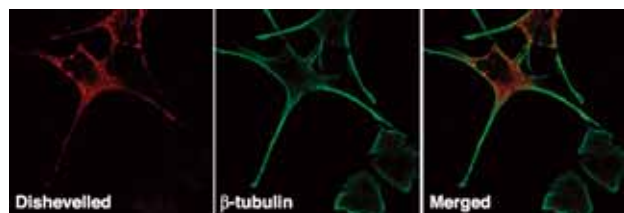


図1 Wntのシグナル伝達因子Dishevelledによる神経突起形成

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

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

1. Cytoskeleton

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

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

2. Wnt and Hedgehog signaling

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

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

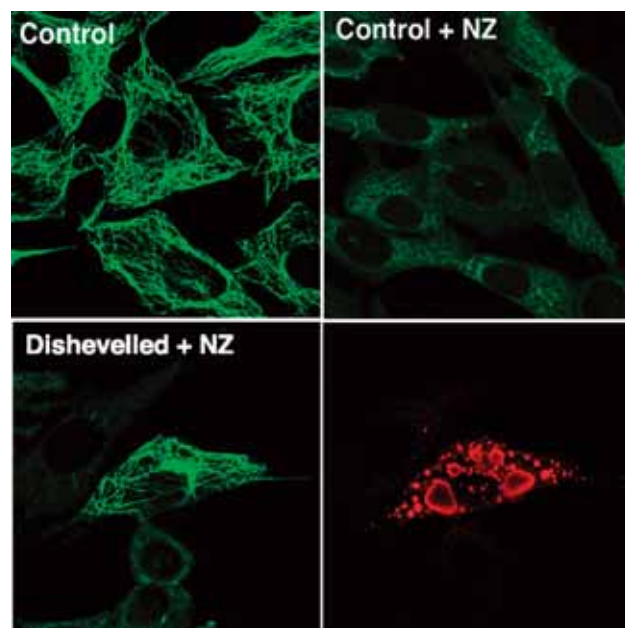


図2 Dishevelledによる微小管の安定化

Figure 2 Stabilization of microtubules by Dishevelled

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

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

細胞増殖・分化の制御メカニズムを細胞内シグナル伝達と遺伝子発現の二つの側面から明らかにし、それらの異常によって引き起こされる疾患の発症や癌化の分子機構を理解することを目的として以下の研究を推進している。

- 1) TRAFタンパク質を介するシグナル伝達による転写因子NF- κ Bの活性化機構とその異常による疾患発症機構の解明
 B細胞の増殖分化に必須な受容体CD40のシグナルを伝達し転写因子NF- κ B及びAP-1を活性化するTRAF5とTRAF6を同定し、ユビキチン結合酵素であるTRAFが多量体形成により活性化されることがシグナル伝達の機構の一部であることを明らかにした。さらにTRAF6遺伝子欠損マウスを作成し、TRAF6を介するシグナルの異常により骨大理石病、自己免疫疾患、及び汗腺や毛包等の皮膚付属器の形成不全を伴う無汗性外胚葉形成不全症等を発症することを見出した。これらの疾患はヒトでも発症することからTRAF6遺伝子欠損マウスを用いて発症機構を詳細に解析している。
- 2) 癌化における転写因子NF- κ Bの役割解明
 正常細胞におけるNF- κ Bの活性化は、負のフィードバック制御機構により一過性である。しかし、我々の解析では癌細胞のおよそ40%においてNF- κ Bが恒常的に活性化されており明らかにNF- κ Bの制御機構が破綻している。この恒常的NF- κ B活性化が癌の悪化に関与することが報告されていることから、現在、NF- κ Bの恒常的活性化の分子機構とその標的遺伝子の解明を進めている。
- 3) EGF受容体シグナルによる癌化の分子機構解明
 EGF受容体ファミリーは、遺伝子増幅による過剰発現や変異によって肺癌や乳癌などの悪化に関与する重要なチロシンキナーゼである。我々はSILAC法などのプロテオミクス技術と高精度の質量分析計を駆使して、変異EGFRを発現する肺癌やErbB2を過剰発現する乳癌などの癌細胞で実際に作動するシグナル伝達系の完全な解明とその知見に基づく癌治療の新たな標的蛋白質の同定を進めている（癌細胞シグナル分野、新領域創成科学研究科ゲノム制御医科学分野、DNA情報解析分野、先端臨床プロテオミクス共同研究ユニットとの共同研究）。

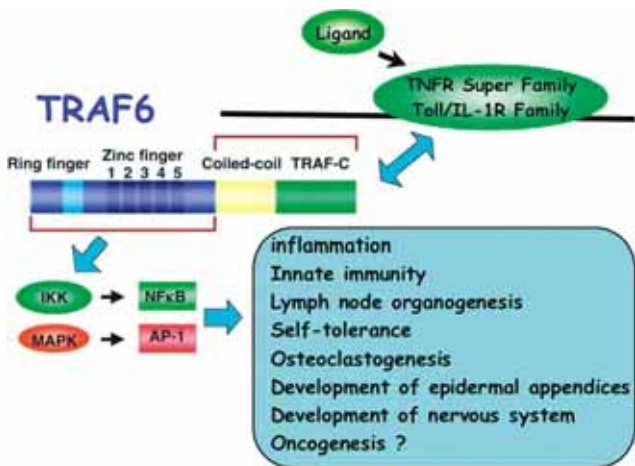


図 1 TRAF6シグナルの生理機能
 TRAF6シグナルは、炎症反応、自然免疫応答、リンパ節形成、免疫寛容、破骨細胞形成、皮膚付属器形成、神経細胞の分化と細胞死に関与している。発癌におけるTRAF6およびNF- κ Bの関与を解析中である。

Fig. 1 Physiological roles of the TRAF6 signal.
 The TRAF6 signal is involved in inflammation, innate immune response, lymph node organogenesis, self tolerance, osteoclastogenesis, development of epidermal appendages, and development of nervous system. Its involvement in oncogenesis is currently under investigation.

Our goal is to understand the molecular mechanisms of disease pathogenesis and oncogenesis by elucidating normal regulation of intracellular signal transduction and gene expression involved in cell proliferation and differentiation. In particular, following projects are going on.

- 1) Elucidation of molecular mechanisms of NF- κ B activation by the TRAF mediated signals and that of pathogenesis induced by abnormal regulation of TRAF signaling.
 We have identified TRAF5 and TRAF6 as signal transducers of CD40, a receptor essential for B cell proliferation and differentiation, and demonstrated that activation of TRAF6 as a ubiquitin ligase by its oligomerization is one of the mechanisms for signal transduction. Furthermore, we have generated TRAF6 deficient mice to show that the impaired TRAF6 signal results in osteopetrosis, autoimmune disease, and hypohidrotic ectodermal dysplasia, in which mice have impaired development of skin appendages including hair follicles, sweat glands and teeth. We are currently trying to identify molecular mechanisms of these abnormal phenotypes observed in TRAF6 deficient mice, since these disease are also observed in human.
- 2) Elucidation of roles of NF- κ B in oncogenesis.
 Upon stimulation, activation of NF- κ B is transient due to a negative feedback regulation of this signal in normal cells. However, we have learned that in about 40% of tumor cell line NF- κ B is constitutively activated. It has been reported that the constitutive activation of NF- κ B may be involved in malignant phenotypes of tumor cells. We are currently trying to identify molecular mechanisms of the constitutive activation of NF- κ B and its target genes involved in malignant phenotypes.
- 3) Elucidation of molecular mechanisms of oncogenesis by the EGFR signaling.
 EGFR family is involved in tumor progression of various types of cancers: Examples are mutant EGFR expression in lung cancers and gene amplification of ErbB2 in breast cancers. Recent proteomics techniques have enabled us to analyze signal transduction pathways more comprehensively and more quantitatively. We are making complete EGFR family mediated signal transduction networks in lung and breast cancer cell lines by nano LC MS/MS system and a novel proteomics technique called "SILAC" (stable isotope labeling with amino acids in cell culture) and searching for novel signal transducers which may be targets for efficacious therapeutics. This is a collaborative work with members of Division of Oncology, Laboratories of DNA information Analysis, Advanced Clinical Proteomics, IMSUT and Functional Genomics, Department of Medical Genome Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo.

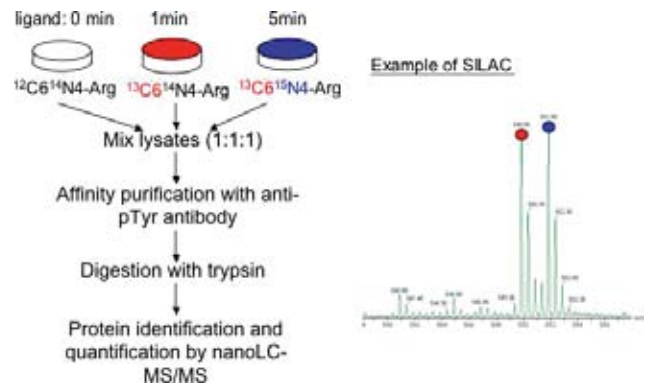


図 2 SILAC法と質量分析計を用いたEGFRファミリーのシグナル伝達経路の解析例

安定同位体 ^{13}C と ^{15}N を組み合わせた3種類の異なる分子量のArgを含む培地で培養した細胞について、EGF刺激の時間を変えてlysateを調製する。抗リン酸化チロシン抗体で精製したチロシンリン酸化蛋白質について、6 kDa (C 6 個分)、4 kDa (N 4 個分)の差のあるペプチドの量比をnanoLC MS/MSで解析し、チロシンリン酸化の定量を行なう。

Fig. 2 Comprehensive and quantitative analysis of EGFR mediated signal transduction pathways using SILAC and nanoLC MS/MS system.
 Cells are cultured in media containing three Arg isotopes with different molecular weights (SILAC) and then stimulated with EGF. Analysis of tyrosine phosphorylated proteins using nano LC MS/MS system enables us to quantify EGF dependent dynamic tyrosine phosphorylation of proteins comprehensively.

教授 薬学博士 竹 縄 忠 臣
 助教授 理学博士 伊 藤 俊 樹
 助手 理学博士 末 次 志 郎
 助手 医学博士 山 崎 大 輔

Professor: Tadaomi Takenawa, Ph. D.
 Associate Professor: Toshiki Itoh, Ph. D.
 Research Associate: Shiro Suetsugu, Ph. D.
 Research Associate: Daisuke Yamazaki, 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。

(1) 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。

(2) 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 (1) the regulation of cytoskeleton, cell movement, invasion and metastasis through WASP family proteins. (2) role of inositol phospholipids signalling in re arrangement of cytoskeleton, membrane trafficking and nuclear events.

(1) 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 molecules, 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.

(2) Physiological roles of inositol phospholipids

Inositol phospholipids, such as PIP2 and PIP3 play important roles not only as 2nd messenger generating lipids but also as modulators of a variety of functional proteins. Currently, we have focused on (1) production of phospholipase C KO mouse. (2) role of PIP kinase and PIP2 phosphatase in cytoskeleton and cell division. (3) survey of novel domains that bind to inositol phospholipids. (4) 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.

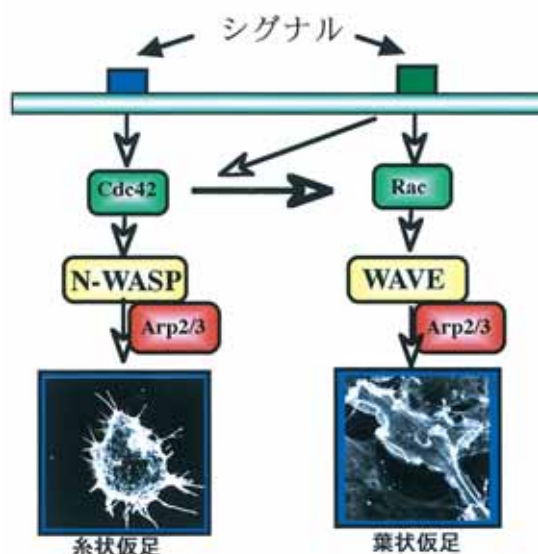


図 N-WASP, WAVEによる細胞骨格制御

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、タンパク質の生理機能を制御するという間接的な役割の解明が、核酸や蛋白質のみでは説明しきれない生理的、病理的現象の解明にとって重要と位置付け、研究を進めている。

- 1) 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
細胞接着分子として知られるインテグリンファミリー蛋白質群は細胞外マトリックス (ECM) や細胞表面に発現するリガンドへの結合を介して、細胞内のシグナル伝達系を活性化し、発生、創傷治癒、ガン細胞の浸潤、転移に深く関わっている。細胞の増殖や運動の接触障害からの逸脱、原発巣からの脱着、血管基底膜のECM成分への接着能の変化等を特徴とする癌細胞の特性の理解にとって、インテグリン機能の制御機構の解明は重要課題となっており、二つの方向からこの問題に取り組んでいる。一つは、細胞の悪性化に伴って変化することが知られているグリコシル化によってインテグリンの機能がどのように変化するのかを解明することである。他は、インテグリンと結合する細胞表面のリガンド分子 (ディスインテグリン) を同定し、それらとの結合によってインテグリン機能がどのような影響を受けるかを解明することである。
- 2) セレクチンに対する天然のリガンドの解析
セレクチンと糖鎖リガンドの結合は癌転移、炎症部位への白血球の動員、リンパ球のホーミングに深く関わっている。現在、不明な点が多いE セレクチンに対する癌細胞上の糖鎖リガンド、リガンドのキャリアタンパク質の解析を進めている。
- 3) 糖鎖認識を介する細胞間相互作用の解析
細胞膜を介した情報の交換は、多細胞生物にとって必須である。細胞膜の多くのタンパク質に結合している糖鎖が、細胞間の認識機構に関わっていることを解明するためには、糖鎖を認識するタンパク質の同定が重要である。そのため、これまでに多価糖鎖プローブを作製し、それらとプロテオミクスを結びつける手法を取り入れることによって、ブタやマウスの卵透明帯上の糖鎖を認識する精子側のタンパク質の同定に成功し、その有用性を示してきた。現在、この方法を導入して新規の糖鎖認識タンパク質の発見、同定を進めている。

Sugar chains bound to the polypeptide chains widely occur in the body, and their structures change during development and cell differentiation and in pathological states. Our objective is to elucidate direct and indirect roles of the sugar chains and to unveil mechanisms working in physiological and pathological processes in concert with genome and proteome based approaches.

- (1) Regulation of functions of proteins and cells by sugar chain
The binding of integrins, a family of adhesion receptors, to ligands present within the extracellular matrix or expressed on the surface of other cells leads to the activation of intracellular signaling cascades that regulate diverse processes such as embryogenesis, wound healing, and invasion and metastasis of tumor cells. For a better understanding of abnormal behavior of tumor cells including deviation from contact inhibition of growth and movement, detachment from primary sites, and altered binding to ECM, it is important to know how integrin's function is regulated. We approach the issue from two different aspects. The first is to solve how function of integrins is affected by their transformation associated glycosylation change. The second is to identify disintegrins which might be cell surface ligands for integrins and to solve how integrin function is affected by disintegrins.
- (2) Analysis of selectin ligands
Interactions of selectins with their carbohydrate ligands are involved in metastasis of tumor cells, migration of leukocytes to the inflamed sites and homing of lymphocytes. We are studying carbohydrate ligands and their carrier proteins which are not well characterized.
- (3) Sugar recognition mechanism involved in fertilization
Cellular communication through plasma membrane is essential for multi cellular organisms. Identification of sugar recognition molecules is important to show that sugar chains found in most membrane proteins are involved in intercellular recognition. We have so far succeeded in identification of sugar binding sperm proteins which recognize pig zona pellucida glycoproteins of eggs by using newly developed multivalent oligosaccharide probes and proteomics approach. Now, finding and identification of new sugar binding proteins are in progress.

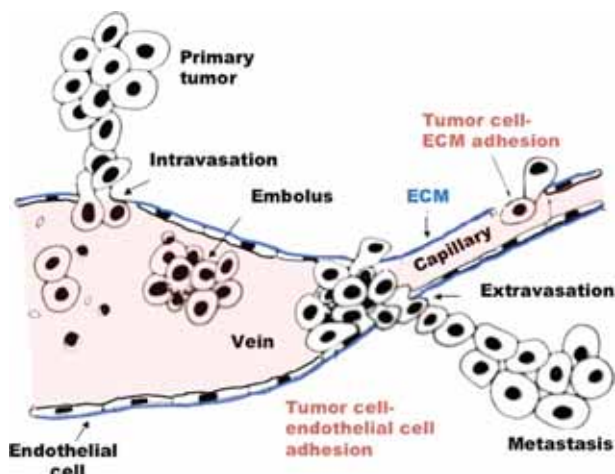


図1 癌細胞の転移の過程における細胞接着異常

Fig. 1 Disordered cell adhesion in the process of metastasis

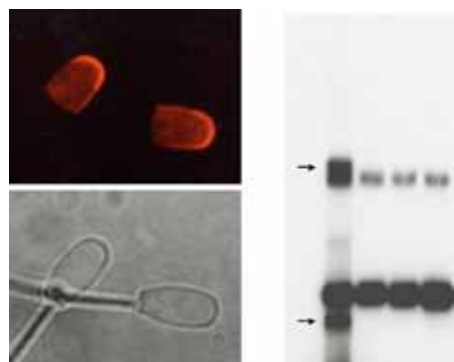


図2 多価糖鎖プローブによる細胞表面糖鎖結合分子の検出

Fig. 2 Detection of sugar binding proteins by multivalent oligo saccharide probe

教授 医学博士 渋谷 正史
 助教授 医学博士 後藤 典子
 助手 医学博士 櫻井 佳子
 助手 医学博士 村上 雅人

Professor: Masabumi Shibuya, M. D., D. M. Sc.
 Associate Professor: Noriko Gotoh, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Keiko Sakurai, Ph. D.
 Research Associate: Masato Murakami, M. D., D. M. Sc.

がん遺伝子・抑制遺伝子の研究から、細胞がん化機構に關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關する腫瘍血管や転移の問題などについては、關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、がん化に直接關するものや、腫瘍血管形成に關するもの詳細な解析を行いたいと考えている。

(1) 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關連遺伝子flt 1チロシンキナーゼを単離した。最近の研究からFlt 1やその關連キナーゼ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關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。

(2) 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。

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

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

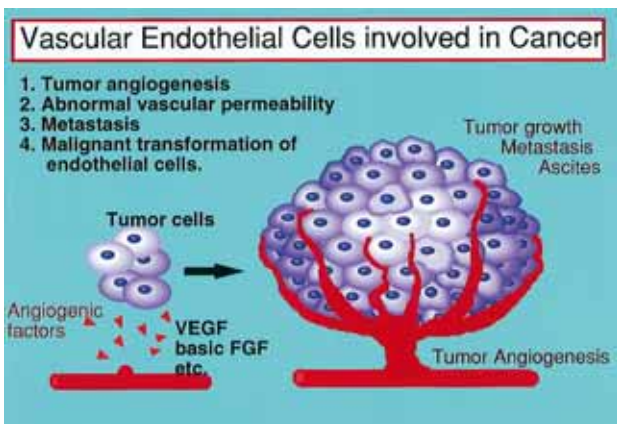


図1 がん細胞と血管系の相互作用に関するモデル。VEGFとその受容体 Fltキナーゼファミリー (Flt 1, KDR/Flk 1) のシステムは腫瘍血管形成を調節する最も基本的なシグナル伝達系と考えられる。

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

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

(1) 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.

(2) 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.

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

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

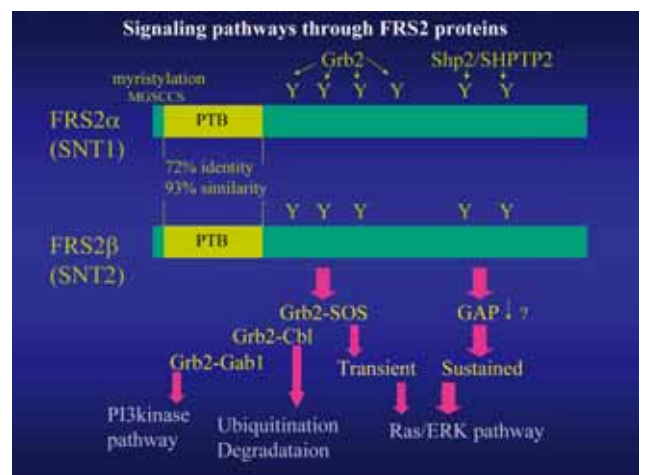


図2 FRS2 ドッキング分子は、FGF受容体チロシンキナーゼによってチロシンリン酸化されると、Grb 2 及びShp 2 と結合して、Ras ERK pathwayなどのいくつかのシグナル伝達系を活性化する。

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

基礎医科学部門 DEPARTMENT OF BASIC MEDICAL SCIENCES

基礎医科学部門は、分子細胞情報分野、染色体制御分野、遺伝子動態分野、脳神経発生・分化分野、神経ネットワーク分野、分子構造解析分野、遺伝子解析施設、再生基礎医科学寄付部門、幹細胞組織医工学（歯胚再生学）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。

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

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

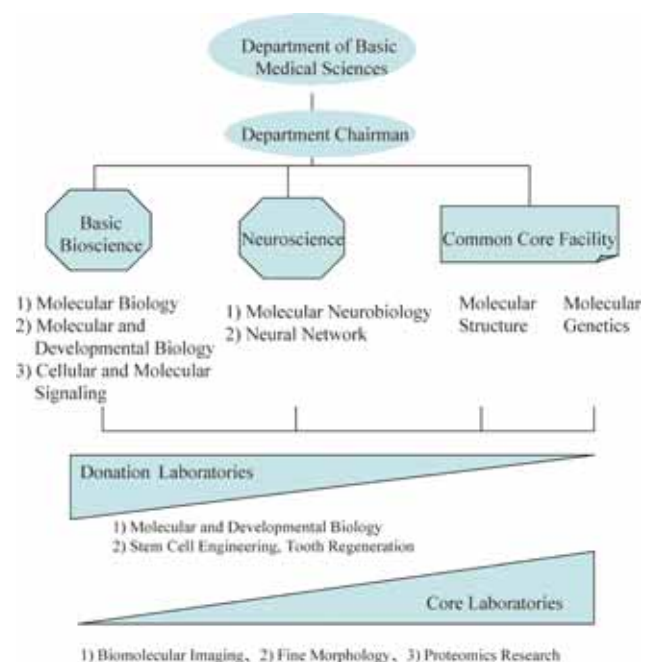
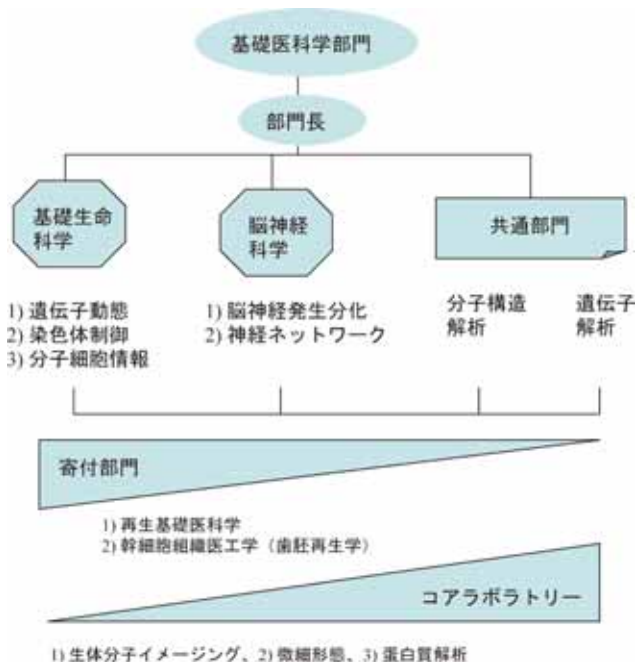
この共通部門では研究を進める一方で、技術開発も行ない、設備も含めて医科学研究所全体に広かれた共通部門として位置づけられている。

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

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

Division of Molecular Biology, Division of Molecular and Developmental Biology and Division of Cellular and Molecular Signaling are grouped in Basic Bioscience field. There are two laboratories, Division of Molecular Neurobiology and Division of Neuronal Network in the field of Neuroscience. There are two Donation Laboratories for Stem Cell Engineering and Molecular & Developmental Biology.

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



教授 理学博士 斎藤 春雄
 助教授 医学博士 武川 睦寛
 助手 薬学博士 舘林 和夫
 助手 医学博士 富田 太一郎

Professor: Haruo Saito, Ph. D.
 Associate Professor: Mitsuhiro Takekawa, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Kazuo Tatebayashi, Ph. D.
 Research Associate: Taichiro Tomida, 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。

(1) 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。

(2) 哺乳類細胞

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

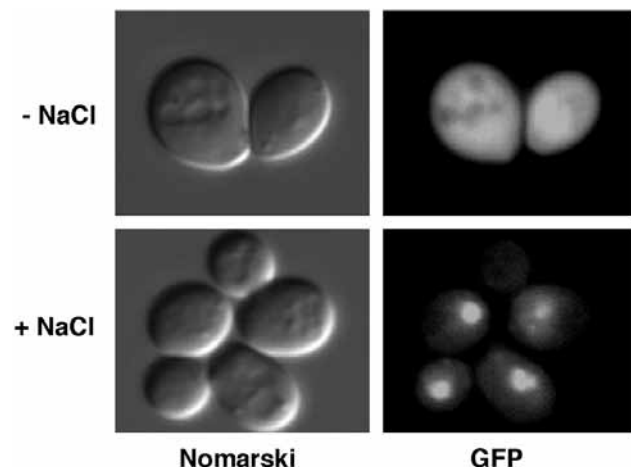


図1 酵母を高濃度の食塩などによる浸透圧ショックにさらすと，活性化されたHog1 MAPキナーゼは迅速に細胞質から核へ移動する。この実験では，Green Fluorescent Protein (GFP) と融合することによって，Hog1を可視化している。

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

(1) 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.

(2) 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.

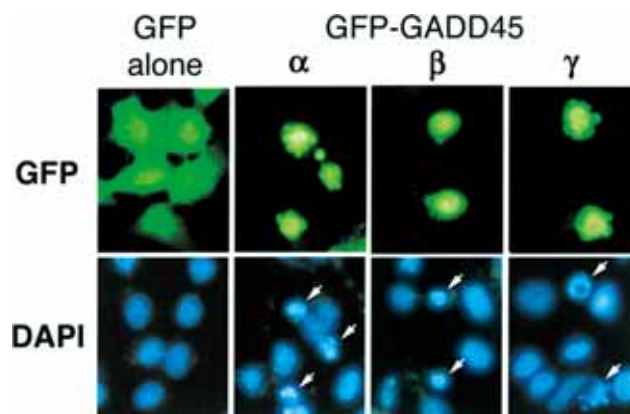


図2 哺乳類細胞にGADD45関連遺伝子を導入するとストレス応答MAPキナーゼ経路を活性化し，アポトーシスを誘導する。

教授 医学博士 真鍋 俊也
 助教授 医学博士 関野 祐子
 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.
 Associate Professor: Yuko Sekino, Ph. D.
 Research Associate: Ayako M. Watabe, Ph. D.
 Research Associate: Minoru Matsui, M. D., Ph. D.

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

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

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

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

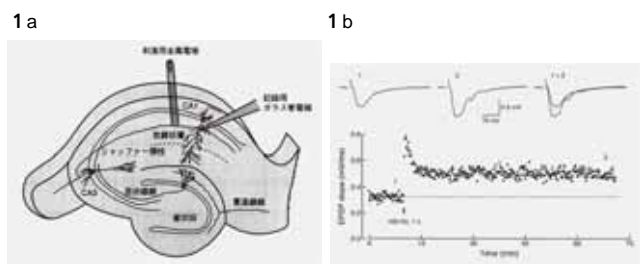


図 1 動物モデル（マウス）を用いた電気生理学
 a. マウスの海馬切片を用いた電気生理学実験法。
 b. シナプス可塑性の例。テタヌス刺激によるシナプス伝達長期増強現象。

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

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

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

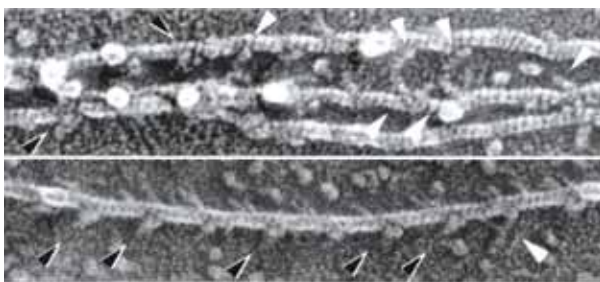


教授 医学博士 片山 栄作

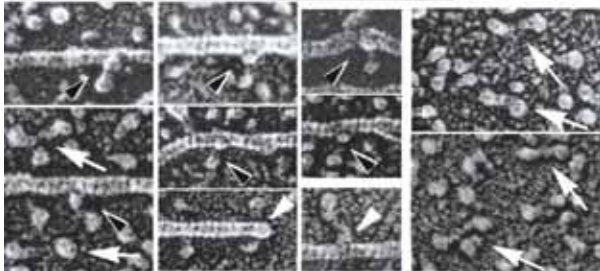
Professor: Eisaku Katayama, M.D., D.M.Sc.

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

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



Rigor Acto-Heavy Meromyosin



Sliding Acto-Heavy Meromyosin

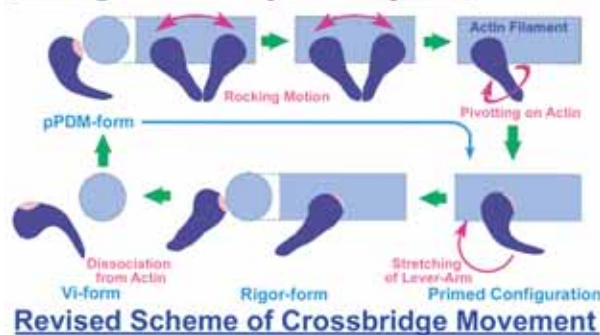


図1 上パネル: 「1分子の構造生物学」の基本となる急速凍結フリーズレプリカ電子顕微鏡法を用いれば、機能遂行中の蛋白質複合体を1ミリ秒以内に凍結固定し、高いコントラストの実像を得ることが可能である。ここでは滑り運動開始前と運動中のアクトミオシンの電子顕微鏡像を示す。上は硬直複合体。各ミオシン分子の細長い形状の2個の頭部を介してアクチン・フィラメントに結合する。下は滑り運動中のクロスブリッジ。ミオシン分子は1個の頭部のみでアクチンに結合し、丸まった形状を示す。

下パネル: われわれの解析により明らかとなったアクチン滑り運動中のクロスブリッジの挙動。従来の「首振り説」とは異なりミオシン頭部は2段階の構造変化を起こすらしい。

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

Bottom panel: Schematic drawing of crossbridge behavior elucidated by our analyses. Unlike conventional "Tilting crossbridge hypothesis", conformational change of myosin head might involve two kinds of movements,

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

Protein molecules or their complex form “The Molecular Machines of Life” which play crucial roles in extra or intracellular environments. We have been developing the means to visualize the structure of individual particles under functional states, and to study their molecular mechanism through 3D structural analyses of their images without averaging. Utilizing our novel methodology of 3D image analyses, together with new high performance marker probes, we are challenging the real time intracellular dynamics and high resolution structural analyses of several protein complex including molecular motors and receptor molecules.

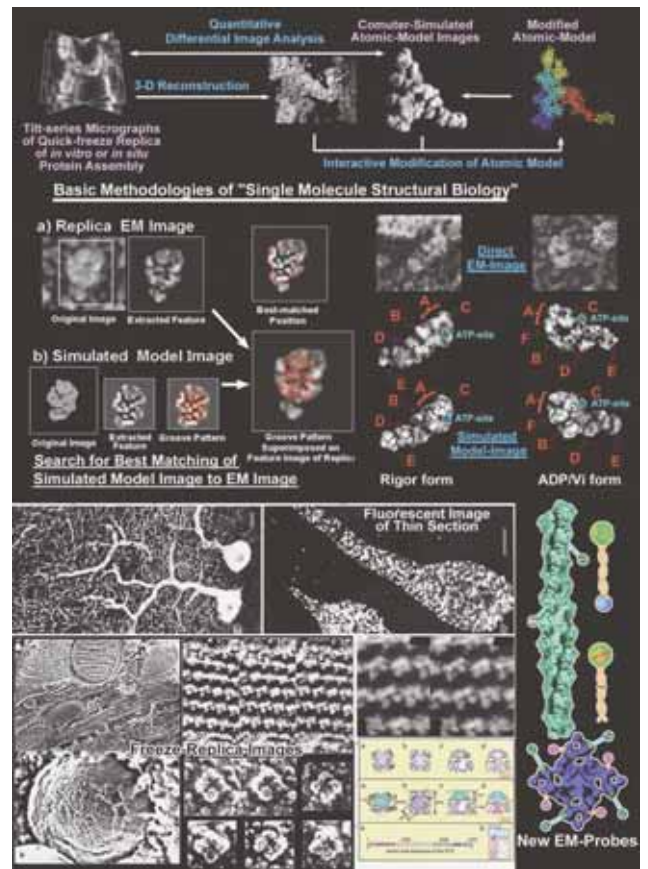


図2 上パネル: 「1分子の構造生物学」の手法を表すフローチャート。急速凍結フリーズレプリカ試料の傾斜電子顕微鏡像からの「3次元像再構成」,そして以下に示す「構造差解析法」とが基本となる。

中パネル: 蛋白質の顔(特定の方向から見た基本構造)とその表情(基本構造からの構造変化)を解析するための「構造差解析法」。急速凍結レプリカ像と、原子モデルより作成したシミュレーション像からそれぞれに特徴的な表面のパターンを抽出し、それらを定量的に比較することにより、レプリカ像が蛋白質をどの面から見たものか、またそれがどのように変化しているかを知ることが可能となった。右はその解析結果の例。実像とモデル像は良く合致している。

下パネル: 急速凍結フリーズレプリカ法は細胞内蛋白質複合体の構造解析にも適用できる。図は神経細胞in situにおけるイノシトール3磷酸受容体およびリアノジン受容体の直接像。両者とも単粒子解析法により決定された平均化した構造と一致している。右は新たに開発した電子顕微鏡・蛍光顕微鏡兼用の高分解能標識の模式図。これにより蛋白質複合体中のサブドメインの同位位置まで直接観察できる見込みである。

図2 上パネル: Flow chart to conduct "the Structural Biology of Single Molecule". Basic techniques are quick freeze etch replica electron microscopy, "3D image reconstruction" from tilted micrographs and "Differential image analysis" as below.

Center panel: Differential image analysis to define Protein's "Face" (basic structure observed from certain side) and its "Facial Expression" (structural change from the standard state). By quantitative comparison of extracted feature patterns of real replica and simulated images, we might discriminate the observed side of the target protein and its delicate, possibly function related changes. Sample images are indicated on the right. True images nicely match with artificial model images.

Bottom panel: Freeze replication is readily applicable to the analyses of intracellular protein assembly in situ. The structures of Inositol triphosphate and Ryanodine receptor molecules are shown as examples. Right figure depicts the schematic drawing of our novel probe module for electron and fluorescence microscopy. Use of such probes might enable us to define the location of specific subdomains in the target protein assembly.

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 医学博士 水谷 顕洋
 助手 医学博士 久垣 智博

Professor: Katsuhiko Mikoshiba, M. D., Ph. D.
 Associate Professor: Takafumi Inoue, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Takayuki Michikawa, Ph. D.
 Research Associate: Akihiro Mizutani, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Chihiro Hisatsune, Ph. D.

脳神経発生・分化分野は、1) ほ乳類の脳神経系がいかんしてつくられて機能するのか、2) イノシトール三リン酸 (IP₃) 誘導Ca²⁺放出の分子基盤と細胞機能は何か、3) 細胞内Ca²⁺シグナル伝達とその動態の分子機構は何か、などを解明するため、分子、細胞、個体レベルで学際的で統合的な研究を展開している。以下に、主な研究テーマを示す。

- (1) 脳神経系の発生分化と高次機能発現の研究
 - 1) 遺伝性の運動失調症や脳神経系の発生・形態形成異常などを示す突然変異マウスをモデル系として、その病因となるニューロンやグリアの機能について、最新の細胞・組織形態学的技法を活用しつつ分子レベルで解析する。
 - 2) シナプス形成 (成長円錐の伸展など) やシナプス可塑性 (海馬LTP, 小脳LTD) などの分子機構について、最新の光学的イメージング法やパッチクランプ法などを駆使して、細胞生理学的、電気生理学的に解析する。
 - 3) 遺伝子欠損モデルマウスを作製して、神経機能分子の個体レベルでの解析を行う。
 - 4) 脳神経系の発生分化、形態形成に関わる遺伝子発現の系統的な解析
- (2) イノシトール三リン酸 (IP₃) 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) IP₃受容体のIP₃リガンド作動性Ca²⁺チャンネルとしての分子構造を解明する。
 - 2) IP₃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) IP₃受容体と他のCa²⁺シグナル伝達分子の特異的発現や, Ca²⁺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IP₃誘導Ca²⁺放出を解明する。
- (3) 細胞内Ca²⁺シグナル伝達と動態, その細胞機能についてCa²⁺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IP₃/Ca²⁺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Ca²⁺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Ca²⁺動態 (Ca²⁺ wave, Ca²⁺ oscillationなど) と生理機能を解析する。

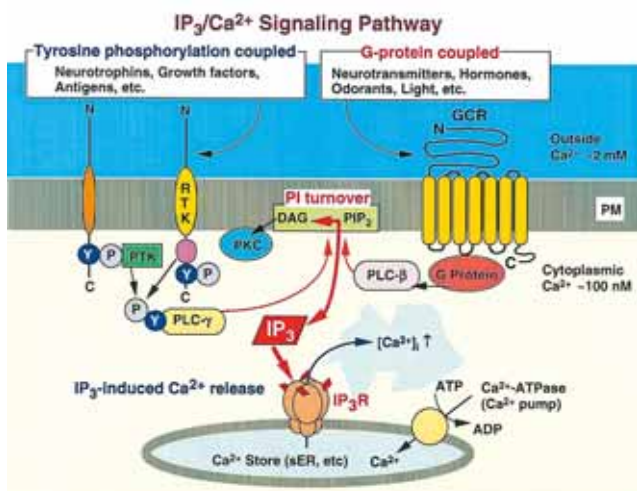


図1 IP₃誘導Ca²⁺シグナル伝達とIP₃受容体

Fig. 1 IP₃/Ca²⁺ signaling and IP₃ 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 IP₃ induced Ca²⁺ release, and 3) molecular mechanisms underlying the intracellular Ca²⁺ 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.

- (1) 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.
- (2) Molecular analyses of the inositol 1,4,5 trisphosphate receptor (IP₃R) and its signaling role in cell functions.
 - 1) Molecular bases of the IP₃R channel, as the IP₃ ligand operated Ca²⁺ channel.
 - 2) Functions (ligand binding, channel gating, etc) and modulations (by phosphorylation, ATP and calmodulin binding, etc) of the IP₃R.
 - 3) Cell and stage specific expression of the IP₃R and other Ca²⁺ signaling molecules, and dynamics of intracellular Ca²⁺ stores.
- (3) Study of the intracellular Ca²⁺ signaling and dynamics by using Ca²⁺ imaging technique.
 - 1) Physiological roles of IP₃/Ca²⁺ signaling in fertilization and embryonic development in Xenopus and mouse.
 - 2) Ca²⁺ signaling in synapse formation and synaptic plasticity.
 - 3) Intracellular Ca²⁺ signaling and dynamics (Ca²⁺ wave, Ca²⁺ oscillation, etc), and physiological functions, in a wide variety of cell types.

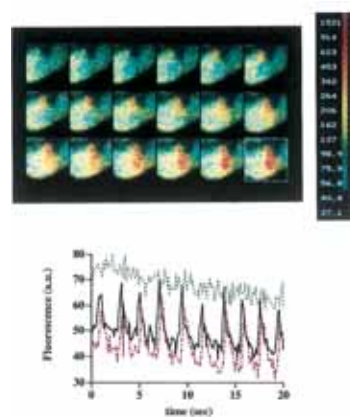


図2 カルバコール刺激したラット唾液腺単離導管の、時間空間的な細胞内Ca²⁺濃度変化

Fig. 2 Spatiotemporal nature intracellular Ca²⁺ signal induced by carbachol in the duct of rat salivary gland

教授	理学博士 中村 義一	Professor: Yoshikazu Nakamura, Ph.D.
助教授	理学博士 伊藤 耕一	Associate Professor: Koichi Ito, Ph.D.
助教授	医学博士 山村 康子	Associate Professor: Yasuko Yamamura, Ph.D.
助手	理学博士 小黒 明広	Research Associate: Akihiro Oguro, Ph.D.
助手	理学博士 大内 将司	Research Associate: Shoji Ohuchi, Ph.D.

これまでDNAの陰で脇役と見られていたRNAが、ポストゲノム研究の中心に躍り出てきた。生命活動の調節など驚くほど多彩な働きを持つRNAの機能や構造が次々と発見された。遺伝子の発現を抑制する「RNA干渉」、タンパク質がRNAと似た構造を持つ「分子擬態」、ヒトゲノムの陰のプログラムとされる膨大な「ジャンクRNA」の存在など。生命の誕生からその発展を演出してきたRNAの役割を深く洞察し、病気の原因解明や新たな医薬開発につなげたい。

1. 機能性RNA

20万種類とも予想されるヒトのノンコーディングRNA (ncRNA)の大部分は、配列相補性に依存せずに機能するタイプと予想され、未開の新大陸に等しい。これらは、タンパク質と同レベルの個性ある立体構造を形成して、様々な生体分子と相互作用するとみられる。そのような性質をもつ分子は「アプタマー」と総称される。ncRNAに内蔵された天然アプタマーを探索し、ncRNA研究の分子基盤を確立する。

2. RNA創薬

RNAの試験管内人工進化 (SELEX) 法を利用して、標的タンパク質を認識するRNA分子 (アプタマー) を創成することができる。アプタマーは標的分子の立体構造を認識できるため、この性質を利用して抗体を凌ぐRNA医薬 (RNAスーパー抗体医薬) の開発を行う。

3. 分子擬態と翻訳研究

我々は、翻訳因子によるtRNA分子の擬態という現象を発見して、遺伝暗号解読に残された難問だった、終止コドン解読の仕組みを解明し (ペプチドアンチコドンの発見, 2000年)、タンパク質によるRNAの分子擬態という生物学の新しい概念を提出した。分子擬態の機能的・構造的な分子基盤の確立と翻訳終結の分子機構の解明を目指す。

4. 酵母プリオン

出芽酵母では、解離因子の一つがプリオン様の性質 [PSI⁺] を表わす。酵母をモデル系としてプリオン発症、伝搬の分子機構の解明を目指す。

RNA no longer stands behind DNA or protein but stands in front of DNA and protein. Recent achievements and discovery in biological sciences clearly emphasized the importance of RNA in life the discovery of RNA interference, molecular mimicry between protein and RNA, and ribosome structure at atomic resolution. Moreover, the completed human genome project revealed, to our great surprise, the existence of a large amount of protein noncoding RNAs (ncRNAs). These ncRNAs can be classified into two types: one, like antisense and microRNA, those function with the sequence complementarity to the target mRNA or DNA, while the other, like aptamer, those function independent of the sequence complementarity.

In our laboratory, we aim to: 1) uncover the natural aptamers encoded in human genome; and 2) create artificial aptamers to target proteins of therapeutic interest. By studying these natural and artificial RNA aptamers, we hope to clarify superior potential of RNA, which would be highly beneficial to the development of RNA medicine and the comprehensive understanding of human genome RNA function.

In addition to these RNA oriented study, two lines of translation orientated studies are in progress: 1) to uncover the molecular mechanism of translation termination and the molecular basis of mimicry between translation factors and tRNA; and 2) to investigate the 'prion' nature associated with yeast translation factor Sup35.

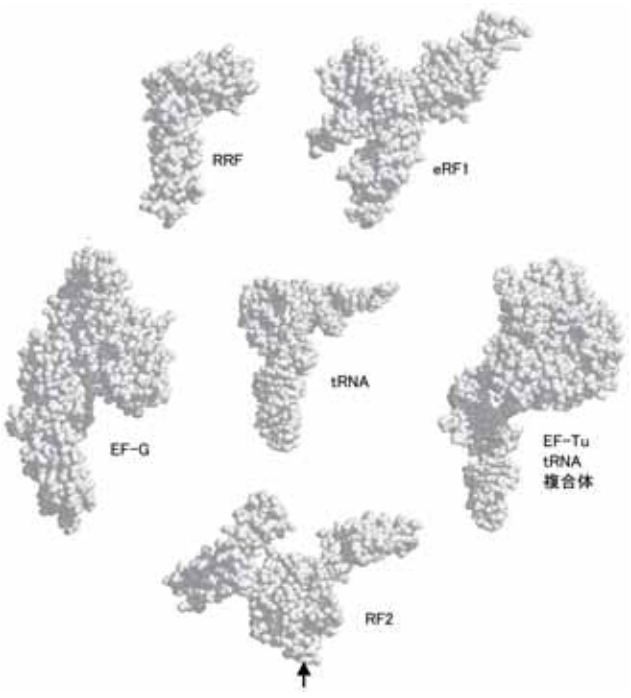


図1 分子擬態。tRNAの構造を擬態する翻訳因子の結晶構造。解離因子RF2は、矢印のペプチド・アンチコドンを使って終止コドンを読解する。

Fig. 1 Molecular mimicry between tRNA and translation factors. Of these translation factors, release factor RF2 deciphers stop codons using 'peptide anticodon' marked by the arrow.

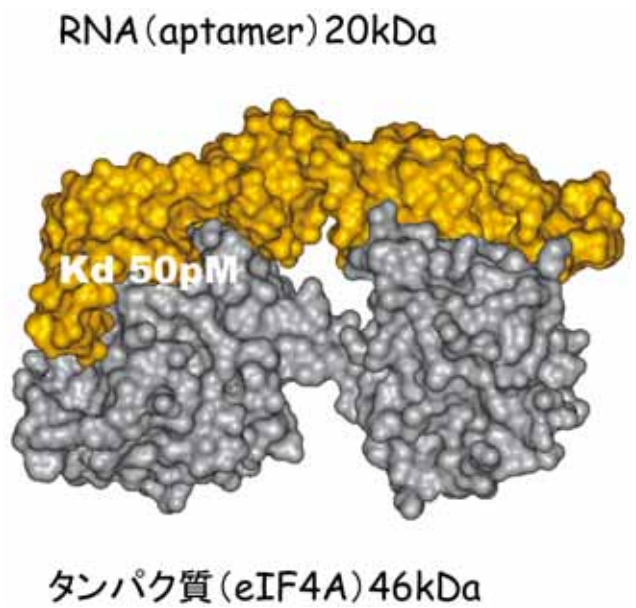


図2 標的タンパク質eIF4Aとアプタマーの結合モデル。

Fig. 2 The predicted structure of RNA aptamer bound to its target protein eIF4A.

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。

(1) 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。

(2) 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ペプチドライブラリーを用いて評価し、新しいタンパク質構造解析法の開発研究もおこなっている(図2)。

(3) 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ない。耐性化の分子機構を追究している。

(4) 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。

(5) 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
- ・ペプチド合成
- ・タンパク質調製と機能解析

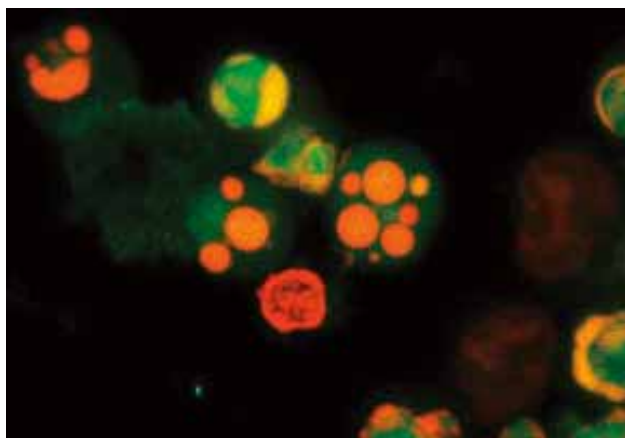


図1 細胞死を誘導したヒトT細胞Jurkatをポリ(ADP リボース)ポリメラーゼに対する切断部位特異抗体で染色した。PIによる核染色(赤色)に対してFITCで緑色に染まっているのがアポトーシス細胞。

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

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

(1) 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.

(2) 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).

(3) 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.

(4) 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.

(5) Services (Laboratory Center for Proteomics Research) Mass spectrometric analyses. Peptide synthesis. Purification of proteins and their functional analyses.

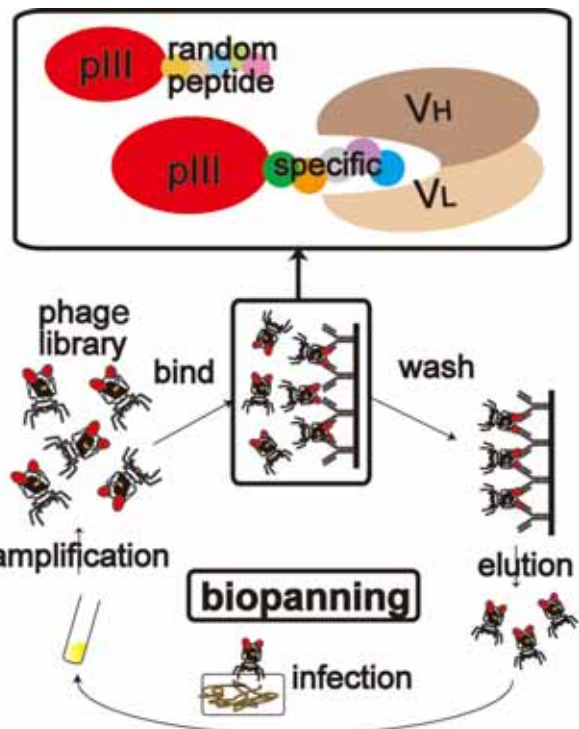


図2 ファージディスプレイ法による抗体の特異性評価

Fig. 2 The evaluation of antibody-specificity by phage display.

客員教授 理学博士 高橋 恒 夫
 客員助教授 獣医学博士 山下 匡
 寄付研究部門教員 食品栄養科学博士 伊倉 宏 一
 寄付研究部門教員 医学博士 張 曉 紅

Visiting Professor: Tsuneo A. Takahashi, D. Sc
 Visiting Associate Professor: Tadashi Yamashita, Ph.D.
 Visiting Research Associate: Koichi Igura, Ph.D.
 Visiting Research Associate: Xiaohong Zhang, M. D., Ph. D.

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

・脐帯血バンクの品質管理と国際化
 東京脐帯血バンクは、「脐帯血移植のための技術指針(厚生省脐帯血検査会)」および国際脐帯血ネットワークであるFACTH/NETCORDに基づいて細胞処理を行っている。これらの基準の維持管理システムとして我々は国際規格2001年3月に国内初、世界で2番目にISO 9002:1994を取得、2003年5月にISO 9001:2000への更新をし、これまで数々の利点を見出している。2006年7月までに、当施設では保存数約6,000unitsに達し、脐帯血出庫数も順調に伸び、2006年6月までに340の脐帯血を出庫している。また国際間での移植依頼もあり、国際レベルでのバンク協力体制も確立してきた。現在、東京脐帯血バンク医科分より約4,000 UnitをNETCORDおよびBMDWVに登録し海外からの検索に貢献してきた。また2001年7月、アジア諸国とともにAsiaCORDの設立にも貢献し、アジアにおけるドナー検索の迅速化を進めている。こうしたネットワークを通じて海外へ14 Unitを出庫してきた。また医科系における、成人への脐帯血移植は世界でトップの成績を誇る。さらにプロセスの効率化を図るために細胞処理方法、すなわちFilter法の導入に伴い、作業時間の大幅な短縮が期待される。

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

・間葉系細胞との共培養による脐帯血幹細胞の増幅
 我々は、サイトカイン(SCF, Flt3L, IL3)存在下、胎盤絨毛由来(胎児)間葉系細胞をfeederとした脐帯血由来CD34陽性細胞の増殖を検討し、in vitroにおいて間葉系細胞との共培養はサイトカインのみによるものに比し有意にCD34陽性細胞、特にCD34+CD38-細胞の増殖効率が高くマウスを用いたin vivoでも同様の結果を得ている。

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

・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、自己未梢血単球から誘導した樹状細胞(PBMo DCs)を用いて、悪性黒色腫(10例)と甲状腺癌患者(5例)の樹状細胞療法を行い第1種臨床試験が終了した。

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

・ヒト脐帯血及胎盤由来間葉系前駆細胞の単離および同定
 我々は胎盤を用いた胎児間質組織の絨毛からexplant cultureにより間葉系前駆細胞(PDMPCs)の単離法を確立した。PDMPCsはヘテロな細胞集団で、紡錘状および扁平な細胞形態からなり、その細胞集団の細胞表面抗原はCD13, CD44, CD73, CD90, CD105およびHLA class Iを発現していたが、CD31, CD34, CD45およびHLA DRは発現していなかった。これらの細胞は培養系で骨、軟骨、脂肪および神経系様細胞に分化誘導可能であり、それ故、PDMPCsは細胞治療や組織工学に利用可能な細胞ソースであると考えられた。現在、我々は動物モデルでPDMPCsの骨および軟骨形成能を示すことが出来た。また、PDMPCsから分化した神経系様細胞が機能的な神経細胞にも分化誘導可能を検討するために、細胞内カルシウム流入についても解析している。

一方、PDMPCsは培養系で分裂能力に限界があり有限寿命であるためクローナル解析が困難である。そこで、我々はPDMPCsを不死化させるために、レンチウイルスベクターを用い、ink4aによりコードされたp16腫瘍抑制遺伝子を抑制するBmi1遺伝子および細胞分裂に伴うテロメア短縮を阻止するための酵素であるテロメラーゼ逆転写酵素遺伝子(TERT)をPDMPCsに導入した。我々はBmi1およびTERT遺伝子を導入したPDMPCsから数十のクローンを作製し分化能について解析している。

同様の結果が脐帯血の間葉系細胞を単離、増幅することにより得ることができた。

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

Quality management and internationalization of cord blood bank.
 Tokyo Cord Blood Bank (Tokyo CBB) has been established in September 1997. Tokyo CBB had its management and process based on two standards: "Guidelines for The Practice of Umbilical Cord Blood Transplantation (Ministry of Health, Labor and Welfare)" and FACTH/NetCord standards developed by the international cord blood bank network. In order to keep these standards, we adopted the international quality management system, International Organization for Standards (ISO) 9002. We got certified as ISO 9002 in March 2001 and revised ISO9001: 2000 in 2003May. Tokyo CBB has registered 4,000units of CB in NetCord and Bone Marrow Donor World Wide (BMDWV) by June 2006, and shipped 430units including 14 units to foreign countries. We have established AsiaCORD to get more advantage to search the appropriate donor in Asia in July 2001. In relation to AsiaCORD, we supported to establish the first national CB bank in Vietnam.

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

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

Activation and expansion of NK cells, T cells and NKT cells in cord blood.
 Unlike cytotoxic T cell, NK cells and NKT cells are known as non HLA restricted, non tumor specific cytotoxic activity. Expansion and activation of NK cells and NKT cells might greatly contribute to GVLT effects and engraftment after stem cell transplantation. We have studied the effect of IL15 and Flt3L on the expansion and activation of NK and T cell. These expanded cells expressed perforin molecules, and cytotoxic activity against K562 was also recognized, which was inhibited by perforin inhibitor. These results indicated that CB derived NK cells and NKT cells may contribute to the clinical use for anti leukemia therapy.

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

We compared the expression levels of the homing related molecules on CB, mobilized peripheral blood (mPB) and bone marrow (BM) derived CD34+ cells using four color FACS analysis. Significantly lower expressions of CD49e, CD49f, CD54 and CXCR4 on CB derived CD34+ cells were observed compared with those of mPB, and BM derived CD34+ cells. Ex vivo manipulation of cord blood cells with human stem cell factor (SCF) resulted in the enhanced expression levels of these molecules and engraftment of human blood cells in NOD/SCID mouse. To overcome the physical obstacle for engraftment of stem cells, we have been studying the intra bone marrow injection of cord blood cells using NOD/SCID mouse.

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

On the other hand, PDMPCs have a limited replicative life span when serially passaged in culture. It is difficult for us to investigate clonal analysis of PDMPCs. To establish immortal PDMPCs, we transduced PDMPCs with cDNA encoding Bmi1, which downregulates the p16 tumor suppressor gene encoded by the ink4a locus and/or telomerase catalytic component (TERT), which prevents the progressive shortening of telomeres that occurs as the number of cell divisions augments, by lentiviral vector. We examine to isolate clones from these cells and analyze the differentiation ability of clones. Similar results were obtained in mesenchymal progenitor cells isolated from cord blood.

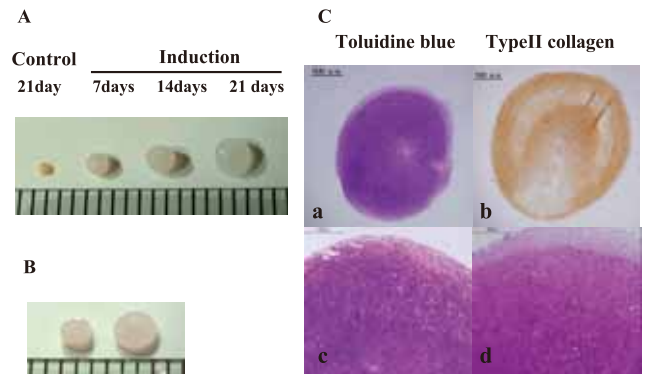


図2 胎盤由来間葉系前駆細胞から軟骨誘導
 A: ペレット培養法による軟骨形成
 B: BMP-2存在下軟骨形成(右)
 C: トルイジンブルーとII型コラーゲン染色

Fig. 2 Chondrocyte generation of human placenta derived mesenchymal progenitor cells.
 A. Chondrocyte generation by pellet culture.
 B. BMP stimulate generation (right)
 C. Toluidine blue and Typell collagen staining of the pellets.



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

客員教授 理学博士 服部 成 介
 客員教員 理学博士 小 迫 英 尊
 客員教員 理学博士 飯 田 直 幸

Visiting Professor: Seisuke Hattori, Ph. D.

Visiting Research Associate: Hidetaka Kosako, Ph. D.

Visiting Research Associate: Naoyuki Iida, Ph. D.

プロテオミクス技術による細胞内シグナル伝達系の解析

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

新規キナーゼ基質の同定

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

同様な方法で、p38 MAPキナーゼの新規基質としてBAG2 (Bcl 2 associated athanogene 2) を同定している。またこれまでリン酸化ペプチドの精製に適用されてきたIMAC (immobilized metal affinity chromatography) の条件を検討し、リン酸化タンパク質の精製に応用できることを示している。

T細胞シグナリングの解析

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

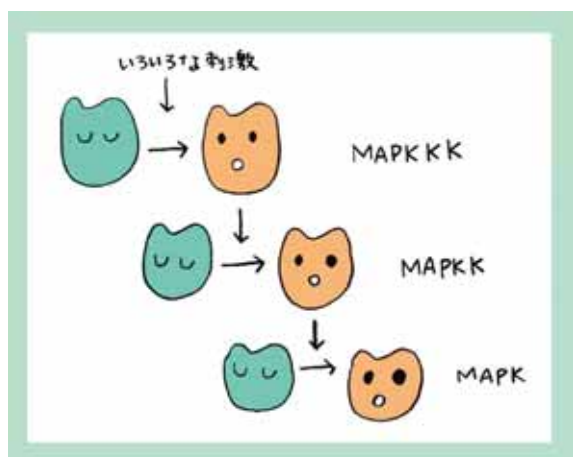
Signal transduction studies by proteomic analyses

Two dimensional gel electrophoresis is a general tool for proteomic studies. However, proteins of low abundance such as factors involved in signal transduction have been overlooked hidden behind huge spots of proteins of cytoskeleton or metabolic enzymes. To overcome this problem, we combined pre-fractionation techniques with 2 D gel.

One method is phosphoprotein purification. Phosphoproteins were purified from cells in which a kinase of interest was either activated or suppressed. Samples were analyzed by 2 D electrophoresis. By this approach we succeeded in the identification of nearly 30 substrates of ERK (extracellular signal regulated kinase). About half of the identified proteins are known ERK substrates, indicating the efficacy of our approach. We also identified novel p38 MAP kinase substrate by a similar approach. Also, we analyzed raft membrane fractions from activated or quiescent T cells, which revealed that proteins having PH domains are recruited to raft fractions upon activation. Since this fraction contains T cell receptor, components for T cell immunosynapse formation will be identified by this approach.

文献

Ueda, K. Kosako, H. Fukui, Y., and Hattori, S. Proteomic identification of Bcl2 associated athanogene 2 as a novel MAP kinase activated protein kinase 2 substrate. J. Biol. Chem. 279, 41815-41821.



客員教授 (併)	医学博士	上 田 実	Visiting Professor:	Minoru Ueda, DDS, PhD
客員助教授	医学博士	各 務 秀 明	Visiting Associate Professor:	Hideaki Kagami, DDS, PhD
客員教員	医学博士	本 田 雅 規	Visiting Research Associate:	Masaki Honda, DDS, PhD

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

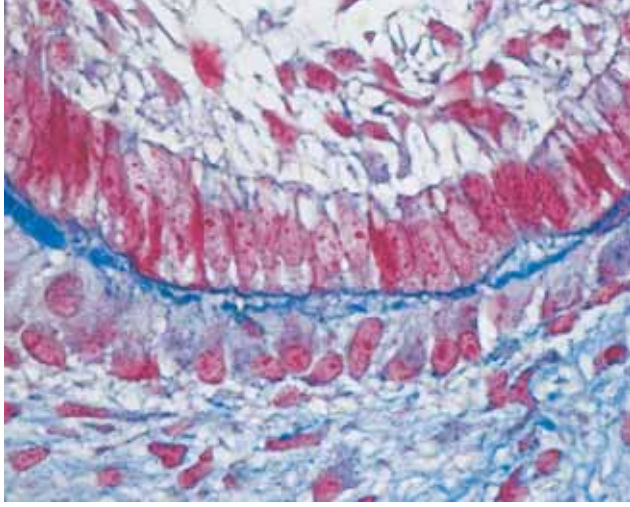


図 2 再生した歯の組織像 (アザン染色・強拡大)
エナメル芽細胞が基底膜上にきれいに配列している。

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

客員教授 医学博士 渡辺 すみ子
 助手 工学博士 佐藤 伸哉

Professor: Sumiko Watanabe, Ph.D.

Research Associate: Shinya Satoh, Ph.D.

我々の研究室では血液・免疫細胞の機能や発生のサイトカインシグナル伝達による制御機構の研究をおこなってきたが、これまで蓄積した業績を背景に網膜神経細胞を対象をひろげ、幹細胞からの組織の分化とその制御による再生研究に取り組んでいる。モデル系として種々の遺伝子操作マウス、培養細胞・組織に加えゼブラフィッシュを使用し、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

- (1) 網膜発生の制御機構と関連遺伝子の研究。特異的遺伝子発現の解明。
- (2) マウス網膜幹細胞の同定と単離，増幅，網膜再生
- (3) ES細胞を用いた網膜再生，移植
- (4) 血球，免疫細胞の発生分化における細胞系列の決定機構
- (5) 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
- (6) 歯胚発生分子機構

であるが、異なる組織を扱うことにより組織幹細胞の共通原理と組織特異的分子機構を明らかにすることを目標としている。これらの研究により幹細胞の同定，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。

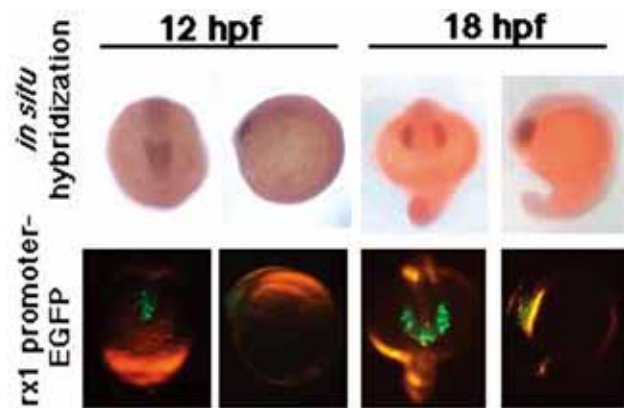


図1
 ゼブラフィッシュによる解析。ゼブラフィッシュは発生が早く胚が透明なので観察が容易であり、また過剰発現，ノックダウンの実験を極めて容易に行うことができる。またマウスと遺伝子構造も似ているためマウス遺伝子の迅速な解析系としても利用することができる。図は網膜特異的遺伝子rx1のプロモーター領域を単離し，その制御下でEGFPを発現させた写真。マウスrx1プロモーターを導入した場合も同様に網膜特異的にEGFPが発現する事から転写調節機構が保存されている事が予想される。

Fig. 1
 The zebrafish is an excellent model vertebrate for the analysis of CNS development for many practical reasons including high similarity of its genetic and structural organization with that of other vertebrates, including mammals. In addition, another advantage of using the zebrafish is that knock-down and overexpression experiments can be done easily. We cloned promoter region of retinal specific gene, rx1, and this figure shows retinal specific expression of EGFP under regulation of rx1 promoter in the zebrafish. Mouse rx1 promoter EGFP was also expressed in retinal specific manner in zebrafish, indicating common mechanisms underlie in mouse and zebrafish.

Our ultimate goal is to understand molecular mechanisms underlying the signal transduction from membrane to nucleus regulating stem cells for their self renewal and differentiation into particular cell lineage and tissues. For these purposes, we work on various organs and cells including neural, dental, lymphoid and hematopoietic cell lineages as well as pluripotent embryonic stem cells. As *in vivo* models, we use mice, and zebrafish for the studies of molecular mechanisms of differentiation and development of tissues and organs.

The specific activities are as follows:

- (1) Molecular mechanisms of retinal development in vertebrate
- (2) Retinal specific transcriptional regulation
- (3) Identification of retinal stem cells
- (4) Regeneration of retinal cells from mouse ES cells by transplantation.
- (5) Expansion of haematopoietic stem cells by manipulation of cytokine signals.

By using different tissue systems and animal models, we aim to reveal fundamental as well as specific mechanisms of stem cell regulation. 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.

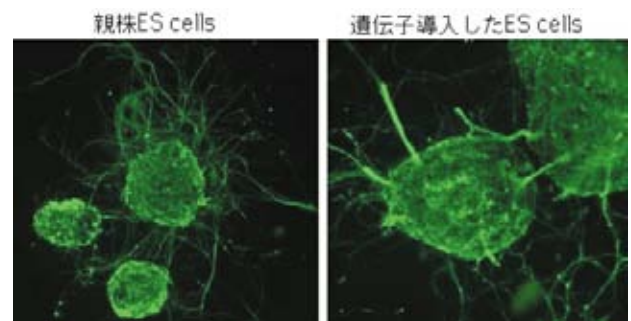


図2
 ES細胞による網膜再生。マウスES細胞に網膜特異的遺伝子を導入してフィーダー細胞上で神経系に誘導すると，遺伝子導入されたES細胞は計上遺伝子発現パターンなどが親株とまったく異なる神経細胞に分化した。図には神経マーカーbeta tubulinで染色した像を示す。この遺伝子導入ES細胞をin vitroで宿主網膜に移植すると網膜の一部の亜集団に分化し，またそれらの細胞は機能的なシナプスを作っていることが電気生理により示された。

Fig. 2
 Neural differentiation of mouse ES cells and their derivatives with ectopic expression of retinal specific genes. Parental ES cells and modified ES cells have different morphology and gene expression patterns when they are differentiated into neural cells. When the modified ES cells were transplanted into host mouse retina, the cells differentiated into subsets of retinal cells, and their functional synaptic formation was confirmed by electrophysiology.

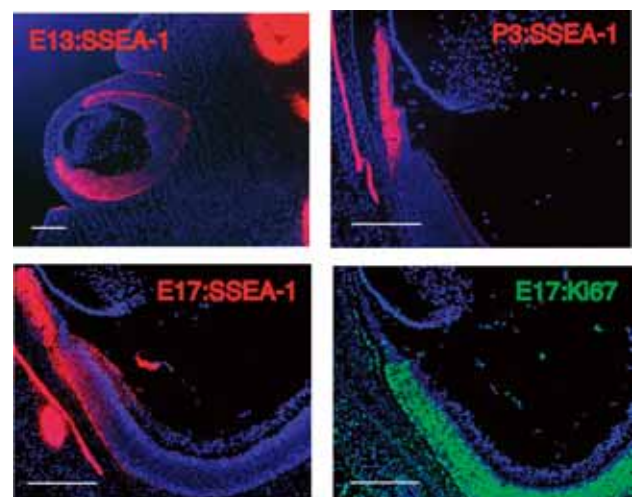


図3
 網膜細胞系譜の決定と幹細胞の同定，単離。未分化な網膜を様々な指標で分離しその増殖能と分化能を検討している。図はその一例で脳の神経幹細胞の指標として知られるSSEA 1が未分化網膜の辺縁部に存在していること，ほとんどのSSEA 1陽性細胞は増殖していることを示す。SSEA 1細胞を単離して培養すると，他の細胞より強い増殖能を示すことからSSEA 1が網膜の未分化プロジェクター細胞の指標となることが示唆された。

Fig. 3
 Identification and isolation of retinal stem cell from mouse embryo. Using various markers, we examined proliferation and differentiation abilities of sub population of immature neural retina. This figure shows one of these markers, SSEA 1, which is known as a marker of neural stem cells in brain, are expressed in the ciliary marginal zone of the immature retina. SSEA 1 positive cells are proliferating and in vitro culture of these cells showed high proliferating activity of them, indicating that the SSEA 1 is a marker of retinal progenitor cells in the mouse.

助教授 医学博士 上 昌 広
 助手 医学博士 田 中 祐 次
 助手 医学博士 松 村 有 子

Associate Professor: Masahiro Kami, M.D., Ph.D.
 Assistant Professor: Yuji Tanaka, M.D., Ph.D.
 Assistant Professor: Tomoko Matsumura, M.D., Ph.D.

本研究室の名称である「ヒューマンネットワーク」には、医療者のネットワーク、患者のネットワーク、医療者 患者ネットワーク、そして、医療界を超えたネットワークの意味が含まれる。このネットワークを、医療を中心に構築することを目標としている。今まででない分野であるが、批判ではなく実行を中心とした研究を進めている。

2005年実績

① 未承認薬

多発性骨髄腫に対する治療薬として開発されたプロテアソーム阻害剤 (Velcade) は、その効果の高さから患者からの要望も強く、承認される前より個人輸入という形で日本国内の一部の患者によって使用されていた。使用患者において、欧米や日本の治験では重要視されなかった呼吸器合併症が高率に認められたため、われわれの医師ネットワークを用いて、使用症例13症例をまとめ、合併症に関しての報告を行った(1)。今後も、未承認薬の問題点を明らかにし、患者がよりよい医療を受けることができるシステムの提言を行い実施していく予定である。

② 福島県大野病院産婦人科医師逮捕問題

平成18年2月18日に逮捕された福島県大野病院産婦人科医師に対して福島県立医大産婦人科佐藤教授の行っている支援活動の協力を行った。我々の医師ネットワークを用いて11,000名を超える電子署名を集め、佐藤教授を代表とした「周産期医療の崩壊をくいとめる会」の事務局として活動している。この活動は、インターネットを用いることですばやく全国レベルの活動を行えたこと、そして、現場からの医療者の声を世の中に提示した点で画期的である。

③ 患者会

インターネットの発達に伴い、患者会のあり方に変化が訪れている。従来型の疾患中心・講演会などの勉強会を中心とした大きな患者会に加え、病院を中心とした小さな患者会とインターネットによる個人のホームページまたはブログに集まる患者会が重要となってきた。病院を中心とした患者会の設立を補助し、今後の患者会のあり方、役割に関して提言し実行していく。更に、病院におかれているフリーペーパー(ロハスメディカル)などを通じて患者リテラシーの向上を進めている。

④ 真菌感染

輸入感染症の動態調査を進めている。また、臨床の場で造血幹細胞における真菌感染症に関しての研究を進めた。それらの結果と文献的検索をまとめ、ミニ移植における真菌感染症に関してのレビューを発表した(2)。

2006年目標

上記① ④に加え以下の項目に関して活動を広げる。

⑤ 現場からの医療改革

国立大学病院の独立法人化、医療費改正、ジェネリック問題など国を中心とした医療改革が進む中、医療現場の医療者との意識の差が明らかになっている。そこで、今まで行われることのない医療現場からの医療改革の提言の必要性を強く感じ、シンポジウムの開催を含め実行していく。

⑥ 臨床研究促進

悪性腫瘍や造血幹細胞移植に関しての多施設共同研究を行い、成果を英文雑誌に発表している。現在は臨床研究の必要性を誰もが理解しているが、実際には十分に機能していない。その原因を究明し、解決策を提言していく。

⑦ がん患者に対する在宅医療と通院治療の連携

現在の医療システムは感染症患者(若年、感染する、治る)の治療を中心に考えられていたが、がん患者(高齢、感染しない、治らない)の治療に関しては新たな医療システムの構築が必要となる。そのひとつとして、在宅医療と通院治療を連携するシステムが必要であると考え、その実態調査を進めながら実践医療を行う予定である。

- 1) Miyakoshi et al, Blood 2006; 107(9) 3492-4.
- 2) Kami et al, transplant infect Dis, in press.

The term "human network," the official name of this research department, encompasses a comprehensive network that goes beyond the boundaries of the medical profession to include the network of medical professionals, that of patients, and that between medical professionals and patients. The department aims to build this network with a focus on medicine. Although it is an area field that has never been explored, we conduct research with an emphasis on practical implementation over criticism.

Achievements in 2005

① Unapproved Drugs

The proteasome inhibitor (Velcade) which was developed as a treatment for multiple myeloma, is in high demand by patients for their efficacy in treatment and has been used by a number of patients in Japan through private importation before it was officially approved. Since the patients who have taken Velcade were observed to suffer from a high incidence of respiratory complications, which had not been considered serious in clinical trials in Europe and Japan, we compiled 13 cases of such patients through our network of doctors to conduct a study of these complications (1). We will continue to commit ourselves to addressing the issues associated with unapproved drugs and to propose recommendations for a system better enabled to provide patients with improved medical care.

② The arrest of an Obstetrician Gynecologist from Ohno Hospital, Fukushima Prefecture

We participated in the activities initiated by Professor Sato, Department of Obstetrics and Gynecology, Fukushima Medical University to support the obstetrician gynecologist from Ohno Hospital in Fukushima Prefecture, who was arrested on February 18, 2006. Through our network of doctors, more than 11,000 electronic signatures were collected. We have then set up an office for the Society of Preventing the Collapse of perinatal Medicine, headed by Professor Sato. Its activities have been groundbreaking in how they have made use of the internet to spread the society's message quickly throughout the country and how they project the voice of the medical community to the entire world.

③ Patients' Organizations

The development of the internet is changing the nature of patients' organizations. In addition to conventional large scale and disease oriented patients' organizations emphasizing workshops and seminars, there is a growing importance of small scale hospital based patients' organizations and the community of patients' personal websites and blogs on the internet. We will continue to assist in the establishment of hospital based patients' organizations and offer recommendations for the role and functions of these organizations. We are also promoting patients' literacy by making available free magazines (e.g. Lohas Medical) at clinics and so forth.

④ Mycotic Infection

We are performing surveys on imported infectious diseases. We also promote clinical research on fungal infections in hematopoietic stem cell transplants. We compiled (2) the results and bibliography and reported the results of our review on fungal infections in a mini transplant.

Objectives for 2006

In addition to the above ① ④, activities will be expanded to the following areas.

⑤ Field based Medical Reform

While progress continues on medical reforms led by the government, including the transformation of national university hospitals into independent administrative institutions, review of medical expense system, and issues surrounding generic drugs and so forth, the differences in perceptions among professionals in the medical field have become more pronounced. Thus, in view of the necessity for field based medical reform, which has previously been given little attention, we will make recommendations for such reform and hold symposia pertaining to such.

⑥ Promotion of Clinical Research

We have conducted collaborative studies at multiple facilities on malignant tumors and hematopoietic stem cell transplants and reported the results in English language journals. Although everyone currently recognizes the necessity for clinical research, in actuality it is not been sufficiently functional. We will identify the cause of this and recommend solutions.

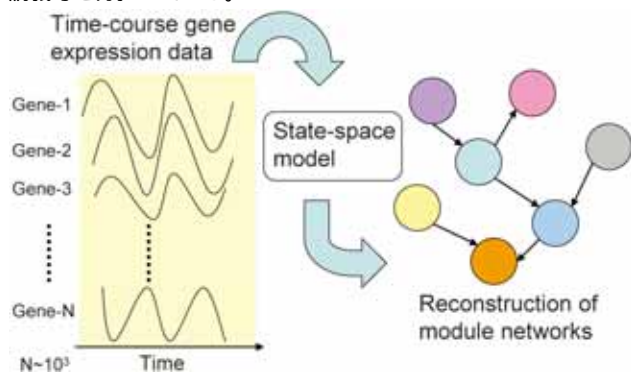
⑦ Coordination between Homecare and Outpatient Services for Cancer Patients

While the medical system currently focuses on the treatment of infectious patients (young, infectious, curable), we need to establish a new medical system for the treatment of cancer patients (elderly, non infectious, incurable). To that end, we feel the necessity for a system to coordinate homecare and outpatient services, and will continue to implement practical medicine while conducting field surveys.

特任講師 理学博士 山口 類
 特任助手 理学博士 土井 淳

Lecturer: Rui Yamaguchi, Ph.D.
 Research Associate: Atsushi Doi, Ph.D.

当研究室は、膨大かつ多種多様な生物データに対して、さまざまな統計的アプローチを用いることにより、分子レベルにおける生物学的知見を発見すること、および、さまざまな統計的手法を適切に適用できるように研究者を教育することを目的としている。現在の主な研究課題には、以下のようなものがある。1) 状態空間モデル等の時系列モデルを用いたマイクロレイ遺伝子発現データからの生物学的知見の抽出。2) 統計的アプローチによる生体シミュレーションモデルのパラメータ推定手法の開発および応用。前者の研究では、例えば、遺伝子間の制御機構の解明や、薬剤など化学物質に対する遺伝子発現の反応の予測などを目的としている。後者の研究では、多くの場合熟練した研究者が手動で行っていたパラメータ設定を、実データとモデルに基づき自動的に適切に行うことを目指している。また教育面では、京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンターおよび東京大学医学研究所ヒトゲノム解析センターの連携によるゲノム情報科学研究教育機構のバイオインフォマティクス人材養成プログラムの講義等を分担している。



The main projects of our laboratory are to discover new biological meaning at molecular level from vast array of biological data by various statistical approaches, and to train the researchers for the right use of statistical techniques. The subjects under investigation are as follows: 1) extraction of useful information from time course gene expression data by using time series models, 2) development of parameter estimation methods for bio simulation models with statistical approaches. The former research is intended to discover regulatory mechanism of many genes, and to predict gene expressions after dispensing drugs or chemical materials, etc. The latter one is intended to set parameters in a simulation model automatically and properly using real data, instead of hand tuning by expert researchers. On the other hand, as one of the educational activities, we give lectures for researchers and graduate students as a part of "Education and Research Organization for Genome Information Science" which is Bioinformatics Joint Project between Bioinformatics Center, Institute for Chemical Research, Kyoto University and Human Genome Center, Institute of Medical Science, University of Tokyo, with support from Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology.

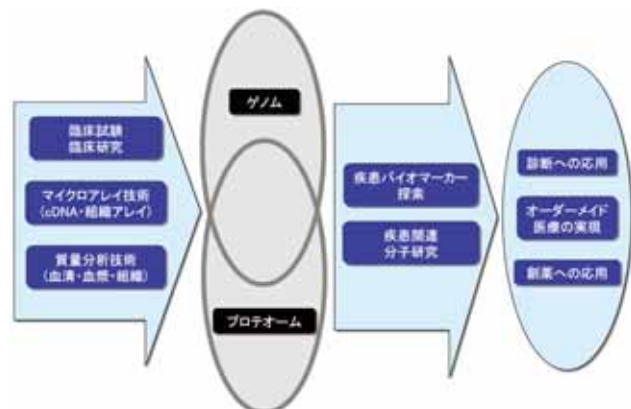
先端臨床プロテオミクス共同研究ユニット

特任助教授 医学博士 醍醐 弥太郎

Associate Professor: Yataro Daigo, M.D., Ph.D.

当ユニットは産学連携体制(医科学研究所, 島津製作所, 凸版印刷)のもと、ゲノム解析・プロテオーム解析の二つのグループが連携をとりオーダーメイド医療実現化のため、疾患に関連するタンパク質や遺伝子の基礎医学研究を包括的に進めている。プロテオーム解析では多数の生体試料(がん組織, 血清検体など)を質量分析技術で解析することにより、がんをはじめ各種疾患に関連するタンパク質の動態を網羅的に探索している。あわせてこれらの疾患特異的タンパク質データをcDNAマイクロアレイ, 組織マイクロアレイ解析で蓄積された各種疾患および正常組織のゲノム・プロテオーム解析情報・臨床情報と統合することにより、新規診断・治療法(創薬)の開発に有用なバイオマーカーの同定とその詳細な機能解析を進め、さらにはそれらを用いた医療現場で利用可能な診断システムの開発を行っている。臨床応用を含む社会還元を常に念頭に置きながら、疾患の発症機構に関わる基礎医学研究と新規のゲノム・プロテオーム解析技術の開発を行い、その臨床応用に取り組んでいる。

The objectives of our research are: 1) To generate new proteome techniques coupled with genome and transcriptome technology for the screening of disease related biomarkers, 2) To obtain protein expression/modification profiling by a focused proteome approach, and 3) To develop novel diagnostics and therapeutics using biomarkers for human disease treatment. Using MALDI TOF MS/LC MSn with high throughput screening of DNA microarray system and tissue microarrays covering hundreds cases of archived clinical samples for validation of the potential target proteins, we are performing comprehensive gene and protein expression profile analyses of serum and tissue materials from several human cancers and diseases. We believe that this effort will provide valuable information that will eventually enable us to identify novel diagnostic/predictive biomarkers and therapeutic target molecules for human cancers.



研究拠点形成 治療ベクター開発室

CORE FACILITY FOR THERAPEUTIC VECTORS

教授(室長) 医学博士 田原 秀 晃 (併任)
 特任助教授 医学博士 佐々木 勝 則
 特任助手 歯学博士 片野 尚 子

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

がんや感染症に対する探索的臨床研究(Translational Research)に用いるウイルスベクターの作製と治療に用いる細胞の調製とが可能な「治療ベクター開発室」が2001年8月、東京大学医科学研究所内に設置された。2006年4月現在、3つの個別プロジェクトが進行中である。1件目は医科研附属病院・外科の「ヒトInterleukin 12遺伝子発現アデノウイルス導入樹状細胞を用いた癌免疫遺伝子治療」プロジェクトで、遺伝子組換えアデノウイルスの全塩基配列を組み込んだコスミドDNAを精製した後、Working Cell Bank 293細胞を用いてアデノウイルスベクター製造を開始した。現在Master Virus Seed Stock(MVSS)作製が終了し、MVSSの品質検査を実施中である。2件目のプロジェクトは同じ医科研附属病院・外科の「進行悪性黒色腫に対するgp100由来エピトープペプチドと適正成熟化樹状細胞を用いたワクチン療法」である。細胞分離システムELUTRAを用いたCD14陽性細胞の濃縮とOK 432/PGE2による適性成熟化樹状細胞の培養後、ペプチドをパルスし腫瘍抗原提示樹状細胞を作製する一連のドライ・ランが終了し、臨床試験の開始に向けての準備が整った。3件目のプロジェクトは東大附属病院・脳神経外科の「ウイルス療法の臨床研究 遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスを用いた悪性腫瘍の標的治療」である。ウイルス調製のための標準作業手順書の整備ならびに作業従事者の教育訓練が終了し、ウイルス製造開始の準備が整った。2006年2月より単純ヘルペスウイルス産生細胞であるVero細胞のMaster Cell BankならびにWorking Cell Bank作製のドライ・ランを開始した。

The primary function of the Core Facility for Therapeutic Vectors (CFTV) is to support translational research projects that require clinical graded virus vectors and/or manipulation of patients' tissues.

Three projects are now in progress in the CFTV.

1. Cancer gene therapy using IL 12 transduced dendritic cells.; We have prepared the Master Virus Seed Stock which contains a replication defective recombinant adenoviral vector encoding human interleukin 12 driven by a CA promoter.
2. Vaccine therapy with peptide loaded dendritic cells for advanced melanoma.; We have finalized standard operating procedures for preparing clinical grade dendritic cells stimulated with OK 432/PGE2 and loaded with the peptide from gp 100, a melanoma associated antigen. The clinical trial of cancer vaccine therapy is now open for patient enrollment.
3. Oncolytic virus therapy using genetically engineered herpes simplex viruses for malignant brain tumors.; The pilot run has been performed to establish master and working cell banks for producing HSV.

研究拠点形成 ゲノム医療プロジェクト推進

PROMOTION OF GENOME BASED MEDICINE PROJECT

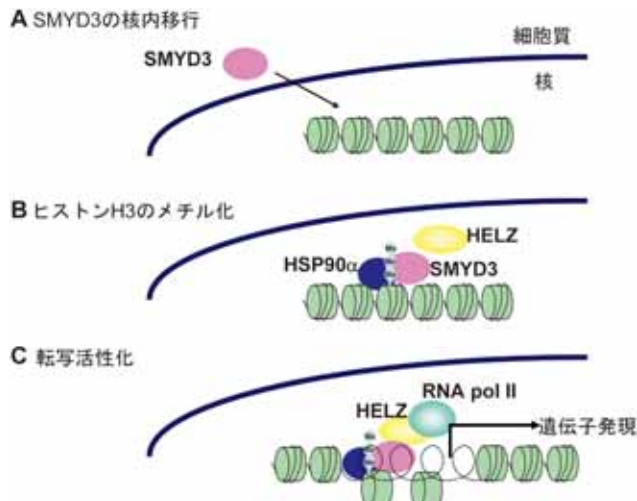
特任教授 医学博士 古川 洋 一

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

ヒトのがんの発生・進展には、数多くの遺伝子の発現異常が関与している。網羅的な遺伝子発現解析により、腫瘍の生物学的特徴を明らかにし、また詳細な遺伝子分類ができることが示された。我々はcDNAマイクロアレイを用いたゲノムワイドな遺伝子発現情報を基に、次の3つのプロジェクトを展開している。(1) 抗がん剤グリベックの治療を受けた慢性骨髄性白血病患者の白血球細胞の遺伝子発現情報と、抗がん剤イレッサの効果の判明している肺腺がん細胞の遺伝子発現情報から、それぞれの抗がん剤に対する感受性を予測するシステムを構築した。新たにこれらの抗がん剤治療を受ける患者さんに対して、治療前に効果の予測を行い、治療法の決定に利用するプロジェクトを、医科研附属病院と共同で提供している。(2) 大腸がんや肝がん、乳がんを高発現する新規の治療標的分子SMYD3を同定した。SMYD3はヒストンメチルトランスフェラーゼであるが、この分子がどのようなメカニズムで腫瘍の増殖に関与しているか検討している(図)。(3) 大腸がんや肝がん、胃がんが発現増加している遺伝子のうち、増殖に関与している新たな治療標的候補分子の同定と機能解析を行っている。

Carcinogenesis involves not only genetic alterations but also change of expression in a number of genes. Global expression profile analysis of human tumors facilitates the clarification of their biological characteristics and precise molecular diagnosis. We are now working on the following three projects.

- (1) Using cDNA microarray, we analyzed expression profiles of chronic myeloid leukemia (CML) cells with high sensitivity and those with low sensitivity to Imatinib (Glivec) and expression profiles of lung adenocarcinomas with high sensitivity, and those with low sensitivity to Gefitinib (Iressa). Based on these data, systems to predict sensitivities of these tumor cells to each treatment have been developed. As a prospective study in collaboration with department of medicine in Institute of Medical Science Hospital, we provide these systems to patients who are going to be treated with Glivec or Iressa.
- (2) We identified *SMYD3*, a gene frequently upregulated in human colorectal, hepatocellular, and breast carcinomas. *SMYD3* encodes a protein containing histone methyltransferase activity that promotes the growth of cancer cells. We have been investigating the mechanisms of its growth promotion.
- (3) Using global expression profiles of colorectal, liver, and gastric cancers, we have been searching for novel therapeutic targets that are involved in the proliferation of cancer cells, and analyzing their function.



特任助教授

医学博士 中島 秀明

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

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

1. 胎盤をソースとした間葉系幹細胞分離法および分化誘導法の確立

間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) は筋・骨・軟骨・脂肪・心筋細胞などに分化する能力を持つ細胞であるが、その分離・培養・分化誘導技術は未熟であり臨床応用には依然として障壁が多い。本研究は、MSCのソースとして胎盤を用い、MSCを分離・培養する技術と各種組織細胞への分化誘導法の確立をめざしている。これらを通じてMSCの分離・分化誘導が簡便かつ効率的にできるようになれば、骨・神経・心筋・血液疾患などの患者への臨床応用の道が大きく開かれるものと期待される。

2. 骨髄間質細胞による造血幹細胞の自己複製制御メカニズムの解明

骨髄間質細胞は骨髄中に存在する間葉系細胞群であるが、これらにより構成される造血微小環境 (niche) は造血幹細胞が生着し、自己複製を行う場として極めて重要である。我々は間質細胞に発現し造血幹細胞の自己複製を支持する分子として、ISFとmKirreの2つを同定した。現在これら分子がどのように造血幹細胞の自己複製を促進しているのか、その分子メカニズムをcDNAマイクロアレイ、遺伝子ノックアウトマウス、レトロウイルスを用いた発現クローニングなどの手法を用いて解析を進めている。これらを通じて造血幹細胞の自己複製を制御するシグナル・遺伝子ネットワークの解明をめざしている。

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

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

1. Isolation and characterization of placental MSC

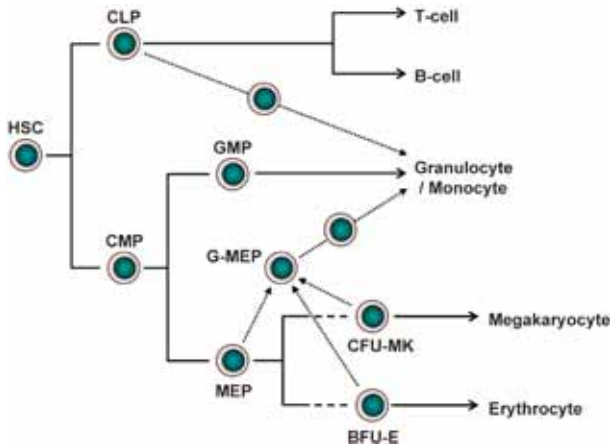
MSC is a cell that has a capacity to differentiate to muscle cells, bone, cartilage, adipocytes or cardiomyocytes. The methods for isolation, culture and differentiation induction of MSC are still not fully established for clinical application. This project focuses on the development of novel methods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

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

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

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

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



C/EBP による血液前駆細胞の骨髄球系細胞への転換 (Redirection of hematopoietic progenitors to myeloid lineage by C/EBP)

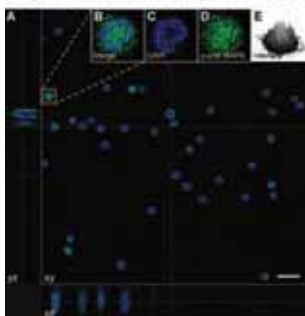
特任助教授

医学博士 依馬 秀夫

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

幹細胞を用いた新しい再生医療を実現化するための基礎研究を行っています。本領域では特にマウス造血幹細胞をモデルとして「幹細胞の自己複製と分化の分子機構の解明」を目指しています。

Signal transduction analysis for HSCs



具体的には造血幹細胞の能力を支持する分子基盤、造血幹細胞の運命を制御する細胞内外のシグナル、造血幹細胞の分化様式と分化に伴うエピジェネティックな変化、造血幹細胞に特有な細胞周期に興味があります。また、生体内での造血幹細胞制御を明らかにするため、特定のニッチシグナルの同定を試みています。一方、発生生物学的観点から造血幹細胞の前駆細胞を同定することによって造血幹細胞の増幅機構を明らかにし、再生医療に役立てたいと考えています。

Stem cell biology provides basic knowledge and tools for regenerative medicine, particularly for stem cell therapy. Hematopoietic stem cells (HSCs) are not only the best studied stem cells but also an excellent model for studying other stem cells. However, the molecular mechanisms of their self renewal and differentiation remain poorly understood. In this project, we have addressed fundamental biological questions such as:

- 1) What is molecular basis in HSCs to support their self renewal?
 - 2) How is the HSC fate determined intrinsically and extrinsically?
 - 3) What is a differentiation manner of HSCs?
 - 4) How are epigenetic changes associated with differentiation processes in HSCs?
 - 5) Is there any cell cycle regulation specific for HSCs?
 - 6) What are molecular interactions between HSCs and their niches?
- Moreover, as adult HSCs have limits in self renewal potential, we have sought primitive HSCs in developing embryos in order to understand the mechanism for a robust *in vivo* expansion of HSCs. Hopefully, all these studies will lead to *ex vivo* expansion of HSCs, that is the most wanted procedure in stem cell based regenerative medicine.

助教授 医学博士 服部 浩一
 助手 医学博士 ハイジーツヒ・ベアーテ

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

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

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

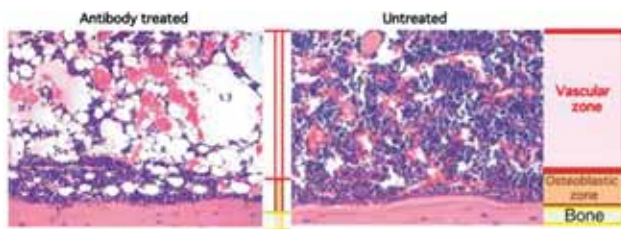


図 5 抗癌剤5-FU投与後10日間、抗CXCR4抗体を隔日投与した群（左）とその対照群の骨髄組織所見。Osteoblastic zoneからVascular zoneへの骨髄細胞の移動と成熟分化が阻害され、骨髄組織の再生が著しく障害されている。骨髄組織再生におけるSDF-1/CXCR4シグナルの重要性が示唆される。

Everyone thought that stem cells randomly hang out in the bone marrow. Now we have defined several dynamic microenvironments within the bone marrow that dictate maturation and survival of stem and progenitor cells. There is the surface of the bone, the osteoblastic niche, which provides a safe haven for resting quiescent stem cells. We published a study demonstrating that under normal baseline physiological conditions stem cells hide or reside on the osteoblastic niche. We detail the involvement of an enzyme, metalloproteinase 9 (MMP 9), and a stem cell active cytokine, Kit ligand (also known as Stem Cell Factor) in the production and mobilization of bone marrow stem cells. To put it simply, physiological stress, as may occur during tissue injury, activates MMP 9 in bone marrow cells, and that promotes the release of Kit ligand, which leads to the proliferation and mobilization of stem cells from a dormant microenvironment of the bone marrow to an environment that promotes their expansion, differentiation, and mobilization to the bloodstream. We demonstrated that activation of MMP 9 is essential for release of stem cell active cytokines, including Kit ligand, which promote the reconstitution of blood and vascular and blood generating stem cells. This cascade of events leads to significant expansion of stem cells that move in large numbers to the peripheral circulation facilitating recovery for future use. These exciting results lay the foundation for developing strategies whereby activation of enzymes such as MMP 9 or other as yet unrecognized organ specific proteases can function as molecular switches to expand and recover a large population of autologous hibernating stem cells for use in tissue regeneration and gene therapy. In the current paper, we also show that the stem cells move from the osteoblastic niche to the vascular niche, where they get instruction to differentiate.

As we introduced some parts of our projects in above, we are analyzing the mechanism of mobilization and recruitment of stem and progenitor cell from bone marrow to peripheral circulation and tissues. Additionally, we are also focusing on the relationship between hematopoiesis and angiogenesis. Little is known how mobilized immature cells contribute to tissue regeneration as mentioned. We are also developing the new methods to promote tissue regeneration and therapy for cancer through the regulation of angiogenic process. If you are interested in our research, please contact us.

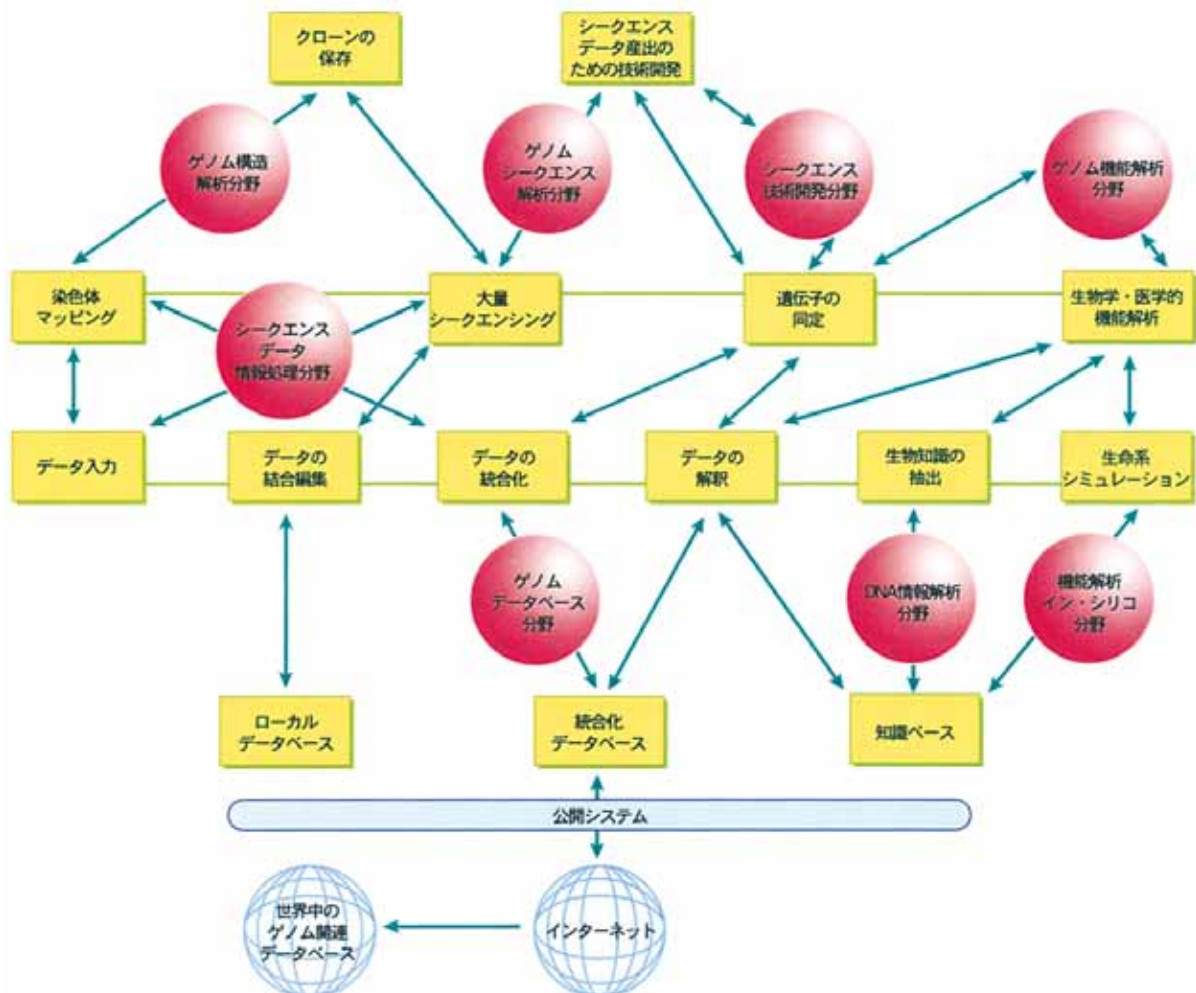
ヒトゲノム解析センター HUMAN GENOME CENTER

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

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

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

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



教授 理学博士 金 久 實
 助手 片山 俊 明
 助手 川島 秀 一

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

急増するゲノムの情報を真の意味で解読し有効利用するには、ゲノムにコードされている遺伝子の集合から生命システム全体の設計図を理解するアプローチが求められている。その中核となるのがポストゲノム時代のバイオインフォマティクスで、細胞・個体など高次の生命システムをコンピュータの中でモデル化し統合的に解析するための手法を開発する必要がある。

本研究分野では、ヒトをはじめ様々な生物種のゲノム解析プロジェクトから得られたゲノムの情報をもとに、配列解析や遺伝子アノテーションデータベースの構築を行ってきた。それに加えて、分子間のつながりを表現した知識ベースの整備を進めている。その一つとして、細胞の基本的な機能である代謝やシグナル伝達などの知識をパスウェイマップという形でデータベース化してきた。これらの成果はKEGGデータベースの一部として公開されている。さらに、細胞間相互作用や病気など複雑な生命現象のデータベース化を進めている。これらの現象をモデル化するための標準的な方法は確立されておらず、我々のデータベースをもとに現在世界中で様々な試みが行われている。

一方、研究コミュニティに対するバイオインフォマティクス・インフラストラクチャーの提供も我々のミッションである。これまでに、以下のような生物学データベース検索システムや解析サービスを開発し、インターネットで公開している。

- 1) 生物学データベースの全文検索によるエントリ取得サービス HiGet (<http://higet.hgc.jp/>)
- 2) 統合ホモロジー検索システムSSS (<http://sss.hgc.jp/>)
- 3) ゲノムの分散アノテーションシステムKEGG DAS (<http://das.hgc.jp/>)
- 4) KEGGに対するSOAP/WSDLによるウェブサービスKEGG API (<http://www.genome.jp/kegg/soap/>)
- 5) EST配列のアセンブルを行うパイプラインシステムEGassembler (<http://egassembler.hgc.jp/>)

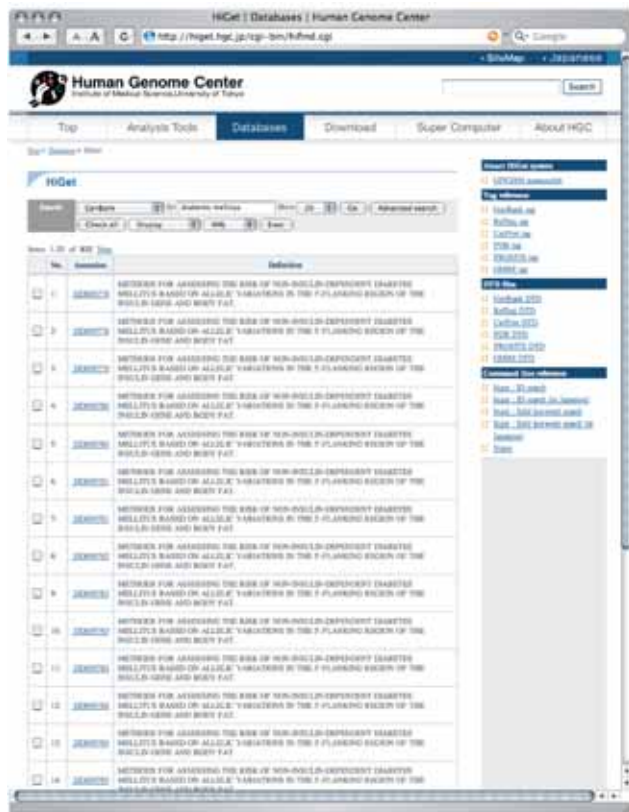


図 1 全文検索エントリ取得システムHiGet

Fig. 1 HiGet database entry retrieval system with full text search

For deciphering and utilizing ever increasing amounts of genomic data, a systemic view is required with an approach to understanding a blueprint of how life systems are organized from the set of genes in the genome. A major component of this approach is bioinformatics in the post genome era, where novel methods need to be developed for modeling and *in silico* analyses of higher level biological systems such as cells and organisms.

In this laboratory, we have been analyzing genome sequences and developing gene annotation databases based on the information obtained from various genome projects. In addition, we have been constructing a knowledge base of molecular interaction networks in the cell. Our efforts are integrated in the KEGG PATHWAY database covering metabolic, signaling, and various other pathways. Our next challenge is to computerize more complex life phenomena, such as cell cell interactions, environmental effects, human diseases, and drug responses. Methods to represent and model these phenomena are not well established yet and we hope that our databases will enable development of many new approaches.

We also have a mission to provide biological database services and bioinformatics analysis services as an information infrastructure for life science researchers. Thus far, we have developed the following services.

- 1) HiGet: biological database entry retrieval system with the full text search engine for major biological databases
- 2) SSS: sequence similarity search system integrating BLAST, FASTA, SSEARCH, TRANS and EXONERATE against various sequence databases.
- 3) KEGG DAS: distributed annotation system for the complete genomes in KEGG
- 4) KEGG API: SOAP/WSDL based web service for utilizing the KEGG resource within the client program
- 5) EGAssembler: integrated pipeline to assemble EST sequences

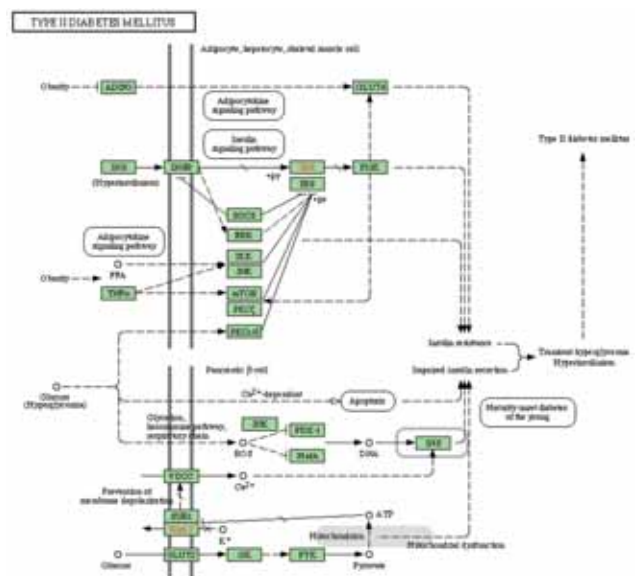


図 2 糖尿病のKEGG PATHWAY (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)

Fig. 2 Type II diabetes mellitus pathway in KEGG

教授	理学博士	宮野	悟	Professor: Satoru Miyano, Ph. D.
助手	理学博士	井元	清哉	Assistant Professor: Seiya Imoto, Ph. D.
助手	理学博士	長崎	正朗	Assistant Professor: Masao Nagasaki, Ph.D.
特任助手	理学博士	吉田	亮	Assistant Professor: Ryo Yoshida, Ph.D.

この分野は、生命をシステムとして理解し、それを創薬や治療へとつなげていくために必要なシステムバイオロジーの計算戦略を構築することをミッションとしています。生命科学は超次元・超ヘテロな大規模データを出しつつあります。そのデータ解析技術と生体生命シミュレーション技術の融合を行うことにより、情報の抽出、構造化、そしてシミュレーションを行い、医学・生命科学の新しい展開に寄与します。スーパーコンピュータシステムはそのために不可欠のインフラで、このシステムを用いて次の2つのテーマを柱に研究を行っています。

- (1) 遺伝子ネットワーク研究：DNAマイクロアレイを用いて得られる遺伝子発現データと様々のゲノムワイドな遺伝子関連情報（タンパク質相互作用、タンパク質細胞内局在情報など）を使って遺伝子ネットワークを同定するための種々の方式、特に、ベイジアン・ネットワーク、状態空間モデル、プリアン・ネットワークなどを基にして、数千個の遺伝子からなる遺伝子ネットワークのモデル化・推定・解析の研究を行っています。そして推定遺伝子ネットワークを用いた薬剤標的遺伝子の探索や病気や薬剤応答に関する遺伝子ネットワークの探索研究で世界をリードしています。
- (2) 生命システムのモデル化とシミュレーションの研究：遺伝子制御情報やシグナル伝達などの生命システムに関する知識やデータを整理してシミュレーション可能なモデルを作ることで遺伝子機能やシステムについての仮説実験を行う研究をしています。その成果はCell Illustrator™というソフトとして商用化され、生命システム記述言語Cell System ML (<http://www.csml.org/>)を開発しています。最先端の医科学の実験系研究室と共同研究を並行し、病態のモデル構築や遺伝子機能の予測などに貢献し、システムに基づいた医科学研究の新たなパラダイムを創ろうとしています。研究室：<http://bonsai.ims.u.tokyo.ac.jp/>

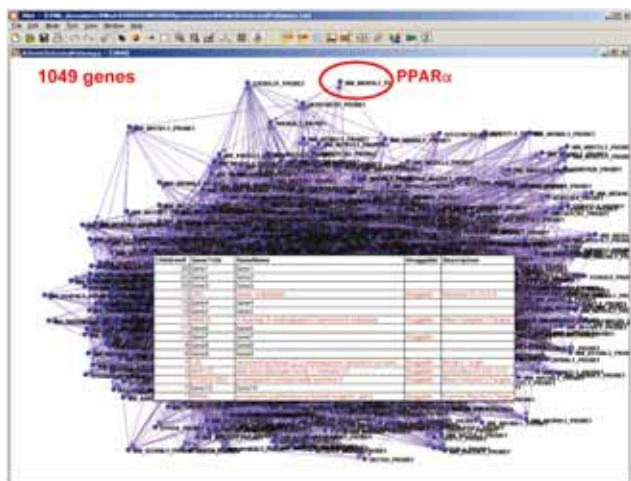


図1 HUVECにおいて270の遺伝子をそれぞれノックダウンして得られたマイクロアレイデータと高脂血症薬fenofibrate応答マイクロアレイデータから推定した1,049個の遺伝子からなるネットワーク。PPAR α 他、既知・未知の創薬ターゲット遺伝子とパスウェイがこの中から抽出されている。

Fig. 1 A gene network of 1049 genes constructed from microarray gene expression data based on knock downs of 270 genes in HUVEC and responses of fenofibrate, a drug for hyperlipidaemia. Including PPAR α , known/unknown drug target genes and pathways are extracted from this network.

The mission of this laboratory is to create “Computational Strategy for Systems Biology”. With this mission, we are developing computational methods for understanding life as system and applying them to practical issues in medicine and biology. The recent advances in biomedical research have been producing large scale, ultra high dimensional, ultra heterogeneous data. Our key issue is to develop and fuse the data analysis technology and the *in silico* biosimulation technology for these emerging biomedical data. The supercomputer system is the indispensable infrastructure for this mission. The following two topics are rigorously investigated.

- (1) Gene networks: Various computational methods are developed for estimating gene networks from DNA microarray gene expression data and various genome wide information such as protein protein interactions, protein subcellular localizations, etc. Bayesian networks, state space model, and Boolean networks are investigated for modeling, estimating and analyzing gene networks consisting of several thousands genes. With the gene network technology, we are leading the world in the computational method for searching drug target genes and disease related and drug response gene networks.
- (2) Modeling and simulation of biological systems: The first computational task towards the understanding of life as system is to develop a software tool with which we can model and simulate various biological mechanisms and pathways in cells by organizing and compiling biological data and knowledge. For this aim, we developed a software tool Cell Illustrator™ that is now commercialized with a license from University of Tokyo. We are also developing an XML named Cell System Markup Language (CSML) (<http://www.csml.org/>) to describe and simulate biological systems for enhancing our understanding life as system. In collaboration with cutting edge biomedical research labs, we are contributing to constructing computational disease models and predictions/ tests of gene functions and new hypotheses. Laboratory URL: <http://bonsai.ims.u.tokyo.ac.jp/>

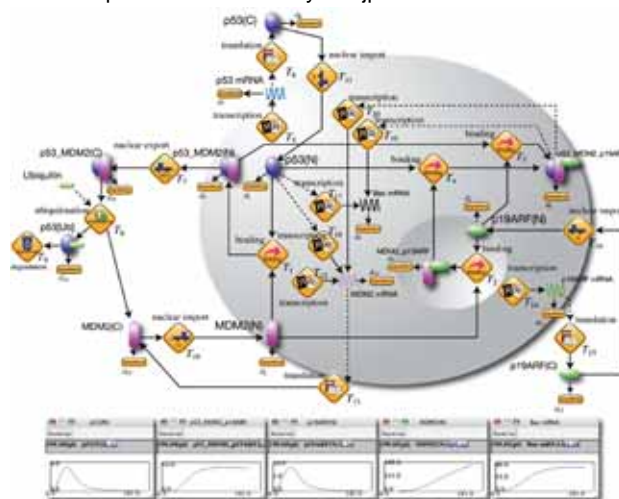


図2 Cell Illustratorを用いて遺伝子制御,代謝系,シグナル伝達などのネットワークのモデル化とシミュレーションを簡単に行うことができる。図は分裂酵母のフェロモン応答による接合のMAPK経路のモデル化とシミュレーション。

Fig. 2 Cell Illustrator realizes smooth and easy modeling of gene regulatory networks, metabolic pathways, signaling pathways, etc. The picture shows a modeling and its simulation of the pathway of p53, MDM2, p19ARF constructed from the literature and its data.

教授 医学博士 中村 祐輔
 助手 医学博士 中川 英刀
 助手 医学博士 松田 浩一
 助手 医学博士 前 佛 均

Professor: Yusuke Nakamura, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Hidewaki Nakagawa, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Koichi Matsuda, M. D., Ph. D.
 Research Associate: Hitoshi Zembutsu, M. D., Ph. D.

ヒトゲノム解析研究の第一段階であるヒトゲノムのDNA塩基配列の解読が完了し、今後はこのゲノム上に存在する遺伝子の機能解析、特に疾患関連遺伝子解析研究が重要となってくる。当研究室では、体系的多型情報解析および体系的発現情報解析による、がんをはじめとした疾患に関する遺伝子の同定・機能解析を通じて、臨床的な観点から疾患の画期的診断法および治療法の開発につながる基盤的研究を行っている。現在までに36,864個の遺伝子を配置したcDNAマイクロアレーを独自に構築しており、これを用いたヒトの種々のがんにおける遺伝子発現情報解析から、抗がん剤や放射線感受性に関与する遺伝子群を同定し、これらの発現情報に基づいた感受性予測システムの開発を行っている。また、SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) 解析では、易罹患性や薬の効果・副作用に直接関連する遺伝子を同定し、その成果を元に、薬の効果や副作用の予測システム開発を目指している。最終的には、これらの予測システムを用いて、様々な疾患の患者に対して、治療前に適切な治療方法を行うオーダーメイド医療の実現を目指している。さらに、われわれは、ヒトのがんで最も重要ながん抑制遺伝子であるp53の標的遺伝子を単離し、その生理的機能を解明することによって、がん発症の機序解明と、それを応用した遺伝子治療の開発を目指している。

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

We are working on the identification of clinically useful data from human genome sequence as a post genome sequence project. To develop novel diagnostic and/or therapeutic strategies to human diseases including cancer, we are carrying out the identification and functional analysis of genes associated with the human diseases. Through genome wide expression profile analyses in various human cancers by means of cDNA microarray containing 36,864 genes, we have identified genes related to the sensitivity of their treatment such as chemotherapies and radiotherapies. Using these data, we have been further exploring systems to predict the sensitivity of treatment. In addition, we are searching for genes associated with their drug responsiveness and adverse effects using whole genome SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) analysis, which may facilitate the development of prediction systems of the adverse effects. The final goal of our study is the application of these prediction systems into clinics and the realization of personalized medicine. Additional projects include the identification of downstream target genes of tumor suppressor p53. The characterization of physiological functions of the target genes may be useful not only for the clarification of human carcinogenesis but also for its clinical application for therapies. The main projects are as follows;

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



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

オーダーメイド医療 (personalized medicine)

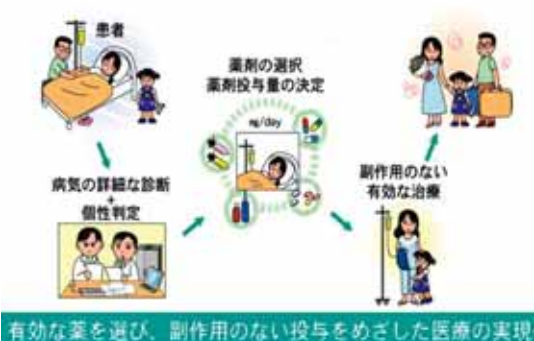


Fig. 2 Personalized medicine

教授 医学博士 中村 祐輔
 助教授 医学博士 片桐 豊雅

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

ヒトゲノム解析研究の第一段階であるヒトゲノムのDNA塩基配列の解読が完了し、今後はこのゲノム上に存在する遺伝子の機能解析、特に疾患関連遺伝子解析研究が重要となってくる。数万種類もの遺伝子について一度に発現情報を得ることができるマイクロアレーを利用した解析は、とりわけ、がん研究において威力を発揮し、臨床的な観点からのがん研究を進める上でも重要な役割を担うと考えられる。当研究室ではヒトの全遺伝子を網羅した36,864個の遺伝子を配置したcDNAマイクロアレーを独自に作製し、これを用いて乳癌・腎臓癌・膀胱癌・軟部肉腫をはじめとしたさまざまな種類の癌における遺伝子発現プロファイルの解析を行っている。また、癌組織の組織学的不均一性を考慮して、LMM (Laser Microbeam Microdissection) 法により、選択的に癌細胞を採取し、より正確な癌の遺伝子発現情報を取得している (Fig. 1)。さらに、われわれは、約30種類のヒト正常臓器の遺伝子発現情報データベースも構築しており、これらの発現プロファイルを比較することで、正常臓器特に生命維持に重要な臓器には発現を認めず、癌細胞のみで発現亢進を認める遺伝子をそれぞれの腫瘍に対する新たな診断および分子標的治療薬、抗体薬、癌ペプチドワクチン開発のための分子標的候補遺伝子として、その機能解析を行っている。現在までに複数の分子標的候補遺伝子を同定しており、その中の1つとして軟部肉腫の1つである滑膜肉腫において高頻度に発現亢進を認めるFrizzled homologue 10 (FZD10) は、7回膜貫通型受容体をコードし、正常臓器ではほとんど発現が認められない遺伝子である。さらにsiRNAによる発現抑制実験の結果、FZD10は滑膜肉腫の細胞増殖に関与する遺伝子であることがわかった。抗FZD10ポリクローナル抗体は、滑膜肉腫細胞株に対して高い抗体依存性細胞傷害活性 (ADCC活性) を示し、またヌードマウスxenograftにおいて腫瘍増大を低下させた。さらに、抗FZD10マウスモノクローナル抗体を樹立したところ、ヌードマウスxenograftにおいて高い特異性を持って腫瘍に対して集積性を示した (Fig. 2) ことから、現在このマウスモノクローナル抗体を用いた滑膜肉腫の治療薬開発を目指している。

The determination of human genome sequence has been completed as a result of human genome project. Thus, it is now crucial to clarify the function of genes in the genome. Particularly functional analysis of genes associated with human diseases is a matter of great importance. Microarray that enables to detect expression of thousands of genes with an experiment is a powerful tool for the research of carcinogenesis in terms of basic research as well as clinical research. We fabricated our in house microarray slides containing 36,864 genes that correspond almost of all genes in the human genome. We have been performed expression profile analyses in a breast cancers, renal cell carcinomas, bladder cancers and soft tissue tumors using the cDNA microarray in combination with LMM (Laser Microbeam Microdissection). To obtain the precise expression profile of human cancers, we selectively collected cancer cells by LMM from clinical tissues that are a mixture of cancer cells, stromal cells, endothelial cells, and infiltrating lymphocytes (Fig. 1). We also analyzed expression profiles of 30 normal human tissues. Through these microarray data, we have identified several candidate genes that are overexpressed in cancer cells and not expressed in vital organs, as candidates for novel molecular targets of therapeutic drugs, antibodies, and peptide vaccine and/or diagnosis of human cancers. Particularly, through the expression profiles of soft tissues tumors, we focused on Frizzled homologue 10 (FZD10), a member of Frizzled family, is exclusively up regulated in synovial sarcoma (SS) and its expression is not or hardly detectable in normal organs. Treatment of two SS cell lines with small interfering RNA (siRNA) decreased the protein expression of FZD10 specifically and suppressed their cell growth. Moreover, the specific polyclonal antibody against extracellular domain of FZD10 was markedly effective in mediating antibody dependent cell cytotoxicity (ADCC) against FZD10 overexpressing SS cells *in vitro*, and also effective *in vivo*, attenuating the growth of SS xenografts in nude mice. Furthermore, monoclonal antibody (Mab) to FZD10 we established was shown to have specific binding activity against FZD10 on cell lines expressing FZD10. To further validate the specific binding activity of those antibodies *in vivo*, we injected fluorescent labeled Mab intraperitoneally or intravenously into the mice carrying SS xenografts and found that this Mab was bound to the FZD10 expressing tumors, but not to any other normal mouse tissues by the use of the *in vivo* fluorescent imaging system (Fig. 2). Taken together, this specific Mab against FZD10 could be utilized as the novel treatment of SS with minimal or no risk of adverse reactions.

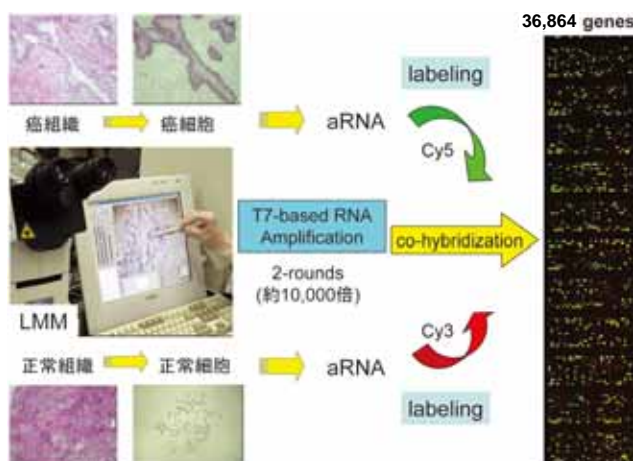


Fig.1 cDNA microarray system using the cancer and normal cells purified with laser microbeam microdissection (LMM).

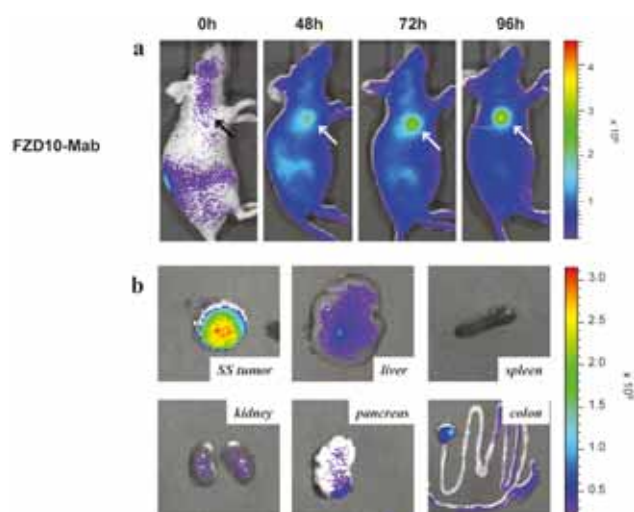


Fig. 2 (a) *In vivo* fluorescence imaging of synovial sarcoma (SS) tumor bearing mice after injection of fluorescent (Alexa647) labeled Mab. Fluorescence labeled Mabs were administered at a dose of 20 μ g per mouse intraperitoneally. All fluorescence images were acquired with a 60 second exposure time (f/stop = 2) before injection, immediately after injection (0 hour), 24, 48 and 96hours, (b) Representative images of dissected organs (liver, spleen, kidney, pancreas and colon), and tumors from xenograft nude mice.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

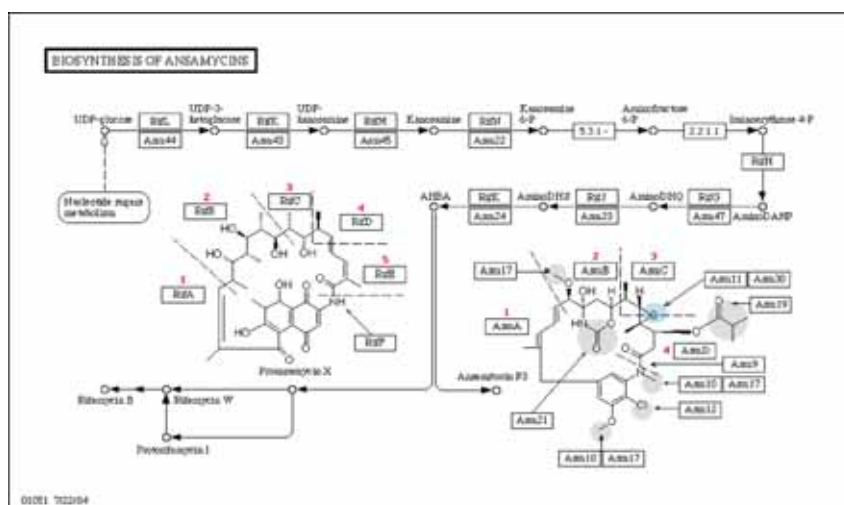


図 1 ケミカルゲノムデータベース

Fig. 1 Chemical genome database.

教授 理学博士 中井 謙 太
 助教授 理学博士 木下 賢 吾

Professor: Kenta Nakai, Ph. D.

Associate Professor: Kengo Kinoshita, Ph. D.

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

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

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

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

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

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

The term “function of genes” may also need some explanation as it refers to two things: one is the biochemical function, which is the function of each gene product by itself (e.g., substrate specificity), while the other is the biological function, which is the global process in which each gene product participates (e.g., development or glycolysis). The necessity of understanding both meanings of the functions of genes is reflected in our two lines of research activities.

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

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

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

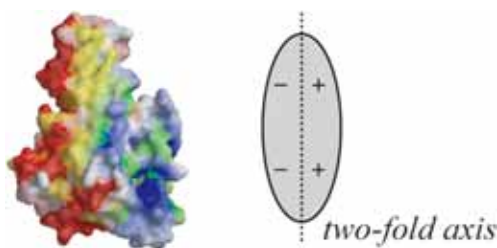


Fig. 1 Complementarity in homo interfaces of proteins. (Left) Electrostatic potential on the surface of a protein (1JP3). (Right) Scheme of the complementary distribution of negative/positive potential enabling its oligomer formation

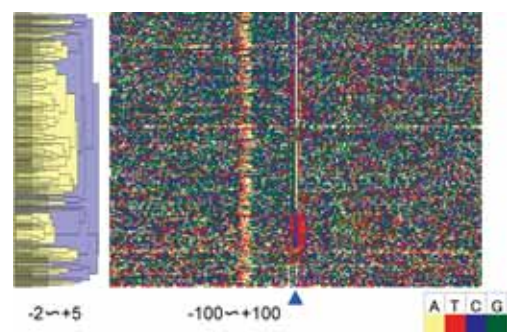


Fig. 2 Sequences around TSSs of human genes that have well defined TSSs

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

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

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

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

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

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

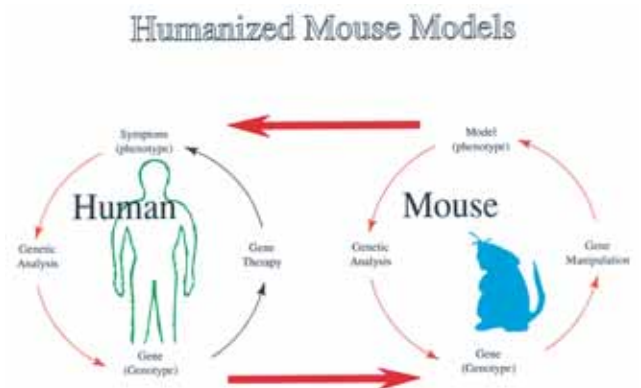
ヒト疾患モデル研究センターでは、個体を対象とする医学研究の実証的研究の最も重要な動物実験システムの創造を、実験動物の開発を通して行い、また幹細胞治療などの先端医療研究も優れた実験動物の系を用いて行うものである。

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

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

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

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



教授 医学博士 中内 啓光
 助手 医学博士 江藤 浩之
 助手 理学博士 紙谷 聡英
 助手 医学博士 大津 真

Professor; Hiromitsu Nakauchi, M.D., Ph.D.
 Research Associate; Koji Eto, M.D., Ph.D.
 Research Associate; Akihide Kamiya, Ph.D.
 Research Associate; Makoto Otsu, M.D., Ph.D.

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

(1) 幹細胞制御と再生医学

21世紀の新しい医学として再生医療が注目されているが、その鍵を握るのが幹細胞である。幹細胞は種々の細胞系譜に分化できる能力「多分化能」と、多分化能を保持したまま増殖する能力「自己複製能」を兼ね備えた細胞で、組織・臓器の発生・修復・維持に重要な役割を果たしている。いろいろな組織に存在する幹細胞を同定し、未分化性維持や特定の細胞系譜へのコミットメントの機構、分化と自己複製の制御といった幹細胞に共通な機構の解明を目指している。「幹細胞生物学」という新しい学問分野を確立するとともに、そこで得られた知見をもとに幹細胞の分化と自己複製の制御法を開発し、臓器再生という新しい治療戦略につなげることが研究面での目標である。

(2) 幹細胞を利用した疾病モデル・治療モデル

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

The purpose of the laboratory is to contribute to the discovery of new disease, understanding of the pathogenesis, and development of novel therapy by combining knowledge and technology of immunology, molecular biology, virology, and cellular biology. Currently, we are focusing on the study of stem cells in various tissues and organs.

(1) Stem cell regulation and regenerative medicine

Stem cells are generally defined as clonogenic cells capable of both self renewal and multilineage differentiation. During development and regeneration of a given tissue, such cells give rise to non self renewing progenitors with restricted differentiation potential, and finally to functionally mature cells while maintaining primitive stem cells. Because of these unique properties, stem cells offer the novel and exciting possibility of regenerative medicine. The goal of our research is to elucidate the mechanisms of stem cell self renewal and differentiation to provide novel approaches to the therapeutic intervention in the treatment of organ failure.

(2) Disease & therapeutic models targeting stem cells

The unique properties of stem cells make them ideal target cells for gene and cell therapy. We have been developing an efficient transduction system for hematopoietic and other stem cells. This includes isolation of stem cells, establishment of efficient transduction systems, and development of disease models. Utilization of these technologies for clinical gene and cell therapy targeting stem cells is our goal.

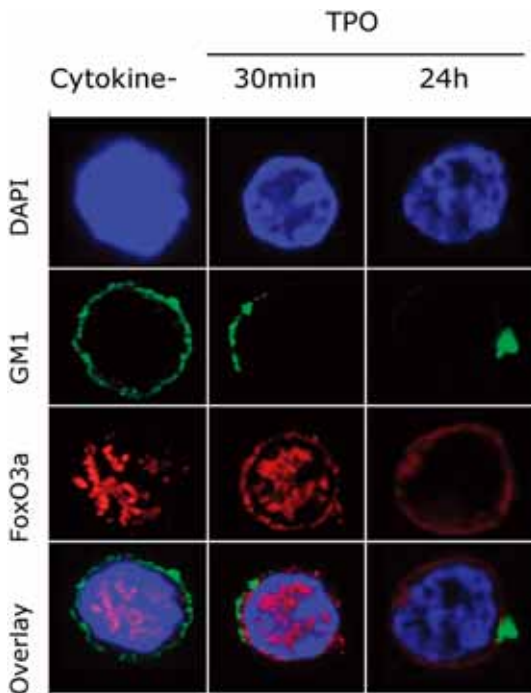


図1 骨髄からとり出した直後およびサイトカイン刺激後の造血幹細胞の免疫蛍光写真。サイトカイン(TPO)刺激によってlipid raftの集積(緑)ならびにFoxO3a転写因子(赤)の核からの排除が観察される。

Fig. 1 Immunocytostaining of hematopoietic stem cells before and after cytokine stimulation. Lipid raft clustering and exclusion of FoxO3a transcriptional factor are observed.

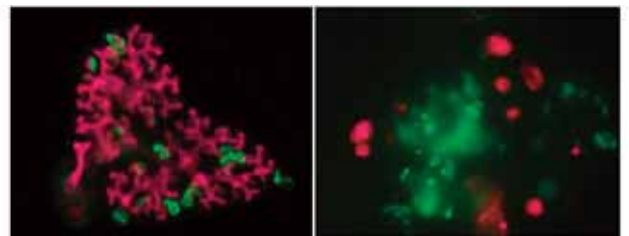


図2 マウス胎仔後腎器官培養(左)とWnt4発現フィーダー細胞を用いた胚様体からの腎臓の誘導(右)。緑: LT lectin(近位尿細管マーカー), 赤: DB lectin(尿管芽・集合管マーカー)

Fig. 2 Organ culture of mouse embryonic metanephros (left) and induction of kidney from ES cells using Wnt4 producing feeder cells (right). Green: LT lectin (marker for proximal tubules), Red: DB lectin (marker for metanephric bud and collecting ducts)

教授 理学博士 岩倉 洋一郎
 助手 理学博士 千田 大
 助手 獣医学博士 角田 茂

Professor: Yoichiro Iwakura, D. Sc.
 Research Associate: Dai Chida, Ph. D.
 Research Associate: Shigeru Kakuta, Ph. D. D. V. M.

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。

(1) 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。

(2) 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。

(3) 体細胞初期化メカニズムの解明と新規再生医療技術の開発

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

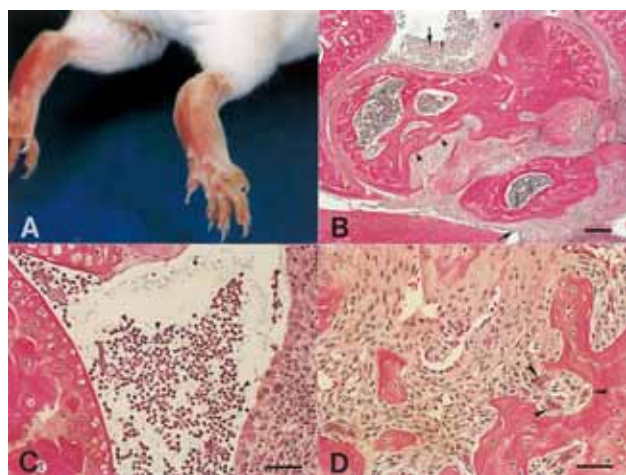


図1 (左側) IL-1レセプターアンタゴニストノックアウトマウス(A)と関節の病理像(B, C, D)

高い頻度で関節炎を発症し、自己免疫疾患モデルとして有用である。

Fig. 1

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

図2 (右側)

IL 1過剰シグナルによる自己免疫性関節炎の発症

Fig. 2

Excess IL 1 signaling causes autoimmune arthritis.

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

(1) 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.

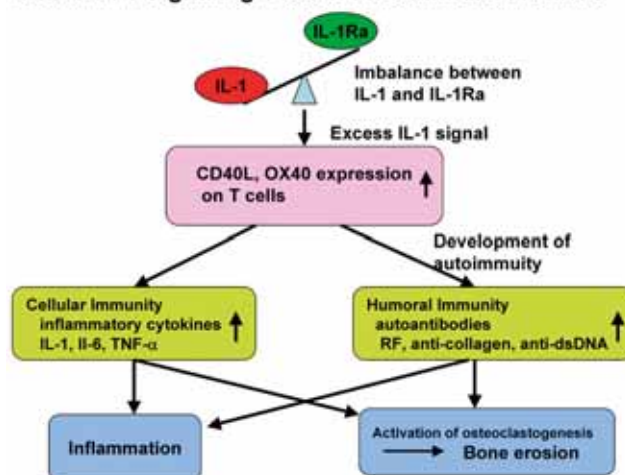
(2) Production and analysis of AIDS models

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.

(3) Reprogramming of adult somatic cells into pluripotent stem cells and its application to organ reconstitution.

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

Excess IL-1 Signaling Causes Autoimmune Arthritis



教授 医学博士 吉田 進 昭
 助手 獣医学博士 市瀬 広 武
 助手 医学博士 佐藤 充 治
 助手 医学博士 市瀬 多 恵 子

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

当研究分野のキーワードはジーンターゲットイング、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。

- (1) 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。
- (2) ES細胞の自己複製能の解析
 ES細胞（胚性幹細胞）は、すべての組織・細胞に分化し得る幹細胞であり、その幹細胞としての自己複製能の解明は、体性幹細胞の分離とex vivoでの増殖への応用へとつながる。我々は未分化ES細胞で発現しているRex 1遺伝子の発現調節にOct 3/4とともに関わるRox 1を同定、これを手がかりにして解明しようとしている。一方、RNAをもターゲットにした網羅的アプローチでES細胞の未分化能維持に関わる新規分子の同定を試みている。
- (3) 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、リンパ管特異的ノックアウトマウス作成などを通じて、リンパ管の発生分化、その機能を多角的に研究している。

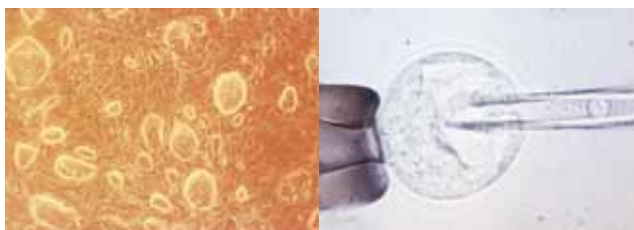


図1 支持細胞上の未分化ES細胞
 図2 ES細胞のプラストシストへのマイクロインジェクション
 Fig. 1 Undifferentiated ES cells on feeder cells
 Fig. 2 Microinjection of ES cells into the cavity of blastocyst



図3 キメラマウス（右2匹）と対照マウス（左2匹）
 図4 Cre-loxPシステムを用いたジーンターゲットイング
 Fig. 3 Chimeric mice (right two) and control mice (left two)
 Fig. 4 Gene targeting with Cre-loxP system

- (1) 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.
- (2) ES cells, which are used for gene targeting, are the only stem cells being cultured in vitro. To elucidate the molecular mechanism that regulates self renewal of pluripotent ES cells, we have tried to identify a factor(s) cooperatively with Oct 3/4, the critical transcription factor for maintaining of undifferentiated state of ES cells. We have identified Rox 1 which binds to the promoter region of Rex 1 gene expressed only in undifferentiated cells.
- (3) The lymphatic development in mammals has been poorly understood because of the lack of a suitable model mouse showing lymphatic abnormalities. We recently found and maintained a new spontaneous mutant mouse line which develops chylous ascites and lymphedema. In order to understand the mechanism of lymphatic development and functions in more detail, we are also generating various knock out/knock in mouse lines including a conditional knock out mouse.

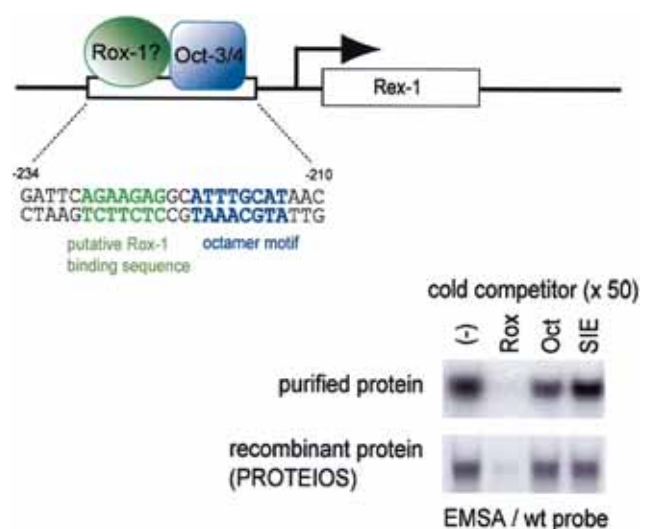


図5 未分化ES細胞に特異的に発現しているRex 1のプロモーターに、Oct 3/4とともに結合、発現調節を行っているRox 1分子の同定
 Fig. 5 Identification of Rox 1, which binds to the promoter region of undifferentiated cell specific Rex 1 gene, cooperatively with Oct 3/4.

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

先端医療研究センターの使命は、特定の疾患に関する研究成果を早期臨床試験として臨床応用するトランスレーショナル・リサーチと、附属病院で実践される癌や感染症の臨床上の問題点を解明しさらに次世代の治療法に結実させる、ベッドとベンチを双方向に結んだクリニカル・サイエンスの実践である。先端医療研究センターには分子療法、細胞療法、臓器細胞工学、感染症、免疫病態の5研究分野とコンソーシアム型の細胞プロセッシング寄付研究部門（CERES）が設置されている。分子療学分野と細胞療学分野は、附属病院の血液腫瘍内科及び小児細胞移植科とそれぞれ密な連携を有し、白血病発症機序の解明、正常及び腫瘍性造血幹細胞の増殖・分化研究、造血幹細胞と骨髄ストロマ細胞との相互作用の研究、白血病や悪性リンパ腫の病態解析研究等を通じて、造血系悪性腫瘍に対する新規治療法の開発を目指している。臓器細胞工学分野は附属病院外科と一体運営されており、固形癌に対する遺伝子治療、免疫療法の開発を行っている。感染症分野は附属病院の感染免疫内科で実践されている感染症診療に深く関り、HIV感染者の病態解析研究、HIV特異的細胞傷害性T細胞の抗原認識機能とエスケープ変異体の解析、HIV治療ワクチンの研究、HIV関連疾患の臨床研究等を行っている。免疫病態研究は附属病院アレルギー免疫科と深く連携し、自己免疫疾患、免疫異常症等に対する新規治療法の開発を目指している。また、リンパ球表面に発現されている機能分子や核内リセプター分子の構造と機能の研究を創薬に結実させることを目指している。先端医療研究センタースタッフの多くは臨床医でもあり、大学病院と比較して診療スタッフの少ない研究所附属病院の診療業務を支援しつつ研究を行っている。

Advanced Clinical Research Center (ACRC) performs clinical sciences on designated project diseases such as hematological malignancies, cancers and HIV/AIDS. The Center aims to translate its own research outcomes into early clinical trials and also to undertake the feedback experiments based on its own clinical results. ACRC is consisted of five divisions, namely Division of Molecular Therapy, Division of Cellular Therapy, Division of Bioengineering, Division of Infectious Diseases and Division of Clinical Immunology, and a donated laboratory of Division of Cell Processing (CERES). Division of Molecular Therapy and Division of Cellular Therapy have main interest in elucidating the mechanisms of leukemogenesis, growth and differentiation of normal and neoplastic hematopoietic stem cells, cross talks between hematopoietic stem cells and bone marrow derived supporting stroma cells and aim to develop new therapeutic maneuvers in close relation with Department of Hematology/Oncology and Department of Pediatric Hematology/Oncology of the Research Hospital affiliated to the Institute of Medical Science of the University of Tokyo (IMSUT). Division of Bioengineering has been conducting translational research on cancer therapy mainly focusing on immunomodulatory and gene therapy strategies. Division of Infectious Diseases (DID) is involved in the clinical care of patients with infectious diseases by the Department of Infectious Diseases and Applied Immunology of the IMSUT Research Hospital. DID's main interest is the pathogenesis of HIV infection, antigen recognition by HIV specific CTLs and characterization of CTL escape mutants, innovation of therapeutic HIV vaccines, clinical studies on HIV/AIDS related diseases. Division of Clinical Immunology (DCI) aims to develop advanced therapy for autoimmune diseases and other immuno mediated disorders. DCI aims development of new drugs via the research on the structure and function of cell surface molecules and transcriptional factors expressed in human lymphocytes. The majority of the staffs in ACRC are medical doctors. They are experiencing patients' problems daily and trying to develop innovative therapy through translational research.

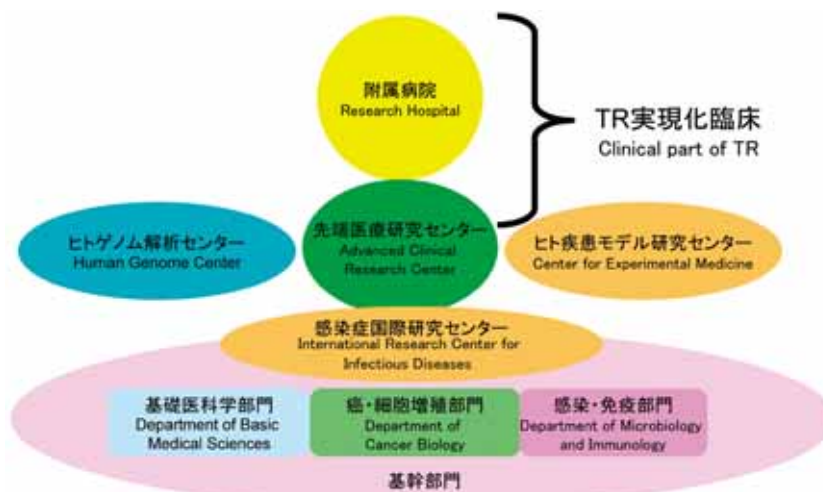


図 医科学研究所の組織構成と先端医療研究センターの位置づけ

Fig. Organization of IMSUT and the position of ACRC

教授 医学博士 東 條 有 伸
 助教授 医学博士 高 橋 聡
 助手 医学博士 曾 田 泰
 助手 大 井 淳

Professor: Arinobu Tojo, M. D., D. M. Sc.
 Associate Professor: Satoshi Takahashi, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Yasushi Soda, M. D., D. M. Sc.
 Research Associate: Jun Ooi, M. D.,

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

- (1) 各種ウイルスベクターによる治療遺伝子の導入とその効果に関する前臨床研究：
 染色体転座に起因する融合遺伝子の機能は、それを有する白血病細胞の生存維持に重要である。このような白血病特異的融合遺伝子mRNAを選択的に切断するマキシザイムやshRNAの効果を培養細胞のシステムで検討している。例として、BCR ABL mRNAを特異的に切断するマキシザイムやshRNAをレンチウイルスベクターによってPh染色体陽性白血病細胞に導入し、生物学的作用を調べている。レトロウイルスなど他のウイルスベクターによる造血細胞への遺伝子導入も検討している。
- (2) 抗体やサイトカインなどのリガンドを用いて標的細胞へ薬剤を特異的に送達するターゲティング技術の開発ならびに分子標的治療薬の前臨床研究：
 特定の組織・細胞に発現する接着分子や表面抗原、サイトカイン受容体を指標として抗ガン剤・生理活性物質を供給する細胞標的療法やサイトカインと融合させた細菌毒素を用いてそのレセプター発現細胞のみを駆逐する標的トキシン療法の開発に取り組んでいる。また、白血病細胞に対する新規シグナル伝達阻害剤の効果や移植後の移植片対宿主病に対するサイトカイン合成阻害剤の効果を検討し、これらの臨床応用を模索している。
- (3) キメラ遺伝子やテロメラーゼ逆転写酵素遺伝子など腫瘍特異的遺伝子の発現ならびにWntシグナル、Notchシグナルの活性化を指標とする腫瘍幹細胞の動態解析と治療における分子標的の探索：
 悪性腫瘍の効果的・根治的治療のためには腫瘍幹細胞の排除が必要である。そこで、造血器腫瘍、特に白血病の幹細胞の同定とその性状解析を目的としてウイルスベクターによるマーキング技術やフローサイトメトリーを利用した研究を行っている。
- (4) 幹～前駆細胞と間葉系細胞の相互作用に基づく正常および異常造血機構の解析：
 生体内での造血は正常・異常を問わず、造血微小環境との相互作用によって維持されている。これを試験管内で模倣するため、造血支持能力を有する骨髄由来ストローマ細胞と正常ないし異常造血細胞との共培養系を利用した解析を行っている。薬剤に対する反応性や分化・増殖に及ぼす外来遺伝子発現の影響をこの系で検討している。

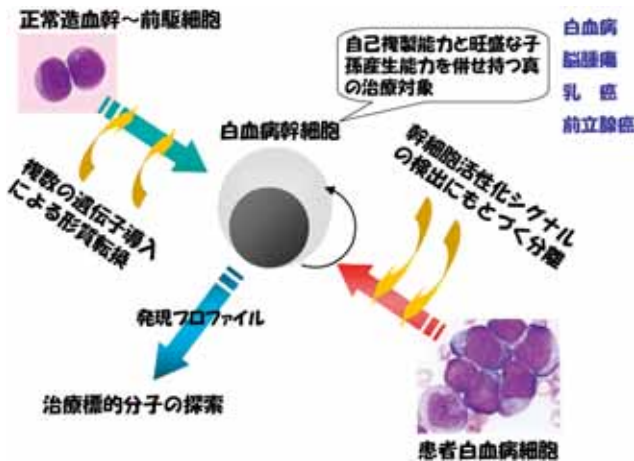


図1 白血病（腫瘍）幹細胞の研究

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.

- (1) *Preclinical study of therapeutic gene transfer mediated by various viral vectors:* We have two main research projects in this field. One is a murine therapeutic model of tumor vaccine secreting GM-CSF (GVAX) in combination with nonmyeloablative allogeneic HSCT. The other is a human experimental model of ribozyme technology for inactivation of leukemogenic fusion mRNA such as BCR-ABL.
- (2) *Preclinical study of targeted drug delivery using various cell targeting strategies and novel molecular target agents:* We are developing various cell targeting strategies using cytokines, adhesion molecules as well as monoclonal antibodies. PEG liposome has been applied for this purpose. In addition, we have made two types of cytokine derivatives by genetic engineering for preclinical study. We are also studying anti-leukemic effects of a novel signal transduction inhibitor and anti-GvHD effects of a novel cytokine synthesis inhibitor for the future clinical trial.
- (3) *Analysis of tumor stem cells and search for molecular targets for their elimination:* Cure of malignant tumors requires eradication of tumor stem cells. As a representative model for tumor stem cells, we are studying the identification and characterization of leukemia stem cells using cell tracking strategies and flow cytometry.
- (4) *Analysis of normal and neoplastic hematopoiesis based on their interaction with microenvironments:* Not only normal but also neoplastic hematopoiesis can be supported by the specific interaction between stem/progenitor cells and bone marrow microenvironments. To simulate this cell-to-cell contact *in vitro*, we are using a co-culture system in which stem/progenitor cells are overlaid on the layer of hematopoiesis-supporting stroma cells. This co-culture system is applied for determination of drug sensitivities and gene transfer effects.

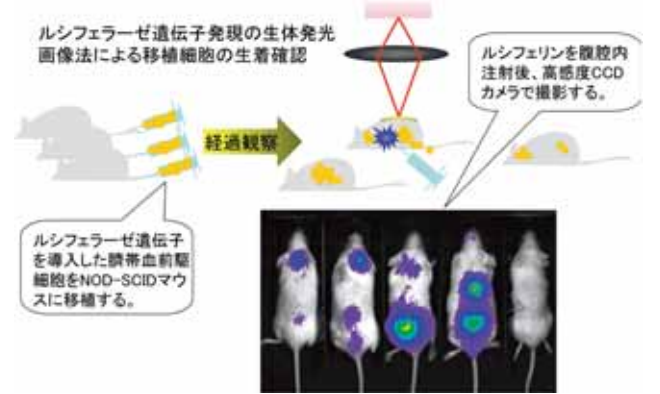


図2 Xenograftモデルを用いた膵帯血移植関連の前臨床研究

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

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

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

- (1) 白血病, 骨髄異形成症候群 (MDS), 骨髄増殖性疾患 (MPD) の分子生物学: 白血病, MDS, MPD のモデルマウスを作成し, 解析することによって, これらの疾患の発症メカニズムを調べる。最近, MDS において転写因子 AML 1 の突然変異が高率に検出されることが報告された。我々はマウス骨髄移植モデルにおいて変異 AML 1 がどのような病態を引き起こすかを調べている。MDS および MPD に関しては, 機能性発現クローニング法によって, 原因となる遺伝子異常を同定する試みも行っている。
- (2) 骨髄ストローマ細胞による造血幹細胞の増幅: 骨髄ストローマ細胞から機能性発現クローニング法により同定した ISF と mKirre の過剰発現は骨髄ストローマ細胞に造血幹細胞の増幅活性を賦与する。ISF はプロトンポンプのサブユニット, mKirre は免疫グロブリンスーパーファミリーの分子である。ISF と mKirre を解析することにより, 幹細胞複製の分子機構を調べている。
- (3) 低分子 G 蛋白質による細胞分裂と分化の統合的調節: 我々は機能性発現クローニング法によりマクロファージ系細胞の分化関連遺伝子として MgcRacGAP を同定した。その後の研究で, MgcRacGAP は midbody において Aurora B によりリン酸化され, サイトキネシスの終了に重要な働きをすることが明らかになったが, 細胞分化との関連は不明であった。最近, 我々は MgcRacGAP が転写因子 STAT3 と結合してその転写活性を高めることにより細胞分化を誘導することを見いだした。この結果は MgcRacGAP および Rho ファミリー分子が細胞周期において異なる役割を果たすことを示している。
- (4) マスト細胞に発現する新しいレセプター分子群の解析: アレルギーのメカニズムを理解し治療法を開発することを最終的として, 骨髄由来マスト細胞が発現する膜蛋白質および分泌蛋白質をシグナルシークエンスストラップ法によりスクリーニングした。NK レセプターファミリーに類似した 6 つのレセプター LMIR1 6 を同定し現在解析中である。
- (5) 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。

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

- 1 . Molecular aspects of leukemia, myelodysplastic syndromes (MDS) and myeloproliferative disorder (MPD): We generate model mice for leukemia, MDS, and MPD to investigate the etiology of these diseases using the model mice. Recently, it has been reported that mutations in a transcription factor AML 1 are frequently found in MDS patients. We are now setting up experiments in which the mutant AML 1 is transduced to mouse bone marrow cells via retrovirus infection in a mouse BMT model. We are also trying to identify causative gene mutations of MDS and MPD by functional expression cloning.
- 2 . Expansion of hematopoietic stem cells by bone marrow derived stroma cells: We identified molecules called ISF and mKirre from bone marrow derived stromal cells by expression cloning, both of which endowed stroma cells with the capability to support self renewal of hematopoietic stem cells. Interestingly, ISF turned out to be a subunit of vacuole type ATPase associated proton pump. mKirre is a member of the Ig superfamily. The purpose of this project is to understand the molecular mechanisms of self renewal of hematopoietic stem cells through the analysis of ISF and mKirre.
- 3 . Co ordinate control of cell division and differentiation by small GTPases: Using retrovirus mediated functional cloning, we identified a GTPase activating protein (GAP) MgcRacGAP/Cyk4 that enhances macrophage differentiation of mouse leukemic M1 cells and human leukemic HL 60 cells. We later found that MgcRacGAP plays critical roles in cell division, completion of cytokinesis. However, the relationship between MgcRacGAP and differentiation was elusive. We have recently found that MaRacGAP binds STAT3 and enhances transcriptional activation of STAT3, implicating STAT 3 in MgcRacGAP induced differentiation of M1 cells. Overexpression of MgcRacGAP enhanced transcriptional activation of STAT3 while knockdown of MgcRacGAP by siRNA profoundly suppressed it. Thus, MgcRacGAP/small GTPases play dual roles during cell division and interphase, thereby controlling the cell fate.
- 4 . Analysis of a novel receptor family expressed on mast cells: We searched for membrane and secreted proteins by retrovirus mediated signal sequence trap. The purpose of this project is to understand the mechanisms of allergy and eventually to develop the new therapy. Among 2,400 SST clones, we decided to focus on an NK inhibitory receptor like molecule harboring four ITIM motifs in the intracellular domain. We also identified several related receptors, and named these receptors LMIR1 6.
- 5 . Mesenchymal stem cells, which can differentiate into mesenchymal organ system, such as endothelial cells, osteocytes, chondrocytes and myocytes, are attracting attention as a novel source of therapeutic grafts. We aim at identification of the mesenchymal stem cells in bone marrow, cord blood and placenta, and clarification of the mechanism regulating their proliferation and differentiation to establish a method which supports the development of various mesenchymal cells.

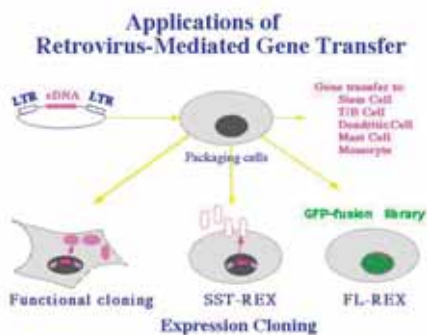


図 1 レトロウイルスによる遺伝子導入法の応用

Figure 1 Applications of retrovirus mediated gene transfer

教授 医学博士 岩本 愛吉
 助手 医学博士 藤井 毅
 助手 医学博士 立川 愛(旧姓川名)

Professor: Aikichi Iwamoto, M.D., D.M.Sc.,
 Assistant Professor: Takeshi Fujii, M.D., D.M.Sc.
 Assistant Professor: Ai Kawana Tachikawa, D.M.Sc.

先端医療研究センター・感染症分野は、附属病院・感染免疫内科の感染症診療に深く関わりながら、微生物学、免疫学、ゲノム医学等の手法を駆使し、感染病態の解析、診断や治療に関する技術開発などを行っている。現在の研究の中心は、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症とその関連疾患である。日本人の間で流行しているHIV 1の解析を通してHIV感染症の病態やHIV特異的免疫に関する研究、薬剤耐性ウイルスの検出法や治療ワクチンの開発研究などを行っている。

(1) HIV 1の感染病態

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

(2) HIV 1関連疾患

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

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

- (1) Although Japan is classified as a country with a low prevalence of human immunodeficiency virus type 1(HIV 1), domestic sexual transmission has been increasing steadily. Because 70% of the Japanese population expresses HLA A24 (genotype HLA A*2402), we wished to assess the effect of the dominant HLA type on the evolution and transmission of HIV 1 among the Japanese population. Twenty three out of 25 A24 positive Japanese patients had a Y to F substitution at the second position [Nef138 10(2F)] in an immunodominant A24 restricted CTL epitope in their HIV 1 *nef* gene (Nef138 10). None of 12 A24 negative Japanese hemophiliacs but 9 out of 16 patients infected through unprotected sexual intercourse had Nef138 10(2F) ($P < 0.01$). Two of two A24 positive but none of six A24 negative Australians had Nef138 10(2F). Nef138 10(2F) peptides bound well to the HLA A*2402 heavy chain; however, Nef138 10(2F) was expressed poorly on the cell surface from the native protein. Thus, HIV 1 with Nef138 10(2F) appears to be a CTL escape mutant and has been transmitted frequently by sexual contact among the highly A24 positive Japanese population.
- (2) We compared serological infection markers in two groups of HIV 1 infected individuals; hemophiliacs and sexually transmitted cases. Syphilis, HHV 8, HSV 1, CMV, EBV, toxoplasma were more prevalent among sexually transmitted HIV 1 (+) cases, while antibodies against HBV and HCV were more prevalent among hemophiliacs. Although HBV antigenemia were not significantly different between the two groups, both had higher incidence than general population. We analyzed HBV genotype in the sexually transmitted HIV 1/HBV (+) individuals and found that the great majority of its genotype A instead of genotype C which is the most prevalent HBV genotype in Asian countries including Japan. Genotype A HBV is popular in north America and Europe. Therefore, our results suggest that HBV from western hemisphere was introduced and is circulating via unprotected sexual intercourse in Japan.
- (3) We cloned the extracellular domain of a human MHC class I heavy chain, HLA A*2402, or human $\alpha 2$ microglobulin (2 m) fused with HLA A*2402 restricted human immunodeficiency virus type 1 (HIV 1) cytotoxic T lymphocyte (CTL) epitopes (e 2m) in separate SeV vectors. When we coinfect nonhuman mammalian cells with the SeVs, naturally folded human MHC class I/peptide complexes were secreted in the culture supernatants. Biotin binding peptide sequences on the C terminus of the heavy chain were used to tetramerize the complexes. These tetramers made in the SeV system recognized specific CD8 positive T cells in peripheral blood mononuclear cells of HIV 1 positive patients with a specificity and sensitivity similar to those of MHC class I tetramers made in an *Escherichia coli* system.

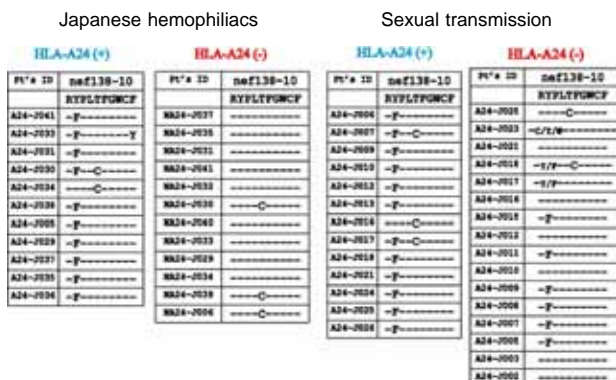


図1 日本人の約70%がHLA A24を発現しており、HLA A24陽性の個体内では *nef* 遺伝子内のCTLエピトープ (Nef138 10) の第2位のアミノ酸に変異が生じる(Y/F)。HLA A24陰性の個体では、血友病患者と比べて性感染者で高頻度にこの変異が認められた ($P < 0.01$)。

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

教授 医学博士 田原 秀 晃
講師 医学博士 高山 卓 也
助手 学術博士 佐藤 まりも

Professor: Hideaki Tahara, M. D., Ph. D.
Lecturer: Takuya Takayama, M. D., Ph. D.
Research Associate: Marimo Sato, Ph. D.

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帯を持ち、固形腫瘍に対する遺伝子治療および免疫療法の開発、を主題として研究している。これらの研究成果を基に、がん患者を対象とした早期（第1、2相）の臨床試験を附属病院において施行することが研究目的である。

固形腫瘍に対する新規遺伝子治療および免疫療法の開発

1. 新規サイトカインを用いた遺伝子治療の開発

我々はこれまでに、インターロイキン18 (IL 18) は、インターフェロン (IFN) やIL 12とは異なった機序で、CD4陽性T細胞やNK細胞を活性化し、強力な抗腫瘍効果をあげたことを証明してきた。IL 18を利用した免疫遺伝子治療の開発を目的に、IL 18を組み込んだりコンビナントアデノウイルスを腫瘍内に投与し、抗腫瘍効果を検討した。マウス肉腫細胞株であるMCA205を接種した7日後の腫瘍に、IL 18リコンビナントアデノウイルスを腫瘍内投与し、抗腫瘍効果およびその作用機序を解析する手法で新しい癌の遺伝子治療の可能性を検討している。

2. In vivo electroporationを用いたFLT 3 ligand導入樹状細胞の解析

樹状細胞 (DC) を活性化することが知られているFLT 3 ligandに注目し、in vivo electroporation法でFLT 3 ligandを導入し、DCに対する作用 (運動能、増殖能、成熟化、免疫反応) を解析した。In vivo electroporation法でFLT 3 ligandを導入すると、10日間は血清中の高い濃度のFLT 3 ligandが維持されることがわかった。脾臓中および骨髄細胞中のDC数は、コントロール群と比較して有意に増加していた。また、腫瘍近傍のDC数も増加した。これらの結果は、本手法の臨床応用への可能性を示唆するものであり、さらに解析を進めている。

3. DCの効果的な成熟化の解析

DCは腫瘍拒絶抗原を用いた腫瘍免疫療法の中心的な存在である細胞障害性T細胞 (CTL) を誘導する強力な抗原提示細胞であることが知られている。エトープペプチドを用いた臨床試験やその基礎的解析からDCの成熟化が重要であることがわかってきた。成熟化したDCは、共刺激分子を強発現し、IL 12などのサイトカインを産生することで強力にCTLを誘導することがわかった。しかし、臨床使用可能な成熟化因子は多くないのが現状である。そこで、本邦でBiological Response Modifier (BRM) としてすでに臨床使用されているOK 432について、DCの成熟化能を検討し、さらに腫瘍拒絶抗原を用いてCTL誘導能を解析した。コントロールとして、従来DCの成熟因子として使用されているTNF とLPSを用いて、比較検討した。ヒト末梢血単核球 (PBMC) よりプラスチック付着細胞を用い、GM-CSFとIL 4で未熟DCを誘導し、90%以上の純度のDCであることを確認した。細胞表面抗原の解析では、共刺激分子 (CD 40, CD80, CD86) は未熟DCと比較し強発現していることがわかった。IFN α およびIL 12の産生能は、TNF やLPSを用いて刺激したDCと比較して、OK432刺激DCでは有意に多く産生していることが明らかとなった。一方、IL 4やIL 10は全く産生していなかった。さらに、CEA由来HLA A24拘束性エトープペプチドを用い腫瘍特異的CTLの誘導における効果を細胞障害活性およびHLA tetramerを用いて検討したところ、OK 432刺激DCは有意に強い細胞障害活性を示すCTLを誘導でき、tetramerでも高頻度に特異的CTLを誘導できていることがわかった。一方、OK432はtoll like receptor (TLR) 2やTLR 4を用い、CD18を部分的に用いることでこの反応を惹起していることが明らかとなった。以上の解析より、OK432はDCを効果的に成熟化するGMPグレードの刺激因子であることが明らかとなり、臨床的にも応用可能であることがわかった。

4. Th1誘導タイプDCの解析

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

5. 腫瘍新生血管を標的としたVEGFR2のエトープペプチドを用いた癌免疫療法の開発

血管新生が腫瘍増殖と密接に関与することが知られている。さらに腫瘍の新生血管を阻害することにより抗腫瘍効果が得られることも報告されている。我々は、腫瘍の新生血管に関与するVEGFR2に着目し、そのエトープペプチドを特定し、さらにHLAクラスI拘束性のCTLが誘導できることを証明した。ヒトHLA A*0201を発現するA2/Kbトランスジェニックマウスを用いた研究により、このエトープペプチドにより腫瘍の増殖抑制と生存期間の延長を確認した。さらに癌患者の末梢血からのエトープペプチド特異的CTLが誘導できることを確認した。これらの基礎的検討からVEGFR2のエトープペプチドを用いた癌免疫療法の臨床的有用性を明らかにした。

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

Development of innovative cancer therapy

1. Induction of anti-tumor immunity using intra-tumor administration of adenoviral vector expressing biologically active IL 18

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

2. In vivo electroporation of human FLT3 Ligand plasmid DNA induce effectively mobilize and activate dendritic cells in situ

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

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

Dendritic cells (DC) are potent antigen presenting cells which has recently been used for cancer immunotherapy using epitope peptides derived from tumor rejection antigens. Accumulating results of the clinical trial of such strategy suggest that maturation of the DCs applied is one of the key factors which influence the outcome of the vaccination. It has been suggested that DCs need to have "mature" phenotype which is capable of inducing cytotoxic T cells (CTL) efficiently. The characteristics of the mature DCs (mDCs) include high expression of MHC and co-stimulatory molecules and the production of IL 12. In this study, we examined the effects of penicillin-killed *Streptococcus pyogenes* (OK 432, clinical grade in Japan) on DC maturation. Furthermore, we also examined the potency of OK 432 stimulated DCs on the induction of CTLs specific to the epitope peptide. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained from healthy donors, selected by the adherence, and cultured in AIM-V medium supplemented with 1000U/ml of GM-CSF and 1000U/ml of IL 4 for 5-7 days. Phenotypic analysis on them showed that more than 90% of prepared cells showed the immunophenotype consistent with immature DC (iDC). These iDC were divided into 4 groups and cultured further in AIM-V containing following agents; A. AIM-V alone, B. TNF- α (100ng/ml), C. LPS (100ng/ml), D. OK 432 (10 μ g/ml) (OK-DC). After 72 hours, cells were harvested and surface phenotypes and cytokine production using FACS and ELISA respectively. DCs in groups B, C, and D showed significantly higher CD83 expression (B, 85.9%; C, 84.7%; D, 61.0%) when compared with control (A, 3.82%). Furthermore, DCs in group D showed significantly higher production of IL 12 (40.7 \pm 3.1ng/ml) and IFN γ (1976.8 \pm 272.6pg/ml) when compared with those of other groups. These results indicate that OK 432 could promote the maturation of iDC to produce significant amount of Th1 type cytokines. To examine the influence of the OK 432 on the induction of peptide specific CTLs, CE3 (HLA-A*2402 restricted 9 mer peptide derived from Carcinoembryonic antigen, TYACFVSNL) was used for inducing peptide specific CTLs. The 51 chromium-releasing assay and the tetramer assay of the CD8+ T cells showed that highest cytotoxic activity and highest CTL frequency were induced with OK-DC stimulation. Furthermore, we investigated the signaling pathway of OK 432 using the TLR indicator cell lines and the blocking antibodies. These results showed that OK 432 does not use either TLR2 or TLR4, but the α 2 integrin for was the stimulation. These results strongly suggest that OK 432 could be a useful agent for peptide-based cancer vaccine using DCs.

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

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

5. Development of anti angiogenic cancer therapy with vaccination using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2)

Angiogenesis has been shown to be a critical mechanism for tumor progression. Multiple studies have suggested that tumor growth can be suppressed if tumor angiogenesis can be inhibited using various types of anti angiogenic agents. Recent studies in mouse systems have shown tumor angiogenesis can also be inhibited if cellular immune response could be induced against vascular endothelial growth factor receptor2 (VEGFR2), which has been shown to be one of the key factors in tumor angiogenesis. We examined the possibility of developing this novel immunotherapy in clinical setting. We first identified the epitope peptides of VEGFR2 and showed that stimulation using these peptides induces CTLs with potent cytotoxicity in the HLA class I restricted fashion against not only peptide pulsed target cells but also endothelial cells endogenously expressing VEGFR 2. In A2/Kb transgenic mice which express α 1 and α 2 domain of human HLA A*0201, vaccination using these epitope peptides *in vivo* was associated with significant suppression of the tumor growth and prolongation of the animal survival without any adverse effects. In anti angiogenesis assay, tumor induced angiogenesis was significantly suppressed with vaccination using these epitope peptides. Furthermore, CTLs specific to the epitope peptides were successfully induced in cancer patients, and the specificities of the CTLs were confirmed using functional and HLA tetramer analysis. These results *in vitro* and *in vivo* strongly suggest that the epitope peptides derived from VEGFR2 could be used as the agents for anti angiogenic immune therapy against cancer in clinical settings.

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
 助手 医学博士 細 野 治

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

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

1) CD26/DPPIVの構造と機能の解明と創薬への応用

CD26分子の結合蛋白としてマンノース6リン酸/インスリン様増殖因子受容体(M6P/IGF1R)、カベオリン、CD45を見出した。それらの結合ドメインの決定や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の治療開発を行うが来々年早々に第一相臨床試験を計画。また抗原特異的免疫増強作用及び化学療法剤の感受性増強作用の存在する可溶性CD26の免疫不全症及び悪性腫瘍への治療をめざした先端治療開発をめざす。

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

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

3) 核内レセプターの分子生物学的研究と創薬への応用

グルココルチコイドレセプターなどの核内レセプターによる転写調節機構を解明し、作用分離型核内レセプター作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、関節リウマチなどの疾患病態の理解をめざす。

5) NF B活性化機構の解明

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

6) IL 12受容体、IL 23受容体の構造と機能

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

7) ケモカイン受容体等7回膜貫通型受容体の構造と機能

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が、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/IGF1R receptor, Caveolin, and CD45 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 have developed human CD26 monoclonal antibodies to treat CD26 positive tumors, autoimmune diseases and GVHD and plan to perform phase I clinical trial early next year. Moreover, we plan to establish the novel therapy to treat immune deficiency diseases for restoring antigen specific immune response and malignant tumors with enhancing sensitivity to chemotherapeutic agents utilizing soluble CD26.
- 2) Cas L (Crk associated substrate lymphocyte type) is a docking protein downstream to beta 1 integrins. We have found that Cas L is associated with TGF beta mediated signaling pathway and NF kappaB pathway. Through the analysis on the protein-protein interaction between components of these two signaling pathways and Cas L, we aim at exploring the possible therapeutic application of Cas L or its related products in the treatment of malignancies, autoimmune diseases, and osteoporosis. By utilizing gene targeting approach, we aim at determination of further the biological functions of Cas L.
- 3) Molecular biology of nuclear receptors: We have been working with transcriptional regulation of gene expression by nuclear receptors. Mainly we will focus on the glucocorticoid receptor and pharmacologically develop selective modulator of receptor function.
- 4) Conditional regulation of gene expression by the hypoxia inducible factor: We are currently working with the hypoxia inducible factors, which are members of the basic helix loop helix PAS transcription factor. Our aim is identification of its activation pathway and application to various angiogenic diseases including ischemic vascular diseases, cancers, diabetic retinopathy, and rheumatoid arthritis.
- 5) Transcriptional regulation by NF kappaB: NF kappaB is considered to be a major player which activates a set of genes in inflammatory conditions and immune reactions. We have recently identified novel activation mechanism of NF kappaB. Further studies will merit to develop novel antiinflammatory and/or immunosuppressive drugs.
- 6) Structure and function of human IL 12 and IL 23 receptors: We developed a panel of monoclonal antibodies against the IL 12 receptor and elucidated the expression of this receptor in macrophage and dendritic cell lineage. We plan to manipulate immune response through controlling this interesting receptor system.
- 7) Structure and function of human chemokine receptors and other 7 spanner type receptors: Preliminarily, receptors for prostaglandins, similar 7transmembrane spanner type receptor to chemokine receptor were expressed in various inflammatory sites. Analysis of prostaglandin receptors in immunocytes is under extensive study.

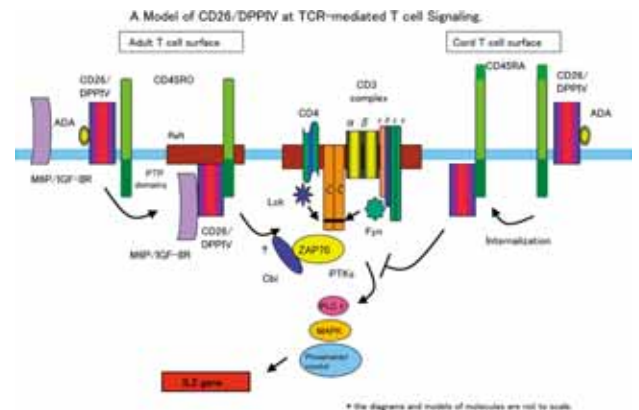


図 CD26/DPPIV分子の成人及び臍帯血T細胞受容体由来シグナルモデルについて

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

教授 理学修士 清水 哲 男

Professor: Tetsuo Shimizu, M. Sc.

(1) 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。

(2) 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。

(3) 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。

(4) トランスレーショナルリサーチのための e therapy これらの技術要素を統合した TR のための e therapy システムを開発しています。

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.

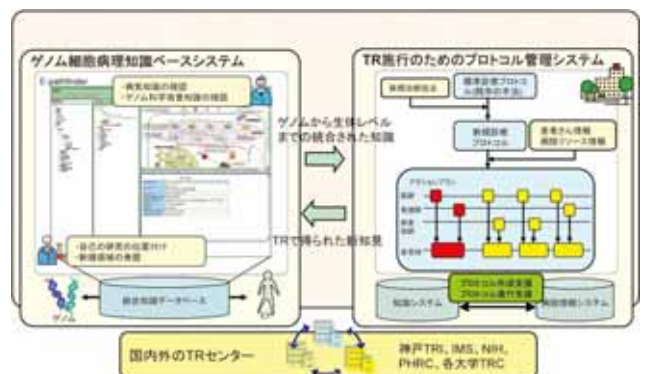
Systematic Research for Data Processing of Advanced Medical Instruments.

Cancer or infection decease 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.

e therapy system for Translatianal Resoarch Integrating these tecnologies, we are dovolving e therapysystem for TR.



ゲノム医療実現のためのe therapyシステム構想

感染症国際研究センター International Research Center for Infectious Diseases			
センター長 Director 獣医学博士 河岡義裕 PROFESSOR:Yoshihiro Kawaoka, DVM, Ph.D.			
高病原性感染症研究部門 Department of Special Pathogens			
教授	農学博士	甲斐知恵子	PROFESSOR: Chieko Kai, DVM, Ph.D.
教授	獣医学博士	河岡義裕	PROFESSOR: Yoshihiro Kawaoka, DVM, Ph.D.
特任助手	獣医学博士	野田岳志	PROJECT ASSISTANT PROFESSOR:Takeshi Noda, DVM, Ph.D.
感染制御部門 Department of Infectious Disease Control			
教授	医学博士	岩本愛吉	PROFESSOR:Aikichi Iwamoto, M.D.,D.M.Sc.
教授	医学博士	笹川千尋	PROFESSOR:Chihiro Sasakawa,D.M.Sc.
微生物学分野 Microbial Infection			
教授	医学博士	俣野哲朗	PROFESSOR:Tetsuro Matano, MD.DMSc
ウイルス学分野 Viral Infection			
助教授	獣医学博士	川口 寧	ASSOCIATE PROFESSOR; Yasushi Kawaguchi, DVM, Ph.D
細菌学分野 Bacteriology			
助教授	歯学博士	中川一路	ASSOCIATE PROFESSOR; Ichiro Nakagawa, D.D.S; Ph.D.
病原微生物資源室 Pathogenic Microbes Repository Unit			
教授	医学博士	笹川千尋	PROFESSOR:Chihiro Sasakawa, D.M.Sc.
特任助手	医学博士	永井 武	PROJECT ASSISTANT PROFESSOR :Takeshi Nagai, D.M.Sc.

SARSならびに鳥インフルエンザの流行は、新興感染症の脅威について警鐘を鳴らした。新興・再興感染症の国際性を踏まえ、我が国の感染症対策は研究体制から見直し、早急に研究連携体制の整備を行う必要があった。感染症に対する最も一般的な防衛対策がワクチンであることは論を待たないところであるが、新興感染症に対しては病原体の同定や、新たに治療法を開発することについても大学における研究組織が積極的に基礎的研究を展開し、新興感染症発生時に対応する公的機関が利用できるような基礎的知識を供給しなければならない。

このような背景を踏まえ、平成17年に感染症対策と感染症研究者養成のため、東京大学医科学研究所と大阪大学微生物病研究所に共同で感染症国際研究センターが設置された。本センターは、両研究所が有機的な共同研究体制を組むことにより、新規病原体の同定や解析、新規のワクチン開発等、感染症に対する先端的な医学・生物学研究と人材養成の拠点となることを目指している。

本センターは以下の二つの研究部門と「病原微生物資源室」から構成されている

1. 「高病原性感染症研究部門」

既知の高病原性感染症に関する対策研究を行うとともに、未知の新興感染症の発生に対しては、海外と共同して病原体の解明などを行っている。

2. 「感染制御部門」

ワクチンの開発や、発症予防法の開発を推進するとともに、海外研究拠点を活用しつつ難治性あるいは治療法の確立していない感染症の克服をめざした対策研究を行っている。

3. 「病原微生物資源室」

感染症に対する研究・教育遂行のためには病原微生物株を適正に維持・保存し、研究・教育現場へ供給するシステムが不可欠である。これまで重要な役割を果たしてきた東京大学医科学研究所の微生物株保存室と大阪大学微生物研究所の菌株保存室を統合運営し、データベースの共通化を含め組織の充実と発展を図っている。

SARS and avian influenza serve as warnings of the threats posed by emerging infectious diseases. The global impact of these and other emerging infectious diseases dictated establishment of a research environment aimed at preventing and mitigating the consequences of global disease agents. Although vaccines play a major role in the control of infectious diseases, basic research towards identification of causative agents and development of treatment measures are essential to managing emerging infectious diseases. Thus, academic institutions have a compelling responsibility to provide such information, which will be used to establish control measures by responsible government agencies.

Inasmuch, the Institute of Medical Sciences, University of Tokyo and the Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University jointly established the International Research Center for Infectious Diseases in 2005, with the express purpose of training infectious disease specialists and undertaking research which will ultimately promote the control of infectious diseases. Foundational to this charge, the Center will sponsor cutting edge biomedical research in infectious diseases, including identification and characterization of new pathogens and development of novel vaccines.

To accomplish this, the International Research Center for Infectious Diseases at the Institute of Medical Sciences, University of Tokyo is composed of the following departments and unit:

1. Department of Special Pathogens

Studies in this department focus on the control of known diseases caused by highly pathogenic organisms and characterization of newly emerging pathogens, in collaboration with scientists abroad.

2. Department of Infectious Disease Control

Work undertaken by this department include development of measures for disease prevention, including vaccines, as well as establishment of treatment regimens for infectious diseases lacking recognized therapy protocols, in collaboration with research centers located in other countries.

3. Pathogenic Microbes Repository Unit

To promote research in infectious diseases, a pathogen repository is an essential resource. Thus, the Pathogenic Microbes Repository Units of both the Institute of Medical Sciences, University of Tokyo and the Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University have now been centralized to promote operational efficiency.

教授 農学博士 甲 斐 知恵子
 教授 獣医学博士 河 岡 義 裕
 特任助手 獣医学博士 野 田 岳 志

PROFESSOR: Chieko Kai, DVM, Ph.D.
 PROFESSOR: Yoshihiro Kawaoka, DVM, Ph.D.
 PROJECT ASSISTANT PROFESSOR: Takeshi Noda, DVM, Ph.D.

エボラウイルスは時として致死率100%の出血熱を引き起こす、最も危険な病原体のひとつである。しかしその予防法や治療法は、現在もまだ確立していない。

私達の目的はエボラウイルスの増殖機構を明らかにすることである。ウイルスが宿主細胞で増殖する際には、ウイルスゲノムや蛋白質同士の相互作用、あるいはウイルス蛋白質と細胞性因子との相互作用が欠かせない。そこで私達は、哺乳類細胞における蛋白質発現系を用いて、個々のウイルス蛋白質の機能解析やウイルス蛋白質と細胞性因子の特異的相互作用に焦点を絞り研究を行っている。

1. 非感染性ウイルス作出系の開発

私達はcDNAから非感染性エボラウイルス粒子を合成することに成功した。本法の開発により、エボラウイルス増殖機構の基礎研究をP3施設で安全に行うことが可能になった。

2. ウイルス粒子形成機構の解析

エボラウイルス粒子形成の中心となるのがマトリックス蛋白質VP40である。現在、VP40蛋白質と他のウイルス蛋白質・細胞性因子との相互作用を解析している。

3. ナクレオカプシド形成機構の解析

ナクレオカプシドはゲノムRNAの転写や複製に必須の複合体である。現在、ナクレオカプシド複合体形成に関わる個々のウイルス蛋白質の機能解析、ならびにナクレオカプシドがウイルス粒子内に取り込まれるメカニズムを解析している。

Ebolavirus causes severe hemorrhagic fever with high mortality rates of up to 90%. Currently, no effective vaccines and antiviral drugs are available. The long term goal of our research is to elucidate the molecular mechanisms of *Ebolavirus* replication. Interactions between viral and host gene products during viral replication cycles are essential for viral morphogenesis and determine the consequence of infection. Hence, using mammalian expression systems of viral proteins, our research has centered on interactions between virus and host and the roles of individual viral proteins in viral infection.

1. Development of reverse genetics system of noninfectious *Ebolavirus*

We generated a system for production of noninfectious *Ebolavirus* particles from cDNA. It enables us to safely analyze the molecular basis of *Ebolavirus* replication under biosafety level 3 conditions.

2. Analysis of *Ebolavirus* particle formation

Matrix protein VP40 plays a central role in viral morphogenesis. We are studying the interaction of VP40 with other viral proteins as well as host cell factors.

3. Elucidation of nucleocapsid assembly

The nucleocapsid of *Ebolavirus* is responsible for viral genome transcription and replication. We are studying the roles of individual viral proteins which are involved in nucleocapsid formation. We are also interested in incorporation mechanisms of the nucleocapsids into virus particles.

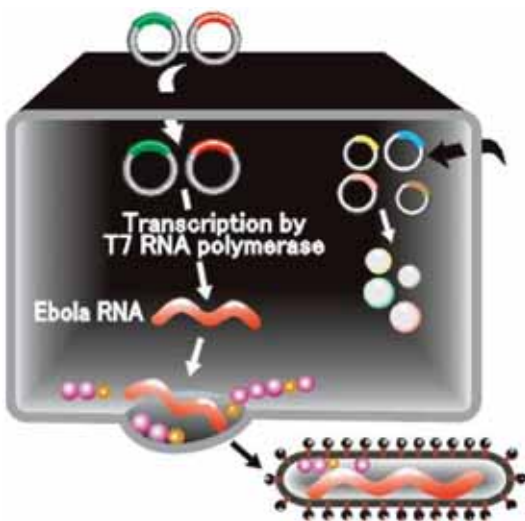


図1 リバースジェネティクス：非感染性エボラウイルス粒子の人工合成法

Fig. 1 Reverse genetics system for generation of *Ebolavirus* particles.

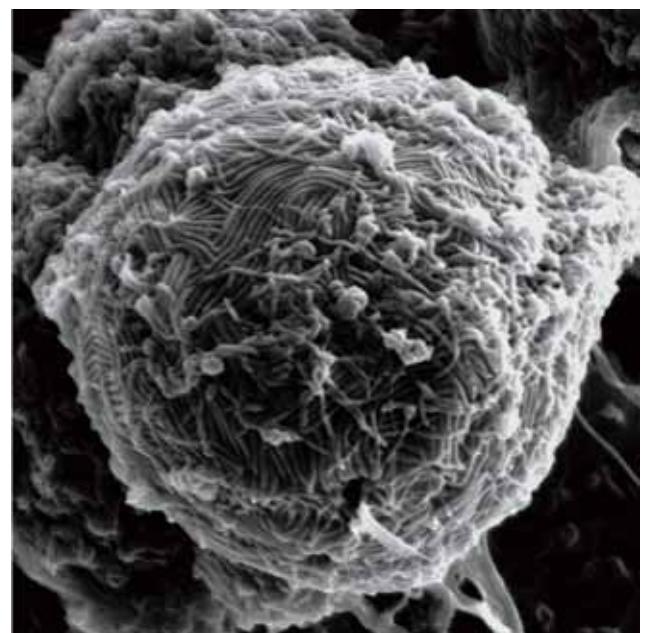


図2 エボラウイルス感染細胞：無数のエボラウイルス粒子が細胞表面を覆っている

Fig. 2 An *Ebolavirus* infected cell. Numerous filamentous viruses cover the cell surface.

教授 医学博士 俣野 哲朗

Professor: Tetsuro Matano, M.D., D.M.Sc.

当研究分野は平成18年2月に設立された。感染免疫学に視点をおき、「個体レベル」のウイルス複製機構を「分子レベル」で捉えることをテーマとしている。慢性ウイルス感染症の代表であるHIV感染症を対象とし、以下の2点を目的とした研究を進めている。

- (1) エイズ発症機序の解明
- (2) エイズワクチン開発

病原性ウイルスとして知られているものの多くは、自然免疫の壁をのりこえ病原性を発揮するが、感染後に誘導される獲得免疫を中心とした宿主防御免疫によって排除される。しかし、HIV感染症では、獲得免疫の誘導が認められた後もウイルス複製が制御されず、慢性持続感染が成立しエイズ発症に至る。我々は、このHIV慢性持続感染成立機序を解明し、さらにはその成立を阻止するエイズワクチンを開発することを目的として、サル免疫不全ウイルス(SIV)感染霊長類動物エイズモデルを用いた研究を進めている。

これまで、HIV複製抑制に中心的役割を担う細胞傷害性Tリンパ球(CTL)を効率よく誘導するセンダイウイルスベクターワクチンシステムを開発し、これを用いてワクチン誘導CTLによるHIV複製制御の可能性を示すことに成功した。さらに、サル主要組織適合遺伝子複合体(MHC)の解析を加え、ワクチンによりエイズウイルス複製制御に至る世界で唯一のサル群を樹立した。現在、この独自のシステムを用いて、HIV複製制御につながる免疫機序の解明を進展させるとともに、ウイルスと宿主の攻防の結果生じるウイルスゲノムの進化についての解析を進めている。これらの研究は、我々が臨床応用をめざしているエイズワクチンの今後の方向性を決めるうえでも極めて重要である。

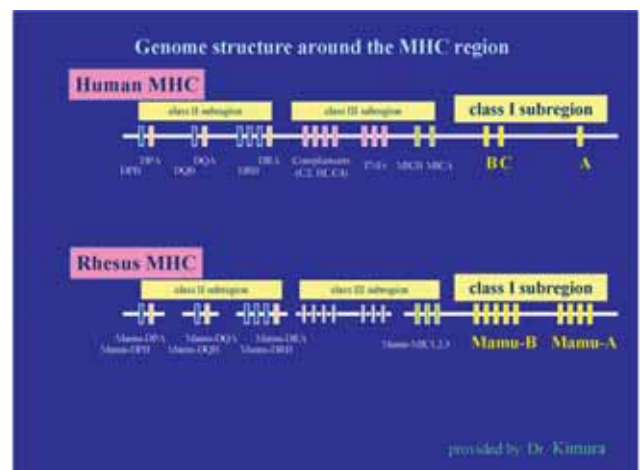
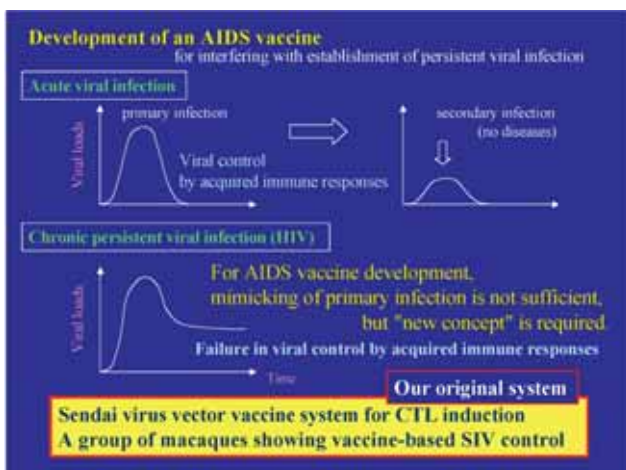
なお、霊長類動物感染実験については、医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターにて行っている。サルMHC解析については、東京医科歯科大学木村彰方教授、近畿大学宮澤正顯教授等との共同研究にて進めており、エイズワクチン開発研究については、国立感染症研究所およびディナベック社との共同研究にて進めている。

This division, established in February 2006, is working on Microbiology and Immunology to elucidate the “molecular” mechanism of viral replication “*in vivo*”. We focus on HIV, a representative virus inducing chronic persistent infection. Our current projects are clarification of AIDS pathogenesis and development of an AIDS vaccine.

Most well known pathogenic viruses exhibit their pathogenic characteristics in the presence of innate immune responses but are contained by acquired immune responses. In HIV infections, however, acquired immune responses fail to control viremia and allow persistent viral replication leading to AIDS progression. For clarifying the mechanism of persistent viral replication and developing an effective AIDS vaccine interfering with its establishment, we are working on acquired immune responses in non human primate AIDS models of simian immunodeficiency virus (SIV) infections.

We have been studying cytotoxic T lymphocyte (CTL) responses that are crucial for HIV control and developed a recombinant Sendai virus vector vaccine regimen that efficiently elicits virus specific CTL responses. A preclinical trial of this vaccine system has, for the first time, shown that vaccine induced CTL can control SIV replication and, by analyzing major histocompatibility complex (MHC) haplotypes, found a group of macaques showing vaccine based control of SIV replication. Taking advantage of this novel system, we are now trying to elucidate the immune mechanism for HIV control and analyzing viral genome evolution as a result of the interplay between the virus and the host. These studies contribute to establishment of our AIDS vaccine system leading to its clinical trial.

Our non human primate experiments are performed at Tsukuba Primate Research Center, National Institute of Biomedical Innovation. The macaque MHC analysis is proceeding in collaboration with Prof. Akinori Kimura in Tokyo Medical and Dental University and Prof. Masaaki Miyazawa in Kinki University. The AIDS vaccine development research is in collaboration with National Institute of Infectious Diseases and DNAVEC corporation.



助教授

獣医学博士 川 口 寧

Associate Professor: Yasushi Kawaguchi, D.V.M., Ph.D.

ヘルペスウイルス科に属するウイルスは、牡蠣などの無脊椎動物から、魚類、鳥類、ほ乳類などを含む脊椎動物に至るまで幅広く分布しており、現在までに130種類以上のヘルペスウイルスが発見されている。ヒトを宿主とするヘルペスウイルスは8種類あり、神経疾患、粘膜性疾患、皮膚疾患、腫瘍性疾患といった様々な病態を引き起こす。また、馬、牛、豚などの家畜や、犬、猫などの伴侶動物には、それぞれ固有のヘルペスウイルスがあり、宿主に重篤な病気を引き起こす。当研究室では、ヘルペスウイルスのプロトタイプである単純ヘルペスウイルス、癌ウイルスであるEpstein Barrウイルスをモデルとして、ヘルペスウイルスの増殖機構、生体内での生存戦略、病原性発現機構の解明を試みている。これらの基礎研究を通して、(i)ヘルペスウイルス感染症に対する制御法の確立、(ii)ウイルスを調教(改変)し、ヒト疾患に対する遺伝子治療ベクターやウイルス療法などに利用することを目指している。

To date, approximately 130 herpesviruses have been identified, affecting most animal species. These viruses are associated with a variety of diseases such as encephalitis, malignancy and mucocutaneous diseases in human and animals. The objective of our research is to understand the mechanisms by which herpesviruses replicate in cells, survive and manifest diseases in their hosts. Our goal is to apply our fundamental findings for control of herpesvirus infections and development of viral vectors and manipulated viruses in human therapy. We are currently working on two human herpesviruses (herpes simplex virus and Epstein Barr virus).

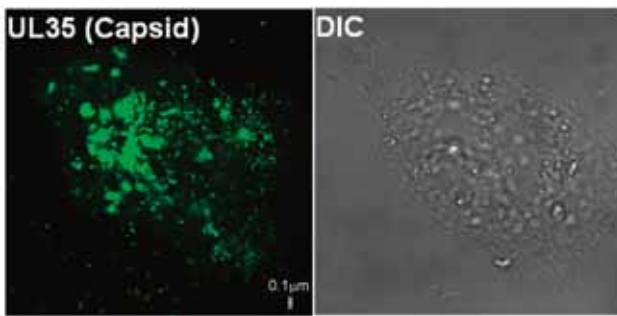


図 1 生きた感染細胞におけるヘルペスウイルス粒子の可視化

Fig. 1 Visualization of herpesvirus particles in live cells.

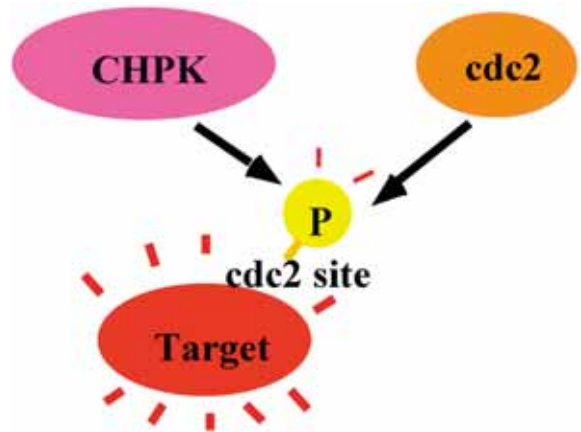


図 2 ヘルペスウイルスで保存されているプロテインキナーゼ(CHPK: conserved herpesvirus protein kinase)は、宿主細胞プロテインキナーゼcdc2を模倣する。CHPKとcdc2は標的因子の同一アミノ酸残基をリン酸化する。Cdc2は、転写、翻訳、アポトーシス、核膜、クロマチン、細胞骨格といった様々な細胞機構を制御している。cdc2様の活性をもつプロテインキナーゼをウイルスが保持することは、増殖の大部分を宿主細胞機構に依存しているウイルスにとって理にかなっていると考えられる。

Fig. 2 Conserved herpesvirus protein kinases (CHPKs) mimic a cellular protein kinase cdc2. It is advantageous for the virus that the protein kinase encoded by the virus expresses a cdc 2 like activity to modulate the cellular environment, since cdc2 regulates a variety of cellular processes including transcription, translation and structural changes in the nuclear envelope, cytoskeleton and chromosomes.

病原性細菌は、宿主の免疫機能を回避する様々な能力を身につけることにより進化してきた。また、対抗する宿主も、細胞の持つ様々な機能を駆使して、感染防御を行っている。我々の研究分野では、このような病原性細菌の進化と、これに対抗する生体内、特に細胞内の感染防御機構を明らかにすることに焦点を絞り、研究を進めている。

1. 細胞内の感染防御機構について

我々の研究室では、細胞内に侵入する病原性細菌に対する防御機構の1つとして、細胞内に侵入するA群レンサ球菌が、上皮細胞内の自食作用（オートファジー）によって、捕獲・分解されていることを明らかとしてきた。自食作用は、生理的な役割としては細胞内のアミノ酸レベルを一定に保つために、細胞が飢餓状態に陥った場合に動員されるメカニズムで、細胞内の小器官やタンパク質を非選択的に分解することが知られている。なぜ、このような非選択的な分解機構が細胞内に侵入した菌を選択的に捕獲し、分解できるのか、その分子メカニズムは明らかとはされていない。そこで、細胞内のどのような分子が細胞内に侵入した菌を認識し、オートファジーの誘導を引き起こすのかについて解析を進めている。また、グラム陽性菌の代表的な菌種であるレンサ球菌やブドウ球菌を用いて菌のどのような分子が認識されるのかについても解析を行っており、宿主因子・菌体因子双方から感染防御機構について解析を進めている。

2. 病原性細菌の進化

病原性細菌は、生体の防御機構に対抗するため、ゲノムの再構成や、外来性遺伝子の取り込みなど様々な方法を用いて進化してきたと考えられる。例えば、ある菌は、ヒトの表層に生息できるような機構を維持し、また、あるものは、細胞内に侵入することにより、自己の生存を計る。近年のゲノム解析の急速な進歩により、数多くの病原性細菌のゲノムが明らかとなってきた。このような様々な菌種のゲノム情報を比較することにより、どのような課程を経て病原性を獲得してきたのかについて、上記の感染防御機構の回避メカニズムをモデルとして解析を行っている。

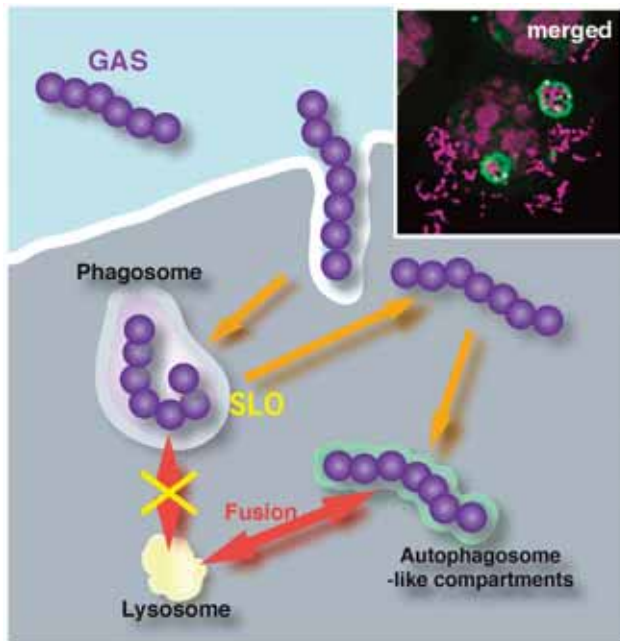


図1 細胞内に侵入したA群レンサ球菌は自食作用（オートファジー）によって捕獲・分解される。写真は、共焦点レーザー顕微鏡によるA群レンサ球菌をとらえたオートファゴソーム（緑）

Fig. 1 Intracellularly invading group A streptococci (GAS) are acquired by autophagy. (Photo) Confocal microscopic images of autophagosomes with GAS compartments (green).

A number of pathogenic bacterial pathogens have been developing a variety of mechanisms to evade from the host defence mechanism, and to maximize their virulence for surviving. For counterattacking to bacterial infection, our immune system has also acquired the various defence mechanisms in the evolution. Our major research interests are to elucidate the bacterial evolution to escape from the host immune responses, and cellular defence mechanisms against the bacterial pathogens. Especially, we focus the analysis of recognition molecules and the cellular defence mechanism against the intracellularly invading pathogens.

1. Intracellular host defense mechanism

Elimination of pathogenic bacteria harboured within host cells is crucial for host defence. The endocytic degradation pathway has been thought to be the only system against such intracellular pathogens. We demonstrated that the autophagic machinery, a bulk degradation system for cellular components, effectively eliminates the pathogenic group A *Streptococcus* (GAS) that has invaded non phagocytic cells. Macroautophagy, usually referred to simply as autophagy, is a physiologically important cellular process for the bulk degradation of organelles and cytosolic proteins. The cytoplasm derived contents of the autophagosomes are degraded by lysosomal hydrolases. This lysosomal degradation system is thought to be required for the non selective degradation and recycling of cellular proteins. However, the recognition mechanism of the intracellular bacteria by the autophagic degradation system has not well understood. We are investigating the intracellular recognition molecules to induce autophagy, and the bacterial factors recognized by this new surveillance system, especially targeting major gram positive bacterial pathogens such as streptococci and staphylococci.

2. Comparative genomic analysis for pathogenic bacterial evolution.

Comparative genomic analyses indicate that the genes within closely related bacterial species are highly conserved, with the exception of inversions, translocations, phage integrations, and the mobile genetic elements. In particular, the genomic arrangement regions by inversion and translocation form a specific genetic segment called the "plasticity zone". The genes in plasticity zones have undergone genetic reorganization to a much higher degree than the rest of the chromosome, and this is thought to be related to the diversity of pathogenic bacterial phenotypes. Only comparative genomic analyses based on whole genome sequences can provide useful information about genomic organization. To develop effective prevention strategies or new therapeutic methods for bacterial infection, it is necessary to understand the biology of this organism at the genomic level. We are trying to analyze the genomic organization during the evolution how the pathogenic bacteria acquire the virulence genes to evade from the host defense systems.

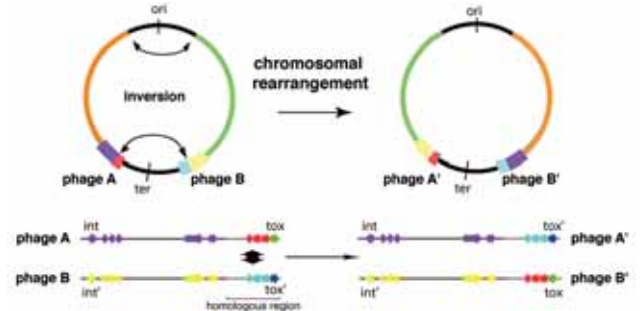


図2 A群レンサ球菌ではファージの挿入により、ゲノム構造そのものが変化し、進化の引き金となっている。ファージ領域の病原性遺伝子を含む領域は、相同組換えにより病原性遺伝子を入れ替えて、新たなファージとなる。

Fig. 2 Schematic diagram of phage related rearrangements by chromosomal inversion in group A streptococci. Two phages integrated equidistant from the ter region exchange their virulent cassettes. int: integrase gene of phage region. tox indicates superantigen, mitogenic factor, or streptodornase genes.

教授 医学博士 笹川 千尋
 特任助手 医学博士 永井 武

Professor: Chihiro Sasakawa, D.M.Sc.
 Research Associate: Takeshi Nagai, D.M.Sc.

当室は、日本全国の大学、国立研究所をはじめ、地方自治体の衛生試験所、医療関係技術者養成学校、病院検査室、食品検査室、企業の研究室などへ、あらゆる試験の標準となる病原性細菌の分譲活動を行っている。2005年より、感染症国際研究センター・病原微生物資源室として、大阪大学微生物学研究所との協力・連携体制をとっている。

我々の社会は、海外渡航者の増加、食品をはじめとする輸入拡大、O157などの食中毒の発生、バイオテロにより、種々の高度病原細菌（強毒菌）に脅かされる危険をはらんでいる。また、高度医療の拡充、高齢化社会、HIV感染の拡大により、医療現場での日和見感染起因菌・多剤耐性菌の迅速な同定と治療への応用が重要である。

細菌学や感染症学を専門とする研究者や臨床従事者のニーズは一段と高まっており、研究と教育の充実は目下の緊急課題である。的確な研究・教育遂行のためには、由来の確実な病原微生物株を適正に維持・保存して、研究・教育現場へ供給するシステムが不可欠である。しかし日本国内の病原微生物と感染症の研究の場は主に大学にあるため、保存、供給体制はほとんど整備されておらず、個々の研究者の退職や組織の解体・再編などで貴重な菌株が消滅の危機に直面している。さらに、生物多様性条約のもとで、病原微生物の海外からの提供、購入は困難になりつつある。

このような状況下において、当資源室では、①病原細菌標準株を研究・教育、検査業務の陽性コントロールとして提供すること、②社会的に重要性の高い病原細菌を整備すること、③大学や公的研究機関での実習・研究のために提供することを目的として、病原微生物の収集・保存・病原性解析・及び分譲を行っている。当資源室が現在保有する約1,500株は主要な病原細菌をほぼ網羅したコレクションであり、その中にはOrskovの病原性大腸菌のコレクションなど国際的に貴重な菌株や、国内では当資源室にしか保有されていない病原細菌が数多く存在する。また、国立大学が独立行政法人化された現在では、病原微生物は付加価値のある生物資源として確保すべきものであり、当資源室の菌株提供事業の必要性は高い。さらに、細菌感染分野の研究基盤を活用して収集細菌のゲノムおよび病原性に関する遺伝子情報を整備することは、標準株としての有用性を担保する上で重要である。本資源室は、我が国の感染症対策および医学微生物学の教育・研究に、今後も貢献することが期待されている。

- (1) 細菌菌株の収集・保存・データ管理
 現在下記6項目に該当する病原細菌の代表的標準株とその派生株を網羅的に収集する必要が考えられ、収集目標としている。
 a) ゲノム配列決定株の網羅的収集
 b) 院内感染起因菌（日和見菌・薬剤耐性菌）
 c) 病原性大腸菌（腸管・尿路・髄膜感染起因菌、赤痢菌、EPEC、O157など）
 d) 細胞内寄生菌（非定型抗酸菌、偏性細胞内寄生菌）
 e) 人獣共通病原細菌（獣医学領域での主要病原細菌）（ブルセラ菌（ブルセラ症）、レプトスピラ菌（レプトスピラ症）など）
 f) 新興細菌感染起因菌・大規模感染起因菌（ヘリコバクターピロリ、サルモネラ、ウェルシュ菌など）
 寄託収集した菌株は、生化学的性状を精査した後に、適切な株を選択して保存するとともに、データベースを構築して一般にも一部公開している。
- (2) 菌株の分譲
 全国の研究機関、病院検査室、医学系教育機関などへ菌株を分譲している。また、日本細菌学会との連携のもと、認定菌株の分譲もしている。
- (3) 病原性解析による分譲菌株への付加価値創造
 細菌感染分野と共同で病原微生物、とくに病原性大腸菌、新興細菌感染起因菌の病原性解析をおこなっている。これらの情報をユーザーへ提供することで、分譲菌株に、当室独自の付加価値を付与している。
- (4) 文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト「中核的拠点整備プログラム 病原微生物」参照
 ライフサイエンスの総合的な推進を図る観点で、研究に不可欠な微生物資源の収集・保存・提供を行うことを目的としている。複数の研究機関（細菌：大阪大学微生物病研究所、東京大学医学研究所、岐阜大学大学院医学研究科、病原真菌・放線菌：千葉大学真菌医学研究センター、原虫：長崎大学熱帯医学研究所、関連細菌：理化学研究所、データベース：国立遺伝学研究所）をネットワーク化し、収集・保存・供給体制の確立を目指している。



図 1 自動細菌同定・感受性測定装置による各種細菌の検査同定

Fig. 1 Identification of various bacteria with automatic analyzer for bacterial identification and drug susceptibility test.

This laboratory was established as the Laboratory of Culture Collection in 1972 to collect, conserve and supply various standardized pathogenic bacteria. Since its establishment, we have distributed pathogenic bacteria to universities, public research institutes, hygienic laboratories of local governments, medical correlation technologist training schools, hospital laboratories, food laboratories, and research laboratories of companies of all over Japan. Our laboratory was recently renamed the International Research Center for Infectious Diseases, Pathogenic Microbes Repository Unit in April 2005 with a cooperation system with the Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University.

Our society is always threatened by emerging and reemerging infectious diseases with various kinds of altitude pathogenic microbes owing to increased foreign tourism, import increase including food, food poisoning such as the O 157 epidemic, and bioterrorism. In addition, by advanced medical developments, the aging society, and increased HIV infection, the quick identification of and therapy for opportunistic infection causative agents and multiple drug resistance bacteria have become important in the medical field.

The need for researchers and clinical practitioners specialized in bacteriology and infectious diseases has risen remarkably, and the substantial study and education required is an emergent problem. For thorough study and education, knowledge of bacteriology, a system of collecting pathogenic microorganism strains of reliable origin, to maintain and save them appropriately, and to provide them to cutting edge researchers or educational establishments is indispensable. However, in Japan, research into pathogenic microorganisms and infectious diseases is performed mainly in universities, where there is no system for conservation and supply. Therefore, valuable bacterial strains have faced disappearance. Furthermore, under the CARTAGENA PROTOCOL ON BIOSAFETY for conventions of biological diversity, the provision and purchase of pathogenic microorganisms from foreign countries has become difficult.

In such circumstances, we are collecting, saving, and analyzing the pathogenicity of microorganisms and distributing pathogenic bacteria to 1) offer type cultures as a positive control in research, education and examinations, 2) prepare pathogenic bacterial strains that have socially high importance, and 3) offer microbes to universities or public research organizations for training or research. We possess about 1,500 strains that almost cover the main pathogenic microbes, including strains valuable internationally such as pathogenic *E. coli* of Orskov's collection, which is stored only in our laboratory in Japan. Furthermore, it is important to secure their utility as type cultures by preparing genomic and genetic information about the pathogenicity of our bacterial collection based on the researches of the Division of Bacterial Infection. Thus, our laboratory is expected to contribute to countermeasures against infectious disease, and to the education and research of medical microbiology in our country.

- (1) Collection, preservation and data management of bacterial strains
 It is necessary for us to collect representative type strains and the derivatives of pathogenic microbes corresponding to the following six items.
 a) Comprehensive collection of genome sequencing strains.
 b) The causative agents of hospital acquired (nosocomial) infection, such as opportunistic infectious bacteria and antibiotic resistant bacteria.
 c) Pathogenic *Escherichia coli* associated with the intestinal and urinary tract or meningial infections, including *Shigella*, EPEC and EHEC O 157.
 d) Intracellular bacterial pathogens such as *Mycobacterium avium* and obligate intracellular bacteria.
 e) Zoonotic agents causing brucellosis (*Brucella*), leptospirosis (*Leptospira*), and so on.
 f) Pathogens causing newly emerging infections and outbreaks, such as *Helicobacter pylori*, *Salmonella* spp. and *Clostridium perfringens*.
- (2) Distribution of bacterial strains
 We dissect the biochemical properties of bacterial strains collected by deposition, and maintain them appropriately. We are also opening the database of our collection to the public.
- (3) Value added creation of a bacterial strain collection by pathogenic analysis
 We are analyzing the pathogenicity of pathogenic microorganisms, especially pathogenic *E. coli*, the pathogenicity of new bacterial infection causative agents in cooperation with the Division of Bacterial Infection. Our collection has original added value by offering this information to users.
- (4) Participation with The National BioResource Project (NBRP) "Pathogenic Microorganisms (Bacteria, Fungi and Protozoa)"
 The National BioResource Project (NBRP) aims to enable Japan to structurally provide the systematic accumulation, storage and provision of nationally recognized bioresources, which are used widely in life science researches as materials. This project started in July 2002 as part of the "Research Revolution 2002 (RR2002)" project by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology. In addition to our institute, pathogenic bacteria are collected, stored and provided by the Research Institute for Microbial Diseases of Osaka University and the Graduate School of Medicine of Gifu University, pathogenic fungi and actinomycetes by Chiba University Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, and protozoan parasites by the Institute of Tropical Medicine of Nagasaki University. The border between pathogenic and non pathogenic microbes is vague, such that taxonomic studies can be conducted using both types of microorganisms. Therefore, the project is performed in cooperation with the Japan Collection of Microorganisms of the Riken Bioresource Center. The National Institute of Genetics (NIG) has built a database for microbial strains and bacterial toxins.

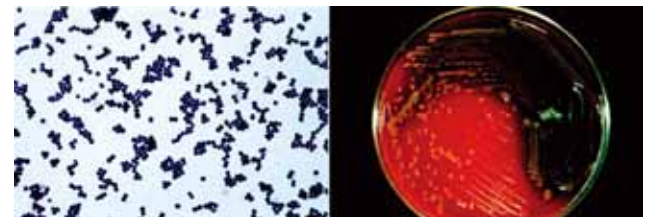


図 2 黄色ブドウ球菌（左）と緑膿菌のコロニー（右）

Fig. 2 *Staphylococcus aureus* (left) and *Pseudomonas aeruginosa* grown on agar plate (right).

教授	農学博士 甲 斐 知恵子	Professor: Chieko Kai, D. V. M., Ph. D.
助手	農学博士 三 浦 竜 一	Research Associate: Ryuichi Miura, Ph. D.
助手	農学博士 米 田 美佐子	Research Associate: Misako Yoneda, D. V. M., Ph. D.

RNAウイルスの病原性発現機構および種特異性決定機構を解明し、ウイルス病の発症や流行を防御することを目標としている。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。

- (1) 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)であるモービルウイルス(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)及びニパウイルスにおいて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。モービル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。また、人に対し高い致死率の脳炎を誘発するニパウイルスにおいても、フランスINSERMとの共同研究により世界で初めてのリバースジェネティクス系の確立に成功した。このような新しい遺伝子操作系を開発できたことによって、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。
- (2) モービル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、さらに癌細胞を標的とした新しいターゲティングベクターの可能性も研究している。
- (3) 遺伝的疾患ラットを用いた海綿状脳症発現機構の解明。
遺伝的疾患ラットを示すラットを用い、その病態メカニズムに関する分子機構の解明を進めている。
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。

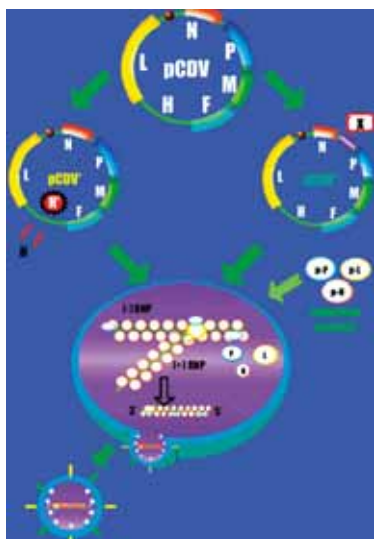


図1 CDVのリバースジェネティクス系の概略図
Fig. 1 Model of Reverse genetics for CDV

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

- (1) Molecular mechanisms of pathogenicity and species specificity of mononegavirales
We use our novel system which allows generation of morbilliviruses (measles virus, rinderpest virus, canine distemper virus) and Nipah virus from cDNA and thus enables engineering of the mononegavirales. Morbilliviruses are highly contagious, show various pathogenicities and considered as one of the most important causative agent of disease in each host. In collaboration with INSERM in France, we also succeeded for the first time in establishment of reverse genetics system for Nipah virus which induces encephalitis in human with high mortality rate. We study the roles of virus components and host factors including virus receptors in viral replication, pathogenicity and species specificity. These mechanisms were also analyzed in animal experimental models which show typical symptoms usually observed in natural affected hosts.
- (2) Development of new virus vaccines against morbilliviruses and of virus vectors.
Using our novel technique of genetic engineering, we are developing attenuated and/or multivalent vaccines. We also attempt to use the viruses as novel targeting vectors for cancer.
- (3) Mechanisms of developing pathological degeneration in central nervous system
Using rodent models which show genetically nervous symptoms with spongy form degeneration in CNS, we are analyzing the mechanisms of cell death and the molecular basis.
In animal research center, more than 30,000 mice, mainly transgenic or knockout, are kept for researches of IMSUT, and the technical staffs support their breeding, frozen storage of eggs, 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 齋藤 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.

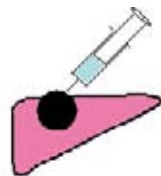
当施設は、アデノウイルスベクターと組換え酵素Cre及びFLPを用いた高効率がん細胞特異的遺伝子治療法および新規遺伝子発現制御法の開発を精力的に行っており、以下のプロジェクトを現在推進している。

- (1) 単一型がん特異的発現ベクターの開発：すでに開発した二重感染法を根本的に改良したがんの遺伝子治療用のベクターであり、がん細胞だけに高度に目的遺伝子を発現する。臓器全体あるいは全身的に投与して、転移した微細ながん細胞だけを死滅させる新しい遺伝子治療法を開発する。
- (2) 大容量アデノウイルスベクターの実用化：アデノウイルスゲノムの全遺伝子を除去し、約30kbまでの外来DNAを搭載できるアデノウイルスベクターはhelper dependent (HD) ベクターといわれているが、作製法が極めて非効率で普及していない。現在、独自のFLP発現細胞株を用いて高効率のHDベクターを開発中であり有望な結果が出ている。免疫原性の少ない長期発現持続ベクターや30kbまでのプロモーター領域ゲノムDNAによる組織特異的発現など、遺伝子治療研究以外の基礎研究への画期的な応用も期待している。
- (3) 遺伝子置換法を用いた染色体上遺伝子の改変法の開発：アデノウイルスベクター上の配列をRMCE (recombinase mediated cassette exchange) 法により染色体上にあらかじめ導入した標的配列へ高効率で組込むあるいは置換する方法を既に開発し特許を取得している。この技術をさらに改良し、染色体上の遺伝子改変技術の発生再生工学を含む基礎研究への利用や将来的には遺伝子治療への応用の可能性を追求する。

研究面以外に、当施設の齋藤は遺伝子組換え生物安全委員会の委員長を務めており、所内の組換え生物および研究用微生物の安全管理を担当している。

“見える癌”の治療

汎用プロモーター
腫瘍への直接投与



“見えない癌”の治療

遠隔転移癌・播種性癌
癌特異的プロモーター
全身的・臓器全体への投与

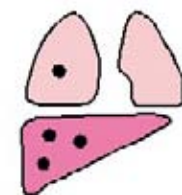


図1 がん特異的遺伝子治療ベクター
 Fig. 1 Cancer specific promoter for gene therapy

In this laboratory we actively work to develop novel and efficient methods aiming efficient cancer specific gene therapy and regulation of gene expression. The research projects below are in progress.

- (1) Development of a “single type” cancer specific and efficient vector: This new vector is a thoroughly improved version of previously developed “double infection” vector and efficiently expresses a therapeutic gene selectively in cancer cells. We intend to develop a vector that selectively kills cancer cells present even as disseminated form among normal cells.
 - (2) Improvement of high capacity adenovirus vector: The helper dependent (HD) adenovirus vector, which lacks most of the viral genome and bears large DNA up to about 30kb, is difficult to produce high yield and hence is not popular. We develop a high yield HD vector using newly constructed FLP expressing cell lines and obtain promising results. We expect that this vector can be used as a vehicle in various fields of basic research other than gene therapy, with low antigenicity and long duration of expression, and tissue specific expression under the control of genomic promoter up to 30kb.
 - (3) Development of an efficient method for exchanging a gene located on the genome using RMCE (recombinase mediated cassette exchange) technique: We have developed a method for transferring or exchanging a DNA sequence on the adenovirus genome onto the target sequence that had been introduced beforehand, and the method has been patented. We are improving the method further and pursue possibilities to application in the fields of basic research including development/regeneration and of future gene therapy.
- Besides the research field, Saito in this laboratory serves as a head of the committee in this institute dealing with gene modified organism and with microorganism in research, and gives advises under the related laws.

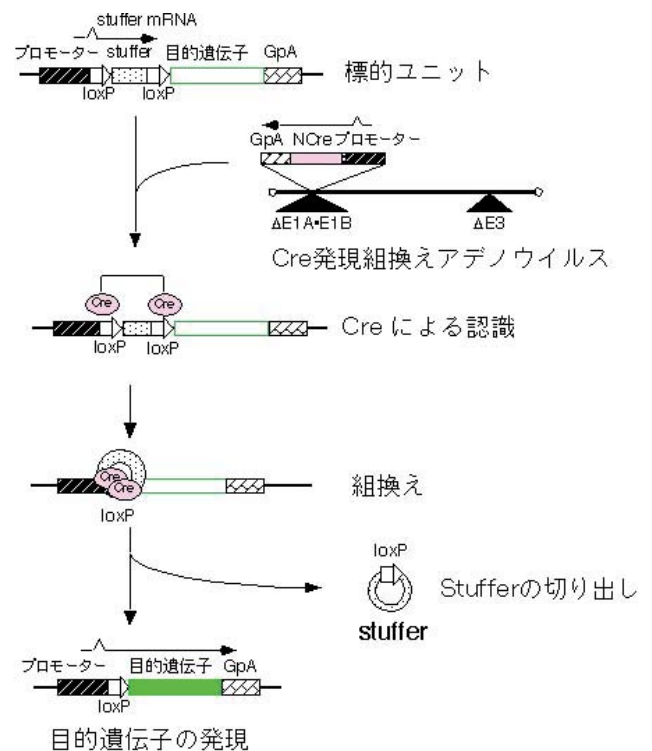


図2 組換えアデノウイルスを用いたCre/loxP系による発現制御系
 Fig. 2 Regulation of gene expression using recombinant adenovirus producing Cre recombinase

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。平成17年度からは、医科学研究所と大阪大学微生物研究所による国際感染症研究センターの付属施設にも組み込まれた

【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、ヨザルの人工繁殖】

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

【野生動物の関する研究】

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

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

【霊長類を用いた感染実験】

霊長類を用いたP2、P3レベルの病原性解析を行うことができる実験設備が増設され、現在までに、麻疹ウイルス、ヘルペスウイルス、マラリア原虫の感染実験を行った。

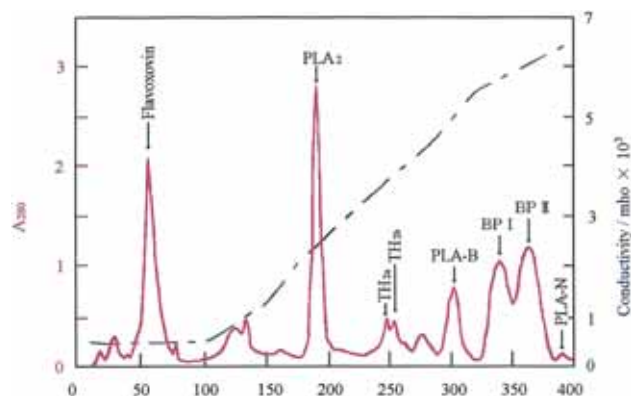


図1 ハブ毒のカラムクロマトグラフィー (Chromatography of venom proteins from Habu)

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

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

1) Research of Habu control.

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

2) Reproduction of squirrel monkeys.

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

3) Research of wild animals

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

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

4) Infection experiment using the primates.

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



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

教授	医学博士	岩本 愛吉	Professor Aikichi Iwamoto, M. D., D. M. Sc.
教授	獣医学博士	河岡 義裕	Professor Yoshihiro Kawaoka, D. V. M., Ph. D.
特任教授	理学博士	吉池 邦人	Professor Kunito Yoshiike, D. Sc.
特任教授	人類学博士	林 光江	Professor Mitsue Hayashi, Ph. D.
特任教授	医学博士	北村 義浩	Professor Yoshihiro Kitamura, M. D., Ph. D.

アジア感染症研究拠点（日中連携研究室）設立の目的は、新興・再興感染症研究に貢献することですが、さらに活動を通じて両国民の友好関係を促進することです。中国は新興感染症の多発地域です。したがってこのような地域に感染症研究拠点を設立することは大変重要です。なぜなら現地に研究拠点があって初めて、将来起こりうる新興感染症病原体の日本人研究者による研究が可能になり、また新興感染症との戦いに日本人科学者の貢献が可能になるからです。文部科学省委託研究費（2005-2010）の支援により、医科学研究所（IMSUT）は、中国科学院生物物理研究所（IBPCAS）および微生物研究所（IMCAS）と協力して、日中連携研究室を北京市サイエンスパーク内の2カ所に設立し、さらに中国農業科学院ハルビン獣医研究所（HVRI, CAAS）との間で共同研究プログラムを立ち上げました。またこれらの連携研究室および研究活動を支援するため、IMSUTプロジェクトオフィスを北京市につくりました。

- a. 構造ウイルス学・免疫学研究室（LSVI）
LSVIはIBPCAS（所長：饒子和）内に設立されました。この研究所は第一級の構造生物学研究所で、近年におけるSARSウイルス蛋白の解析は、新興感染症ウイルスの研究に重要な貢献をなすものでした。LSVIにおいて日中研究者は、ウイルスと宿主蛋白の構造研究と相互作用の解析により、病気を起こす仕組みを研究します。
- b. 分子免疫学・分子微生物学研究室（LMIMM）
LMIMMはIMCAS（所長：高福）の新館内に設立され、BSL2およびBSL3の施設を持っています。この研究所では、新興感染症ウイルスを含む微生物の多岐にわたる研究を行っています。LMIMMにおいて日中研究者は、これらのウイルスの進化と病原性を明らかにし理解するため、ウイルス学および免疫学的研究を行ないます。
- c. HVRIとの共同研究プログラム
鳥インフルエンザウイルスについてHVRI（所長：孔憲剛）との間で共同研究を立ち上げました。この研究所では、中国における家禽および鴨などの鳥インフルエンザウイルス研究を行っています。日中研究者は、野外における鳥インフルエンザウイルスの遺伝子変化を解析監視して、新たな高病原性ウイルスの出現と大流行の可能性に備えます。
- d. 東京大学医科学研究所北京プロジェクトオフィス
この事務所はプロジェクトが雇用した人、日本側の予算などを管理し、連携研究室と共同研究を支援します。

By establishing two joint laboratories and a collaborative research program between Japan and China, we aim to contribute to scientific research on emerging and re-emerging infections and to help promote a better relationship between the two peoples. China is a hot zone of emerging infections, so establishing joint research laboratories there is particularly important. The laboratories would allow Japanese scientists access to possible emerging pathogens and to have an opportunity to fight against possible emerging infections. Supported by a contract research fund (2005-2010) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, the Institute of Medical Science, University of Tokyo, (IMSUT) has established two joint laboratories in Beijing in collaboration with the Institute of Biophysics and Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, (IBPCAS and IMCAS, respectively), a collaborative research program with Harbin Veterinary Research Institute (HVRI), the Chinese Academy of Agricultural Sciences, and the IMSUT project office in Beijing.

- a. Laboratory of Structural Virology and Immunology (LSVI)
LSVI was established in IBPCAS (Director; Zihe Rao), a first class institute of structural biology. Structural analyses of the SARS CoV proteins were IBPCAS's recent contribution to molecular biology of emerging viruses. In LSVI, scientists from both countries study mechanisms of pathogenesis through analyses of structures as well as interactions of both virus and host proteins.
- b. Laboratory of Molecular Immunology and Molecular Microbiology (LMIMM)
LMIMM, equipped with BSL2 and BSL3 facilities, will be set up in new IMCAS (Director; George F. Gao) buildings. IMCAS is performing a wide range of research on microorganisms including emerging viruses. In LMIMM, scientists from both countries will be involved in the virological and immunological studies of the viruses to elucidate and understand viral evolution and pathogenesis.
- c. Collaborative Research Program with HVRI
A research program on avian influenza virus was set up with HVRI (Director; Xiangang Kong), which is engaged in research on the virus in domestic and wild fowl in China. Scientists from both countries conduct surveillance and the study of genetic changes of the virus in the field, preparing for a coming possible pandemic of a new pathogenic virus.
- d. University of Tokyo Institute of Medical Science Beijing Project Office
The IMSUT Beijing Project Office manages the personnel employed by the project and the Japanese side budget for collaboration.



中国科学院生物物理研究所 (IBPCAS)



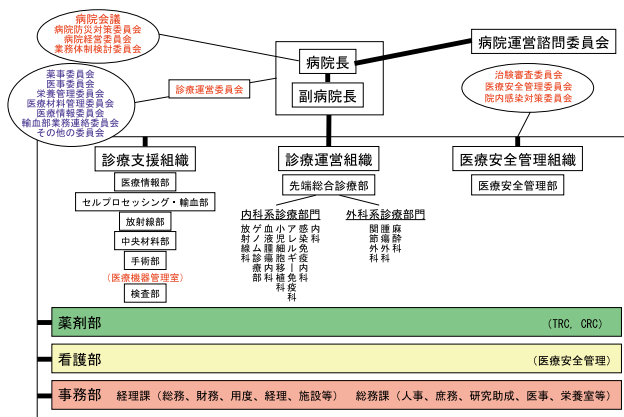
中国科学院微生物研究所 (IMCAS)



中国農業科学院ハルビン獣医研究所 (HVRI, CAAS)

2004年4月より国立大学が法人化し、ほとんどの大学病院は国立大学法人直属もしくは医学部附属となった。医科学研究所附属病院は、全国で唯一の国立大学法人附置研究所附属病院（研病）である。2003年度に完成した8階建ての新病院棟には、135床の入院病床（7階は6床の完全無菌病室を備えた無菌病棟）と外来、最新鋭の医療機器や手術室等が配備されている。現在は血液腫瘍、固形癌、感染症、自己免疫疾患等、医科学研究所の設置目的に合致した疾患を主要対象（プロジェクト）疾患とし、最先端の診療を基礎に先端医療研究センターと一体となって各疾患の病態研究や、臍帯血移植を中心とした造血幹細胞移植、樹状細胞を用いた免疫治療など探索的臨床研究（トランスレーショナル・リサーチ）を推進している。研病の運用組織は法人化とともに見直され、(1)診療運営組織、(2)診療支援組織、(3)医療安全管理組織の3つの機能的な運用組織を、薬剤部、看護部、事務部が包括的に支える構成とした。診療運営組織は、先端総合診療部のもとに研病の総力をもって最先端かつ全人的な診療に当たる体制とし、その中に内科系及び外科系の専門診療グループを形成している。2006年度には血友病関節症の経験の深い整形外科医一名と東京大学医学部附属病院・リハビリテーション部との連携により理学療法士一名を採用し、感染症を有する血友病者の診療科横断的な総合診療体制を確立するとともに、手術室稼働の向上に勤めている。診療支援組織は放射線部、セルプロセッシング・輸血部、検査部、手術部、中央材料部、医療情報部等から構成され、小回りの効く形で研病の診療を支えながら、それぞれの部門で切磋琢磨している。先端医療機器を備えた研病であるがMEが配置されていなかったため、東京大学医学部附属病院・医療機器管理部との連携により2005年度よりMEを一人採用し、機器管理・運用に勤めている。医療安全管理組織は、医療事故対策という意味での安全管理に責任を持つばかりではなく、研病の特性としてのトランスレーショナル・リサーチの合理的なプロトコル作成、安全性や倫理性の確認等のうえでも極めて重要な役割を有している。ヒトゲノム解析センターを始め、ヒト疾患モデル研究センター、基礎医学科学大部門など所内の基礎研究成果はいうまでもなく、国内外の優れた成果を臨床応用する場として機能することを目指す。運営費交付金や収益だけで研病の使命を果たすことは不可能であるが、21世紀COEプログラム、がんトランスレーショナル・リサーチをはじめとする外部資金の援助を受け、可能な限りの努力を行っている。

Even after all the Japanese national universities were transformed into the national university corporations in April 2004, the Hospital of the Institute of the Medical Science, the University of Tokyo (IMSUT) remained to be the only one Research Hospital in the country. A brand new 8-story hospital building is equipped with 135 beds including 6 completely biological clean rooms, out patient clinic, advanced diagnostic and therapeutic machines and so on. At the moment, Research Hospital mainly targets hematological malignancies, solid tumors, infectious diseases, autoimmune disorders as project diseases. Based on advanced and human treatment, Research Hospital, together with the Advanced Clinical Research Center, aims at clinical studies on pathogenesis and interventional studies such as cell therapy and immunotherapy utilizing stem cells and dendritic cells, respectively. The operational structure of Research Hospital is divided into three units; (1) advanced medical care unit, (2) care support unit and (3) safety management unit. These units are further supported by the nursing department, pharmacy and administration office. The advanced medical care unit consists of medical and surgical groups, in which professional subgroups provides high standard treatment. In 2006, Research Hospital recruited an orthopedician who is experienced with hemophilic joint surgery. Also a physical therapist was recruited with the cooperative support by the Department of Rehabilitation of the University of Tokyo Hospital. With these two specialists, Research Hospital can improve the total care for the hemophiliacs with infectious diseases. The care support unit consists of Radiology, Cell processing and Transfusion Service, Surgical Center, Laboratory Medicine, Medical Supply Center and Department of Medical Information System. Research Hospital is armed with many advanced medical equipment, however, no medical engineer (ME) had been allocated. With the cooperative support by the Department of Medical Instrumentation of the University of Tokyo Hospital, Research Hospital could recruit a ME in 2005. ME is allocated to the Surgical Center and takes care of all the medical instrumentation in the Research Hospital. The safety management unit is directly under the supervision of the director of the hospital and responsible not only for the medical safety issues but also for the rationality, safety and ethical issues of the protocol for the translational research. Research Hospital is a small but unique hospital with high standard care and full of medical sciences in collaboration with Advanced Clinical Research Center, Human Genome Center, Center for Experimental Medicine, three major basic research departments in IMSUT and other groups outside IMSUT. All the activities and mission of Research Hospital can not be covered by the fixed operational expenses. Research Hospital has been supported by external funds such as 21st Century COE Program, Funding for Cancer Translational Research and other external funds.



東京大学医科学研究所附属病院 運用機能概念図



教授 医学博士 山下直秀
 講師 医学博士 中岡隆志
 助手 医学博士 西下聡英
 助手 医学博士 大野秀樹
 助手 医学博士 磯尾直之

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

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

(1) 樹状細胞を用いた悪性腫瘍に対する腫瘍免疫療法における反応例の解析

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

(2) ヒト胎盤脱着膜由来細胞を用いた血管新生療法の前臨床研究

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

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

(3) 胎生期心臓発生における流出路形成機構に関する解析

多くのヒト胎児心奇形は心血管流出路の異常に起因しており、原因の解明は非常に重要である。胎生期にまず左右側板中肺葉中の心臓領域の細胞が正中で癒合し直線状の心臓管腔が形成される。一般に心臓管腔から左右の房室を備えた心臓が形成されると考えられてきたが、最近になり、前方心臓領域あるいは補助心臓領域と称される領域の細胞が右心室の一部を含めた心血管流出路の形成に関与し、所謂前駆細胞が前方心臓領域に存在する可能性が示唆されている。前方心臓領域のほかに神経提細胞が流出路形成に重要であることはよく知られている。hdfマウスはLacZ応答遺伝子のトランスジェニックマウス作製中に出来たストレインであり、心形成不全のために胎生致死に至る。Hdfのホモ胎児では著明な心血管流出路形成不全が認められるので、心血管流出路形成過程を解析する目的では臨好のモデルマウスである。Hdfマウスを用いて遺伝子発現量に関する解析を行った結果、胎生9日目のhdfホモ胎児心臓領域においてその発現量が顕著に低下している遺伝子Hag2を新たに発見した。Hag2遺伝子は胎生期発現調節を受け、前方心臓領域や神経提細胞の分布する胎生9日から10日目の鰓弓で強い発現を認める。現在、Hag2及び他の心臓領域発現遺伝子が如何に心臓流出路形成過程へ関与しているか検討を行っている。

(4) 大腸において勾配を形成する遺伝子の解析

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

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

(1) Identification of tumor associated antigens in melanoma patients treated by the dendritic cell therapy

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

(2) A potential pro-angiogenic cell therapy for ischemic disease using hPDMCs

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

(3) Analysis on mechanisms of conotruncus formation during embryonic heart development

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

(4) Analysis of the expression gradient of genes in human colonic mucosa

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

教授	医学博士	東 條 有 伸
助教授	医学博士	高 橋 聡
助教授	医学博士	内 丸 薫
助手	医学博士	友 成 章
助手		大 井 淳
助手	医学博士	曾 田 泰
助手	医学博士	湯 地 晃一郎
助手		大 野 伸 広
助手	医学博士	塚 田 信 弘

Professor	Arinobu Tojo, M. D., D. M. Sc.
Associate Professor	Satoshi Takahashi, M. D., D. M. Sc.
Associate Professor	Kaoru Uchimarui, M. D., D. M. Sc.
Clinical Associate	Akira Tomonari, M. D., D. M. Sc.
Clinical Associate	Jun Ooi, M. D.
Clinical Associate	Yasushi Soda, M. D., D. M. Sc.
Clinical Associate	Koichiro Yuji, M. D., D. M. Sc.
Clinical Associate	Nobuhiro Ohno, M. D.
Clinical Associate	Nobuhiro Tsukada, M. D., D. M. Sc.

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。

(1) 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。2005年度までに約500例以上の同種・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100例以上という単一施設としては世界でもトップクラスの移植件数と世界最高水準の移植成績を誇っている。当科における移植幹細胞の主たるソースがこのように変遷する状況下で、より重要な課題となっている臍帯血由来細胞(造血幹細胞, 免疫担当細胞, 間葉系細胞)を利用する細胞療法の基礎的研究ならびに臍帯血移植後の免疫再構築, GVHD, 移植片対腫瘍効果(GVL)の解析に他部署の協力を得て取り組んでいる。

(2) 細胞ならびに分子標的療法に関する研究

B細胞リンパ腫に対する抗CD20モノクローナル抗体(リツキシマブ)と慢性骨髄性白血病に対するチロシンキナーゼ阻害剤(イマチニブ)の臨床導入を契機に、ガン治療における細胞ならびに分子標的薬剤の開発が加速度的に進んでいる。当科では、これらの薬剤の新たな適応疾患を検討する臨床研究を実施するに際し、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。

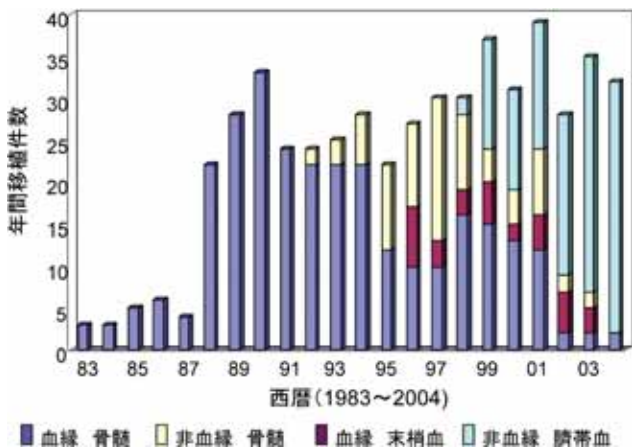


図1 当科における同種移植の年次推移

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 500 cases of allogeneic or autologous HSCT have been performed and HSCT related complications including acute/chronic GVHD and opportunistic infection have been treated until 2005. 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 more than 100 cases of CBT in adults, which appears a distinguished experience in the world. During such a transition of our stem cell source, immunological reconstitution from the CB graft as well as the pathophysiology of GVHD and GVL is becoming our main theme to be elucidated, and we are now engaged in the basic research on novel therapeutic application of CB HSC and mesenchymal stem cells.

2) Cell and Molecular Targeted Therapy

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

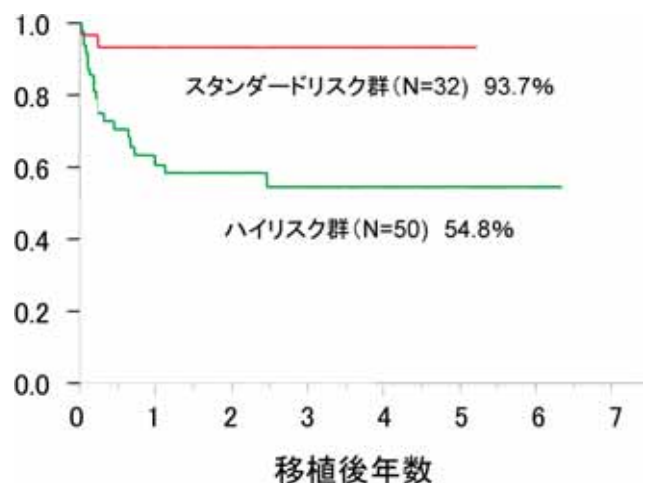


図2 当科における臍帯血移植の成績 疾患リスク別無病生存率

教授 医学博士 岩本 愛吉 (併)
 助教授 医学博士 中村 哲也
 講師 医学博士 小田原 隆
 助手 医学博士 遠藤 宗臣

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

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、我が国で数々の国際感染症の診療機関でもある。

1. HIV感染者の診療

現在、外来患者約300名、入院患者6～8名のHIV感染者の診療を行っており、その数は増加の一途をたどっている。下図に示すように、医科研附属病院で診療を行っているHIV感染者数は、1996年に国立国際医療センターにエイズセンターが設置された際にほぼ半減したが、その後は日本のHIV感染者数の統計と同様にやや指数関数的に増加している。

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

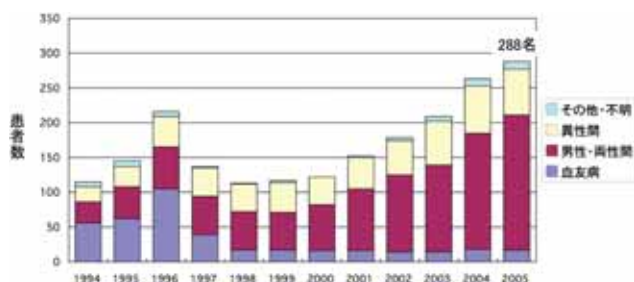
2. HIV感染症に対する新たな治療法の開発

われわれは前述の背景のもと、HIVワクチンをHAART施行中の患者に接種し、HIVに対する特異的細胞性免疫を賦活化したのちにHAARTを中断する第1相臨床試験を実施した。ワクチンにより誘導された特異的免疫で、HAART中断後のHIV増殖を制御できるか否かを検討するのが最終的な目的である。

HIVワクチンとしては、患者末梢血から誘導した自己樹状細胞にHIV由来CTLペプチドを添加したものを使用した。臨床試験参加者はHAART施行中でコントロール良好な4症例で、ワクチン接種後2症例においてELISPOTアッセイでワクチンに対する免疫応答を確認した。有害事象として軽度の局所反応を認めただけで、第1相試験として本臨床試験のワクチンの安全性が確認された。HAART中断後は4症例全てでHAART開始前と同程度のHIVの再増殖が観察され、ワクチンの効果は認められなかった。今後、さらに有効なワクチンを開発し、より強いHIV特異的免疫応答を誘導することで安全なHAART中断を可能としたい。

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ッチ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。



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

1. Clinical activities for HIV infection

Approximately 300 outpatients and 6-8 inpatients with HIV infection are under our medical care, and the numbers are still increasing. As shown in a figure below, the number of HIV infected patients managed in IMS hospital transiently decreased by half because of establishment of AIDS center in International Medical Center of Japan. However, the number is increasing again with slightly exponential curve as Japanese statistics of HIV infected patients.

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

2. New therapeutical strategy for HIV infection

Based on the background stated above, we conducted a phase 1 clinical study to interrupt HAART after induction of HIV specific immunity with HIV vaccine. The final purpose of this study is to know whether vaccine induced specific immunity can control viral rebound after treatment interruption.

As an HIV vaccine, we utilized autologous dendritic cells (DCs) which were induced from patients' peripheral blood and pulsed with HIV CTL peptides. Four participants with undetectable viral loads under HAART were enrolled in this study, and two of them showed positive immunological response in ELISPOT assays after administration of DC vaccine. Only adverse events related to vaccine were mild local reaction, and we could confirm the safety of this phase 1 clinical study. However, vaccination did not affect viral rebound after treatment interruption in all 4 participants because viral loads after treatment interruption were similar to those before start of HAART. We need to develop more effective HIV vaccine which can induce potent HIV specific immunity and control viral rebound after treatment interruption.

3. Treatment of tropical diseases

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

助教授(併) 医学博士 辻 浩一郎
 助手 医学博士 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38例の造血幹細胞移植の実績があり、予後不良の原疾患や再発期症例が多い中、非血縁者間移植やHLA不一致移植にも積極的に取り組んでいる。また、長期入院患児の教育面に配慮し、都立城南養護学校により院内学級が開設されている。以下に現在進行中のプロジェクトを示す。

(1) 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。

(2) 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。

(3) ヒト胚性幹細胞の臨床応用

2002年に文部科学省の承認を得て、ヒト胚性幹細胞から、移植医療のための造血幹細胞、及び、輸血医療のための成熟血液細胞への分化誘導法の開発を目指している。

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

(1) 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.

(2) *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.

(3) Clinical application of human embryonic stem cells

We are aiming at the establishment of the method for efficient production of HSC for therapeutic transplantation and functional mature blood cells for transfusion medicine. This study was approved by the government in 2002.



図1
ヒト臍帯血中の造血幹細胞/前駆細胞 (CD34+細胞)

Fig. 1
Hematopoietic stem/progenitor cells in human umbilical cord blood cells (CD34+ cells).

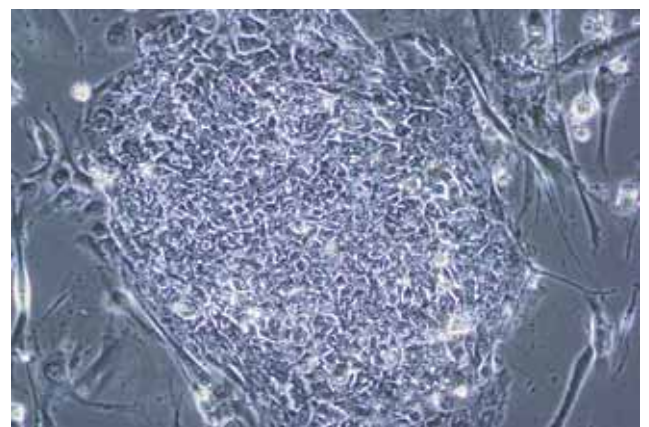


図2
ヒト胚性幹細胞

Fig. 2
Human embryonic stem cells.

助教(併) 医学博士 田中 廣 壽
 助手 医学博士 河崎 寛
 助手 医学博士 細野 治
 助手 医学博士 吉川 賢 忠
 助手 医学博士 大沼 圭

Associate Professor: Hirotohi Tanaka, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Hiroshi Kawasaki, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Osamu Hosono, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Noritada Yoshikawa, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Kei Ohnuma, M. D., D. M. Sc.

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

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

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

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

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

1) Rheumatology Clinic

Musculoskeletal disorders are now considered to be one of the major causes of disability in elderly persons. Concerning rheumatoid arthritis, more than 700 thousands people are suffering from the disease in Japan. Given the recent development of anti rheumatic drugs, we are trying to settle the disease down to remission, with starting anti rheumatic drugs and/ or immunomodulators immediately after diagnosis is made. Recently developed biologically active agents including anti TNF α antibody and soluble TNF α receptor, would be considered in intractable cases.

Glucocorticoids are still a key player in treatment of patients with these rheumatic disorders. However, occurrence of side effects of glucocorticoids is not idiosyncratic but dose and duration related. Close monitoring not only their therapeutic but also side effects enables us to minimize the dose and duration of the therapy. Especially, prevention of osteoporosis is of our current pharmacological concern. On the other hand, we have been working with dissociation of therapeutic antiinflammation from side effects of glucocorticoids and recently identified a prototypical compound for that purpose.

Interdisciplinary approach is mandatory for patient care, which is accomplished with the help of specialists in the orthopedics, rehabilitation, dermatology, ophthalmology, neurology, and the Division of Nursing and Division of Pharmacy.

助教授 医学博士 佐藤 典治
 助手 医学博士 高橋 直之

Associate Professor: Noriharu Sato, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Naoyuki Takahashi, M. D., D. M. Sc.

ゲノム診療部は平成13年度に新設された新しい診療部である。ヒトゲノムのドラフトシーケンスの発表以来、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。また当院も腎癌に対する本邦初の免疫遺伝子治療を行うなど、先進医療の開発研究に取り組んでいる。このような状況の下で、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。

さらにゲノム科学の進展に付随して、一部で安易な遺伝子診断が増え、不必要な不安・混乱を人々に与える危険性も指摘されるようになった。これに対する対応として遺伝カウンセリングが欧米で発達してきた歴史があるが、国内の遺伝カウンセリング体制はまだ不十分といわざるを得ないのが現状である。

ゲノム診療部では小児科、看護部、臨床心理士などで診療チームを形成し、更に学内・外の専門家の支援を頂いて、遺伝カウンセリング外来を開設している。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おざりにされがちであるとの批判があるため、当院の遺伝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整えている(図参照)。

更に当院に多い血液疾患患者を対象として、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、骨髄異形成症候群と移植後のGVHDなどを主な研究対象としている。

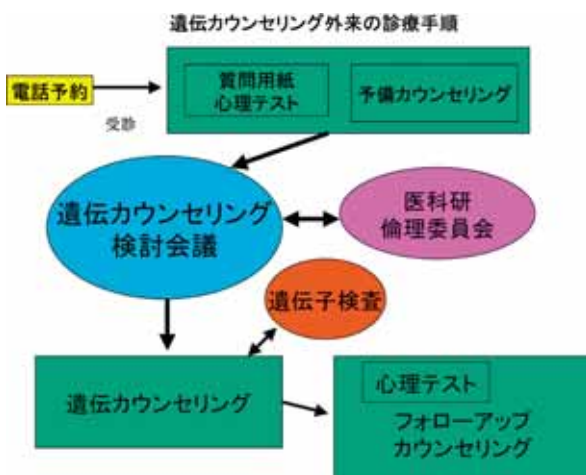
また、ヒトゲノム解析センターが中心となりオーダーメイド医療のモデルケースとして、慢性骨髄性白血病患者を対象とした「グリバックの効果予測のための発現解析研究」と非小細胞肺癌患者を対象とした「抗がん剤イレッサの効果予測のための遺伝子解析研究」を行っている。ゲノム診療部でもこの取り組みに積極的に協力し、患者の受付、適格性の判定、カウンセリングなどを担当している。

Our department was established in 2001. Since draft sequence of human genome was published in February 2001, human beings have entered an era of genomic medicine where we treat various patients with the aid of genomic information concerning drug sensitivity, disease progression, and classification based on molecular diagnosis. In addition, genomic information would provide important clues for disease prophylaxis from the point of view of public hygiene. Our hospital has started gene therapies against renal cancer that were successfully finished.

Genetic counseling is the process of providing individuals and families with information on the nature, inheritance, and implication of genetic diseases or genetic informations to help them make informed medical and personal decisions. Genetic counseling is, therefore, indispensable in genomic medicine.

We have opened genetic counseling in our hospital in collaboration with department of pediatrics, 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 have prepared to provide enough psychological support to clients who visit our clinic.

We are currently performing collaborative research with many hospitals concerning drug responsiveness of myelodysplastic syndrome and graft versus host disease after hematological stem cell transplantation. Most recently our hospital has started microarray studies on CML cells and lung cancer cells to know their responsiveness to Imatinib or Gefinitib, respectively, before therapy. Our department is also participating in this project.



The University of Tokyo, The Institute of Medical Science
東京大学医科学研究所附属病院

病気が遺伝するものかどうかなど、遺伝に関することで不安や悩み、お困りのことは、遺伝に関すること、当院では医師・看護師・臨床心理士がご相談に応じます。秘密は守られますので、ご安心ください。

遺伝カウンセリング予約番号: **03-5449-5488**
 診察日: 金曜日 (午後1時~5時 予約された方のみ)

※完全予約制です。
 本患は遺伝子検査結果、検査結果は本人または、相談者と同意の上で、親戚等、かつドナーが同意した上で実施いたします。また、費用を事前にお知らせいたします。

遺伝カウンセリング外来

東京大学医科学研究所附属病院 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1

交通アクセス

※詳細は東京大学医科学研究所附属病院のホームページをご覧ください。http://www.u-tokyo.ac.jp/

助教授 医学博士 井上 優介
 講師 医学博士 山田 晴耕
 助手 医学士 酒井 美緒

Associate Professor: Yusuke Inoue, M. D., D. M. Sc.
 Lecturer: Haruyasu Yamada, M. D., D. M. Sc.
 Clinical Associate: Mio Sakai, M. D.

医用画像は、機器の進歩、information technologyの発達とともに、臨床医療、臨床医学における重要性を増している。当科ではマルチスライスCT, MRI, SPECTといった高度画像技術を用いて様々な疾患の評価を行っている。画像を用いた診断や治療効果判定は、一般診療のみならず、医科学研究所病院におけるプロジェクト診療支援としても欠かせないものになっている。独自の研究活動として、画像技術を利用して様々な生物学的過程を非侵襲的に評価する方法の開発、改良を行っている。さらに、これらの方法を生体機能の解明、疾患の病態解析に応用している。

当科において進行中の主たる研究プロジェクトは以下のようなものである。

1) 小動物MRIの研究

小動物実験への画像技術の応用が進んでおり、MRIを用いると臓器・腫瘍の形態や組織性状を非侵襲的に繰り返し評価できる。我々は小型MRI装置を用いた小動物撮像技術の開発、改良と疾患モデル実験への応用に取り組んでいる。

2) 生体内遺伝子発現の生体発光による画像化

生体発光画像法では、ルシフェラーゼ遺伝子と高感度CCDカメラを用いて、生きた動物内の遺伝子発現を、全体的、定量的に繰り返し画像化できる。我々は、この画像法の技術開発を行うとともに、腫瘍モデル動物実験への応用に取り組んでいる。

3) Functional MRIによる高次脳機能の研究

Functional MRIは神経活動部位の非侵襲的な検出を可能とし、脳機能の有力な研究手段として広く認められている。我々は心理学的課題下にfunctional MRIを行い、高次脳機能メカニズムの解明につとめている。

4) 中枢神経疾患の拡散テンソル解析

MRI拡散テンソル画像法により生体内の拡散能・拡散異方向性を評価することができ、白質神経線維の走行を抽出するtractographyが可能となる。我々は、拡散テンソル画像にvoxel based analysisを応用し、精神神経疾患や変性疾患などを対象として、仮説や操作上のバイアスに依存しない全脳の画像統計解析を行っている。

5) 心疾患の画像解析

MRI, SPECT, PETを用いた心臓の機能、血流、代謝、神経機能の測定を行っている。心臓生理測定法の開発、代謝性心疾患の病態解明、心臓に対する薬物療法の効果判定を行うことを目的としている。

The role of imaging technologies in clinical medicine is expanding along with advances in instruments and information technology. We evaluate various diseases using advanced imaging technologies, such as multislice CT, MRI, and SPECT. Image based diagnosis and evaluation of therapeutic effect have critical importance in project related treatments in the Research hospital as well as in routine clinical practice. As our own research activities, we are developing and sophisticating methodologies for the noninvasive evaluation of various biological processes and are applying them to the investigation of in vivo biology and pathophysiology.

Our main research projects are as follows:

1) MRI of small animals

Imaging technologies are increasingly applied to small animal experiments. MRI allows non invasive, repetitive assessments of morphology and tissue characteristics of various organs and tumors. We are investigating technical aspects of small animal imaging using a compact MRI system and are applying the developed methods to disease model experiments.

2) Bioluminescence imaging of in vivo gene expression

In vivo bioluminescence imaging can non invasively visualize the whole body distribution and intensity of expression of the luciferase gene using a highly sensitive CCD camera. We are developing techniques related to in vivo bioluminescence imaging and applying the imaging methods to experiments using tumor model animals.

3) Functional MRI of higher brain function

Functional MRI detects the foci of neuronal activity noninvasively and is accepted as a potent tool of brain research. We are investigating the mechanism of higher brain function by functional MRI combined with psychological tasks.

4) Diffusion tensor analysis of CNS disease

Magnetic resonance diffusion tensor imaging allows in vivo evaluation of mean diffusivity and diffusion anisotropy as well as tractography, visualization of white matter pathways. We apply voxel based analysis to diffusion tensor imaging and perform statistical analysis of human brain with neuropsychiatric or degeneration disease, without hypothesis or operational bias.

5) Imaging approach to cardiac diseases

Function, perfusion, metabolism, and neuronal integrity of the heart are measured by MRI, SPECT, and PET. Our aims are to develop methods of measuring cardiac physiology, to elucidate the pathophysiology of metabolic heart diseases, and to assess the effects of medical treatment on the heart.

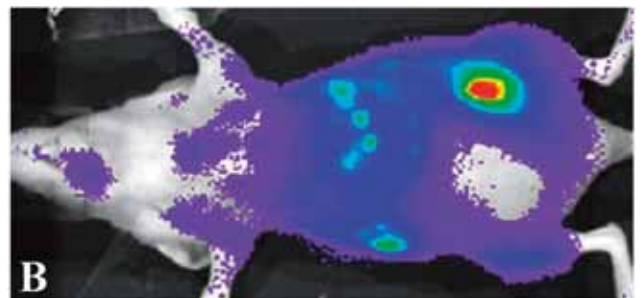


図1 腫瘍モデルマウスの非侵襲的イメージング (A. MRI, B. 生体発光画像)

Fig. 1 Non invasive imaging of a tumor model mouse (A. MRI, B. bioluminescence imaging).

教授 医学博士 田原 秀 晃
 講師 伊藤 精 彦
 助手 医学博士 吉田 浩 二

Professor: Hideaki Tahara, M. D., Ph. D.
 Lecturer: Akihiko Ito, M. D.
 Clinical Associate: Koji Yoshida, M. D., Ph. D.

当研究分野は、先端医療研究センター臓器細胞工学分野、および他の研究分野・診療科部門と緊密な連携を保ちながら、固形癌の外科治療と免疫遺伝子治療に携わっている。また、上部、下部消化管内視鏡検査およびレントゲン検査、超音波検査、血管造影検査などを行い、附属病院検査部門の一翼を担っている。2005年には、99例の手術を全身麻酔下あるいは腰椎麻酔下に行った。

当診療科の目標は、先端医療研究センター臓器細胞工学分野のみならず他の研究分野の研究成果をできるだけ早く臨床に導入し、実際の患者様を対象とした開発早期（第1、2相）の臨床試験を附属病院において実行することである。その目標に沿って、すでに我々は、悪性黒色腫に対するワクチン療法と、放射線と樹状細胞を用いた免疫療法という2種類の第1相臨床試験を完了した。また、悪性黒色腫を対象とした第1相臨床試験の結果を踏まえて、エピトープペプチドとIL 2を用いたワクチン療法(Phase I/IIa)を開始し、さらに、消化器癌に対するワクチン療法も立ち上げて症例を重ねている。また、ヒトゲノム解析センターで新たに腫瘍抗原として同定されたRNF43分子やURLC10分子にも着目し、そのエピトープペプチドを用いた癌ワクチン療法も開始している。以下に、これらの臨床試験を詳述する。

- (1) すでに完了した第1相臨床試験
 - ① 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
 - ② 進行悪性腫瘍に対する放射線と樹状細胞、ならびにIL 2を用いた免疫療法
- (2) 現在進行している第I相、第I/IIa相臨床試験
 - ① 悪性黒色腫に対するHLA A*2402拘束性エピトープペプチドとIL 2を用いた腫瘍特異的ワクチン療法(第I/IIa相臨床試験)

悪性黒色腫に対する第1相臨床試験の安全性、臨床効果を踏まえて、gp100由来HLA A*2402拘束性エピトープペプチド(gp100 int4: VYFFLPDHL)とIL 2を用いた腫瘍特異的ワクチン療法(第I/IIa相臨床試験)を実施している。IL 2の投与目的は、腫瘍特異的細胞障害性T細胞の誘導を増強するためである。この試験の最終的な目標は、臨床効果の判定と安全性の確認、ペプチド特異的な免疫反応の有無の確認である。2005年度までに16名の患者様がこの臨床試験に参加され、重大な副作用には生じていない。
 - ② 進行大腸癌に対する新規癌関連抗原RNF43由来ペプチドを用いたワクチン療法(第1相臨床試験)

新規癌関連抗原RNF43由来エピトープペプチドを用いた、進行大腸癌に対する第1相臨床試験を開始した。RNF43(Ring Finger Protein 43)は、ヒトゲノム解析センターで23,040個の遺伝子をcDNAマイクロアレイ法を用いて網羅的に調べた結果、正常大腸粘膜には発現がなく、大腸癌に高頻度に発現していることでスクリーニングされた遺伝子である。RNF43由来ペプチドが免疫原性を持っているかどうか検討した結果、HLA A*0201拘束性エピトープペプチド2個とHLA A*2402拘束性エピトープペプチド1個が同定された。これらのペプチドは誘導したCTLクローンによって特異的に認識され、さらに、CTLクローンが内因性にRNF43を発現する細胞を認識できることから、免疫原性を有すると考えられる。したがって、RNF43は大腸癌に高頻度に発現する新しい腫瘍関連抗原と考えた。

臨床研究プロトコールは当院治験審査委員会の承認を受け、臨床試験を開始した。
 - ③ 腫瘍新生血管を標的としたペプチドワクチン療法第I相臨床試験

腫瘍新生血管を標的としたペプチドワクチン療法に関する我々が得られた基礎的研究結果より、安全性を主目的に免疫反応として臨床的有用性を副次的に検討する第1相臨床試験を開始した。対象疾患は胃癌、乳癌そしてGISTとする。HLA A*0201あるいはHLA A*2402を有する患者に対しVEGFR2のエピトープペプチドをIFAに混和して接種する。この臨床研究プロトコールは当院治験審査委員会の承認を受け、臨床試験を開始した。
 - ④ 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Th1タイプの免疫反応を誘導する成熟樹状細胞を用いたワクチン療法第I相臨床試験

樹状細胞療法は癌に対する免疫療法として注目されている。先行するgp100ペプチドワクチン療法のさらなる臨床効果を得るために樹状細胞を用いた臨床試験を考案した。これまで教室で行った樹状細胞療法により得られた知見を生かしてTh1タイプの免疫反応を誘導する成熟樹状細胞の培養法を確立し、本臨床試験で用いる。

安全性を主目的に免疫反応として臨床的有用性を副次的に検討する。この臨床研究プロトコールは当院治験審査委員会の承認を受け、臨床試験を開始した。
- (3) 現在開発中の臨床試験
 - ① 樹状細胞を用いた遺伝子治療の開発

治療ベクター開発室と密接な連携を図りながら、アデノウイルスベクターを用いてIL 12遺伝子を導入した樹状細胞を、腫瘍局所に投与する遺伝子治療を計画中である。

We have been engaged in the surgical treatment of solid tumors and the immunotherapy of various malignancies. We have also been offering services, including upper and lower endoscopic examination, ultrasonic examination, and angiography. Surgical operations have been performed in 99 cases under general anesthesia and spinal or epidural anesthesia in 2005.

The principal goal of our department is to develop and conduct clinical trials in the early stages (Phase I and II) for patients at Research Hospital. These trials have been and will be derived from the new findings of the basic research projects conducted at Division of Bioengineering and other research divisions. We have performed phase I clinical trials of melanoma vaccine using gp100 derived peptides and immunotherapy using dendritic cells in combination with local irradiation therapy. We have also initiated phase I/IIa clinical trials of epitope peptides based vaccine against gastrointestinal malignancy. Furthermore, we have started phase I clinical trials of epitope peptide vaccine therapy derived from newly identified tumor associated antigens, RNF43, and URLC10 which were screened by using microarray method in Human Genome Center.

- (1) Clinical trials finished
 - ① HLA restricted epitope peptides based cancer vaccine for malignant melanoma
 - ② Phase I clinical trial of intra tumor injections of autologous dendritic cells combined with local radiotherapy and systemic administration of IL 2 for advanced cancer patients
- (2) Clinical trials on going
 - ① Phase I/IIa clinical trial of melanoma vaccine using gp100 derived peptides restricted to HLA A*2402

From the results of phase I clinical trial of melanoma vaccine using gp100 derived peptides, phase I/IIa clinical trial of melanoma vaccine using gp100 derived peptides were performed. HLA A*2402 restricted gp100 derived peptide (gp100 int4: VYFFLPDHL) was used with IFA and interleukin (IL 2) in order to augment for anti tumor immunity. Our goals in this clinical trial are to examine these clinical efficacy, furthermore, safety and immune responses associated with the peptide vaccination. We have enrolled 16 melanoma patients until 2005. So far, the protocols were well tolerated, and no cardiac, hematological, hepatic, or renal toxicity was noted.
 - ② Phase I clinical trial of tumor specific vaccine using epitope peptides derived from a novel tumor associated antigen RNF43 against advanced colorectal cancer

A phase I clinical trial has been performed using epitope peptides derived from RNF43 for HLA A*0201 positive and HLA A*2402 positive advanced colorectal cancer patients, in order to evaluate toxicity, clinical and immunological responses. We selected RNF43 (Ring Finger Protein 43) as a promising candidate for a tumor associated antigen (TAA) expressed on colon cancer cells but not on normal colonic mucosa among 23040 genes using gene expression profiling with a genome wide cDNA microarray. We examined whether the RNF 43 protein contains antigenic epitope peptides restricted to HLA A*0201 or HLA A*2402. The CTL clones were successfully induced with stimulation using the peptides binding to HLA A*0201 11 (9mer) and HLA A*0201 11 (10mer) and HLA A*2402 721, and these CTL clones possessed the potent cytotoxic activity specific to not only the peptide pulsed targets but also the tumor cells expressing RNF 43 and restricted respective HLA molecules. These results strongly suggest that RNF43 is a new TAA of colon cancer.

The protocol has been approved by the IRB, and the enrollment of the patients has been initiated.
 - ③ Phase I clinical trial of epitope peptides based vaccine targeting tumor vascular endothelial cell.

From our basic research, phase I clinical trial has been performed to evaluate safety, immunological response and clinical response against advanced gastric cancer and breast cancer patients and patients with gastrointestinal stromal cells. Epitope peptides derived from VEGFR2 are used for the cancer vaccine to treat the patients with advanced cancer patients. Patients with HLA A*0201 were treated with VEGFR2 derived peptide (VIAMFFWLL) Patients with HLA A*2402, were treated with VEGFR2 derived peptide (RFVPGDGNRI) All of the peptides were used with IFA in order to augment for CTL activity.

The protocol has been approved by IRB, and the enrollment of the patients has been initiated.
 - ④ Phase I clinical trial of melanoma vaccine using gp100 derived peptides restricted to HLA A*2402 with fully matured dendritic cells to induce Th1 type immune responses

Dendritic cells (DC) administration appears to be very promising approach for immunotherapy against cancer. To further magnify the immune responses and obtain the clinical benefits, we have focused on the gp100 int4 peptide loaded DC vaccination. However, what we found from the results of phase I clinical trial using DC in our institute were the dysfunction of immature DC derived from cancer patients. Thus, we developed a new culture method to obtain the fully matured DC that is capable of T helper type 1 (Th1) polarization. From these backgrounds, we are going to utilize this fully matured DC to the phase I clinical trial of peptide vaccinations.

The goals in this clinical trial using our propagated DC are to examine the safety and immune responses, furthermore, the clinical efficacy associated with the peptide loaded fully matured DC vaccinations. The protocol has been approved by IRB, and the enrollment of the patients has been initiated.
- (3) Clinical trials under development
 - ① Development of gene therapy using dendritic cells

In close collaboration with Core Facility for Therapeutic Vectors, we are developing clinical application of IL 12 gene transduced dendritic cells for cancer patients

講師 医学博士 竹谷 英之

Lecturer: Hideyuki Takedani, M. D., D. M. Sc.

血友病外来は平成15年6月より月に一回、国立病院機構福井病院から竹谷が非常勤講師として診察を行っていたが、手術患者の受け入れは行っていなかった。主に血友病性関節症に対する整形外科的な診察・手術を行うことを目的として今年、関節外科が新設され、医師1名と理学療法士1名が配置された。

血友病は先天性の第Ⅷ因子あるいは第Ⅸ因子欠乏症で、国内には4,000人以上の患者がいると推定されている。症状としては反復する出血が特徴的で、皮下出血、関節内出血そして筋肉内出血が主な出血部位である。この出血により関節機能が低下し、さらに関節変形（血友病性関節症）へと若年期から進行する。特に成人の重症血友病患者の多くは、幼少期に十分な止血管理を受けられなかったために、大関節のうち少なくとも一つは末期の血友病性関節症に陥っている。また血液製剤によるウイルス感染を合併している患者も多い。このような関節に対して人工関節置換術が、また出血を繰り返す関節に対しては関節鏡視下滑膜切除が国際的には行われているが、止血管理やHIV感染合併の問題から、日本国内では血友病に対する整形外科手術を積極的に行う施設は少ないのが現状である。

関節外科の目標として、福井病院が担っていた全国の血友病性関節症をもつ患者に対する診察と治療を根付かせ発展させていくことや、ほとんど解明されていない血友病性関節症の発生機序について、基礎的な研究を行っていきたい。

Previously, the orthopedic examination of hemophilia patients had been done, starting in June 2003, by Dr. Takedani on a once a month basis. However it had not been possible to do orthopedic surgical treatment. The Department of Joint Surgery was newly established this April for orthopedic examination and surgery for hemophilia patients. One orthopedic surgeon and one physical therapist were assigned to this new department.

Hemophilia is the congenital disease with a lack of factor VIII or factor IX. It is estimated that there are more than 4000 patients in Japan. Symptoms include recurrent bleeding such as percutaneous bleeding, intra articular bleeding and intra muscular bleeding. This leads to joint dysfunction and develops into hemophilic arthropathy in youth. Especially in adults, at least one of the major joints is affected with severe damage because of insufficient supplementation with concentrates during the juvenile time, and many of them are unfortunately infected with HIV and/or HCV. Internationally, for hemophilic arthropathy, synovectomy or total joint arthroplasty has been performed; however there are not many hospitals in which those orthopedic surgical treatments were performed for hemophilia patients because of difficulties with hemostasis and HIV infection.

Our department has been focusing entirely on orthopedic examinations and will develop the capacity for orthopedic surgery. We will also research the process of intra articular bleeding leading to arthropathy, which is not well understood.

助教授 医学博士 林 田 眞 和
 助 手 医 学 士 今 村 佐 知 子

Associate Professor: Masakazu Hayashida, M. D., Ph. D.
 Clinical Associate: Sachiko Imamura, M. D.

手術部では一般業務として年間206件の手術・侵襲的手技と、699件の診断的検査を行っている(2005年度)。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10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の地位を占めている。麻醉科としては、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。

動物実験研究および臨床研究において、

- (1) モルヒネの薬剤耐性発生を予防する薬物に見出すための研究
- (2) 麻薬拮抗性鎮痛薬の鎮痛機序を解明するための研究
- (3) 麻薬の鎮痛効果の個人差を生じる遺伝的背景を明らかにするための研究

を推進している。

We handled 206 surgical cases and 699 cases of diagnostic or interventional procedures in 2005. 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 10 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.

We are conducting animal experimental studies to explore useful drugs to prevent and treat morphine tolerance and a clinical study to investigate genomic mechanisms underlying a wide interindividual difference in opioid sensitivity.

教授 (併) 医学博士 岩本 愛吉
 特任講師 医学博士 長村 文孝
 特任教員 医学博士 小林 誠一郎

Professor: Aikichi Iwamoto. M. D., D. M. Sc.
 COE Lecturer: Fumitaka Nagamura. M. D., D. M. Sc.
 COE Clinical Associate: Seiichiro Kobayashi. M. D., D. M. Sc.

医療安全管理部は医科学研究所附属病院内で行われるトランスレーショナルリサーチを中心とした臨床研究が科学的・倫理的に適切に施行される事を支援・検証する部門として平成13年に設立された。また、附属病院内の医療事故防止や対策にも中心的な役割を担っている。平成16年には病院長を部長とし、改組がなされた。

プロトコル作成に関する助言ならびに治験審査委員会前のブレ・レビュー：科学的・倫理的に妥当な臨床研究を行うためには適切なプロトコルを作成することが不可欠である。そのため、医療安全管理部では研究のデザインや解析方法などに関する助言を随時行っており、治験審査委員会前にプロトコルの提出を責任医師に要請し、改善点や改良点について助言している。また、臨床研究に関して施設の内外を問わず相談に応じている。

トランスレーショナルリサーチ・コーディネーター (TRC)・クリニカルリサーチ・コーディネーター (CRC) 活動：臨床試験施行時にコーディネーターの関与は潤滑な運営と被験者との関わりのうえで不可欠である。トランスレーショナルリサーチでは被験者の理解と倫理面に充分配慮しなくてはならない。そのため看護師、薬剤師、臨床心理士、栄養士、検査技師よりなるTRCを組織しているが、TRCの責任者である薬剤部長とともにこの活動を支援している。また、CRCが医療安全管理部に配属されており、製薬会社からの治験や医師主導の臨床研究に参加し、GCPに沿った試験を支援している。

院内臨床研究の支援・監視：臨床研究の質と遂行の妥当性を保証するために、毎週開催されるTRC会議で問題点を検証・検討している。臨床研究終了時にはモニタリングを行っている。

医療事故対策：医療事故防止・対策のために職員に「医療上の問題報告書」によりインシデント・アクシデント報告を求め、これらの事象の検討や対策を講じる他、講習会の開催やマニュアル・手順の見直しを行っている。必要に応じて医療事故緊急対策会議を開催し、速やかな対応を行っている。

Department of Clinical Trial Safety Management (DCTSM) was established in 2001. The aims of DCTSM are: to support and to watch that clinical trials in Research Hospital, especially in the case of translational research (TR), should be conducted appropriately; to prevent and to treat medical accidents. DCTSM was reorganized in 2004, and the director of the Research Hospital was designated as the director of the division.

Advices and pre-review on protocols of clinical studies including translational researches: Appropriate protocol is indispensable for carrying out the clinical trials with scientific and ethical appropriateness. For the researchers help, we advise on the study designs and protocols as needed. We ask principle investigators to submit the protocol so as to give advices and to point out the safety concerns before submitting to the Institutional Review Board. Our tasks on advices for clinical studies are opened not only for the Research Hospital, but also for other institutes.

Activities of Translational Research Coordinator (TRC) and Clinical Research Coordinator (CRC): The activities of research coordinators are important to conduct studies smoothly and to manage the relationship with participants. In TR, sufficient concerns on the rights and the understandings of participants themselves should be paid compared with other clinical researches. TRCs have been organized to solve the problem described above, and they consist of nurse, pharmacist, psychologist, dietician and clinical laboratory technologist. DCTSM collaborates with the chief of TRC, director of pharmacy, on the activities of TRC. Exclusive CRC belongs DCTSM and takes part in clinical trials from pharmaceutical companies and medical doctor initiative studies to maintain GCP requirements

Support and monitor of clinical studies in the Research Hospital: To check the process of the study, procedures, and examination and reports on Adverse Events is essential for clinical studies to guarantee the qualities and ethics of studies. We hold TRC meeting weekly to discuss and to dissolve the problems of studies. We perform the monitoring after the completion of study, and report to Director of the Research Hospital and principal investigators.

Prevention and management of medical accidents: We ask staffs of the Research Hospital to submit "Reports on medical problems" on medical incidents and accidents to analyze and to manage them. We hold the instructive opportunities on medical accidents two times a year for the enlightenments of staffs. At medical accidents and according to the needs, "medical accident-response meeting" are held for the management.

部長(併) 理学修士 清水 哲 男

Professor: Tetsuo Shimizu, M. Sc.

(1) 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こんでいます。また、新病院棟の運用開始にあわせて、バーコード付きリストバンドによる患者さん認証システムを導入し、注射輸血実施入力システムの24時間稼働とあわせて、より安全で効率的な医療情報システムの構築を目指して活動しています。

(2) 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。

(3) データウェア・ハウス・システムの開発

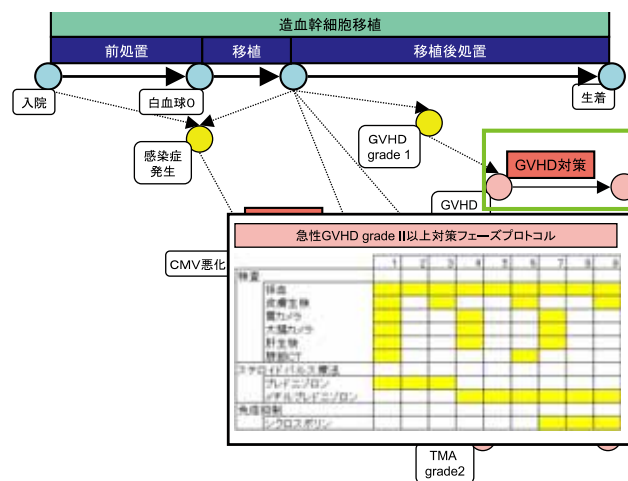
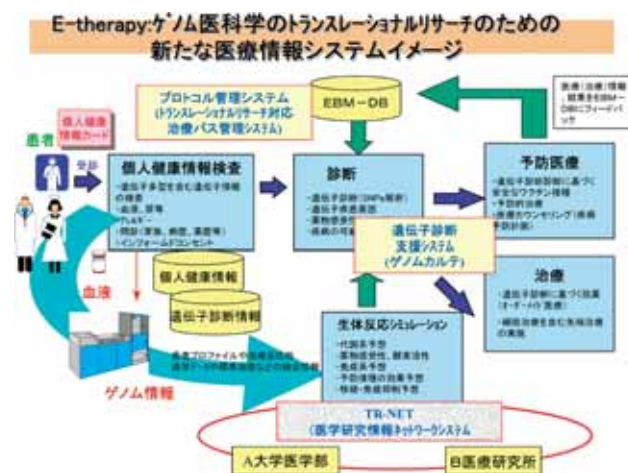
今後医科研附属病院で進展すると予想されるトランスレーショナル・リサーチにおける医療安全の確保のためには、EMB(Evidence Based Medicine: 科学的根拠に基づく医療)の考えかたが不可欠です。医療情報部では、現在のオーダリング・システムに付加する形で、データウェア・ハウス・システムを開発する予定です。この中で、いわゆる5W1H型の時系列医療データベースを蓄積研究し、それらを電子カルテ化の基礎情報とするとともに、いわゆるデータ・マイニングに手法によって、多くの医療行為に含まれるルールや経験法則を抽出し、患者さんのために最適な形の医療業務が行えるよう、医療安全管理と医療業務の改善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。

(4) 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が医学に与えるであろう影響を評価しつつ、未来の医療情報システムが医科学研究所附属病院にとってどうあるべきかを研究しています。

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

- Operation, Maintenance, and Improvement of Ordering System,
- Development of Web based Information sharing System of the Hospital,
- Development of Datawarehouse System for Evidence Based Medicine, and
- Research of Genome based Future Hospital Information System.



教授 医学博士 東 條 有 伸
 講師 医学博士 長 村 登 紀 子

Professor: Arinobu Tojo M. D., D. M. Sc.
 Lecturer: Tokiko Nagamura Inoue, M. D., D. M. Sc.

当輸血部は病院内の輸血オーダー・製剤管理から輸血関連検査といった輸血関連業務にあたっている。2004年から院内IT化に伴い輸血オーダーリングシステムが導入され、輸血事故の防止に努めている。一方こうした日常業務に加えて当部門は研究所病院としての性格から、骨髄・末梢血幹細胞移植、臍帯血移植に代表される造血幹細胞移植、先端医療としての種々の免疫療法、遺伝子治療をサポートする責務を有している。現在の細胞治療は免疫学、ゲノムの解析や分子病態の解明といった基礎的研究から展開されるTranslational Research (TR)の中で重要な部分を占める。このTRが進められていく中で、ヒト由来の細胞の取り扱いについて国内外の規制体系もまた整備されつつある。当部門は特に細胞治療を安全で効果的に進めていく上でドナーや患者からの細胞採取・保存、培養、輸注または移植までの臨床研究の一連の流れをcGMPの概念に沿って再整備を進めている。2006年4月輸血部は臨床C棟に移転し、輸血部内新設クリーンルームにて日常の輸血製剤の処理や移植用細胞処理が可能になった。

一方研究分野においては 血液悪性疾患の治療成績の向上を目指して、1)再発抑制のためのEffector T細胞の増幅、2)移植後の移植片対宿主病 (GVHD)の予防・治療のための制御性T細胞の増幅および免疫解析、3)造血幹細胞移植の生着に影響する因子の解析等の基礎研究を進めている。さらに2006年度より東京臍帯血バンク 細胞処理保存施設 細胞プロセッシング研究部門、幹細胞プロセッシング研究部、分子療法部と共同で臍帯血または臍帯由来細胞からの再生医療用プロセスの検討を開始している。

なお TR細胞治療の推進を目的として1997年より臨床研究A棟に臨床細胞工学室 (Room for Clinical Cellular Technology: RCCT) が設置され、臨床細胞工学室運営委員会のもと当輸血部は現行プロジェクトの研究部門とともにその運営に当たっている。RCCTはクリーン・ルームと、遺伝子導入細胞を取り扱う臨床用P3ルームを備えている。2006年度現在、ここでは東京臍帯血バンク バンキングのための細胞処理、解凍臍帯血の洗浄処理、骨髄間葉系細胞からの歯槽骨再生のプロジェクトが使用している。このユニットは各診療科の先端医療、細胞治療のコアとされており、当輸血部はこうした治療の中継点となっている。

Our department manages the transfusion medicine in the hospital including transfusion related examinations. From 2004, transfusion ordering IT system is for the protection of transfusion accident. In addition, this department is responsible for the supportive function of hematopoietic stem cell transplantation including bone marrow, peripheral blood and cord blood and also various immunotherapy and gene therapy as advanced medicine. Recently the cell processing is an important part of translational research (TR) developed from basic medicine such as immunology, genomic analysis and molecular pathogenesis research. The human derived cells processing has been developing under the domestic and international regulations. We are encouraged to follow the principle of cGMP for the cell collection from donor/patient, cryopreservation, culture and transfusion/transplantation. In 2006 April, we moved to the new room with clean room in Building C of the clinic, where it has become possible to do the ordinary blood and cell products processes in our department.

In the recent researches, to improve the results of hematopoietic stem cell transplantation, we study 1) expansion of effector T cells against leukemic cells, 2) expansion of regulatory T cells to prevent and/or treat GVHD and 3) the factors influenced on the engraftment. In addition, we started the regenerative study of the mesenchymal cells derived from umbilical cord blood and cord, collaborated with Division of Cell Processing, Department of stem cell processing and Department of molecular cell therapy.

For the purpose to implement the advanced projects, Room for Clinical Cellular Technology (RCCT) has been established in Clinical since 1997. RCCT projects in 2006 include 1) Cord blood cell processing for banking, 2) thawed cord blood cell washing and 3) Regenerative therapy of osteoblastic cell derived from bone marrow mesenchymal cells (by Division of Stem Cell Engineering (Tooth regeneration)). Our department is the relay point to implement these advanced cell therapy.

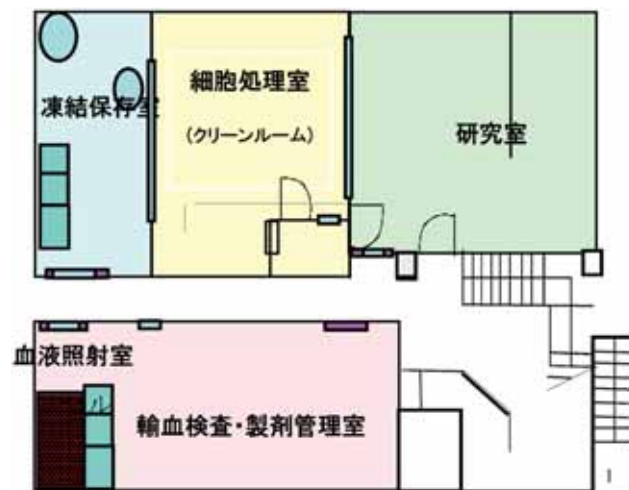


図1 新セルプロセッシング・輸血部 見取り図

従来の中央材料部の業務は、⁽¹⁾医療材料の保管・管理・払い出し、および⁽²⁾医療材料の洗浄・消毒・滅菌の2本立てであったが、平成16年2月への新病院棟2Fへの移動に伴い⁽¹⁾の業務はSPDに移管され、現在は⁽²⁾の業務が遂行されている。現在の人員は部長および師長（いずれも手術部との兼務）以下の3人の委託職員であり、設備としてはウォッシャー・ディスインフェクター2台、オートクレーブ2台、プラズマ滅菌器1台、ホルマリンガス滅菌器1台を有する。主業務として病棟・外来・手術室で使用する硬性小物（手術器具など）やその他の医療材料（エアウェイや呼吸器回路など）の洗浄・消毒・滅菌を施行しており、また、それに付随する物流管理業務（物品定数管理、品質管理、期限切れチェック、部署定数保管庫の点検、物品管理状態の用度課への定期的報告）も遂行している。

Major roles of Department of Medical Supply is to sterilize and supply a variety of medical appliance such as surgical instruments, medical tubing, and circuits for ventilators, which are used in operating rooms, surgical as well as medical wards and outpatient clinics. Sterilization is conducted by 3 staffs under guidance of a department director and a head nurse, using several sterilizers including washer disinfectors, autoclaves, a plasma sterilizer and a formalin gas sterilizer. Our roles also include supply and quality control of the medical appliance.

助教授

医学博士 小柳津 直 樹

Associate Professor: Naoki Oyaizu, M. D., D. M. Sc.

当検査部は生理、血液、生化学・血清、細菌、遺伝子解析、病理の7部門より構成され附属病院より提出される臨床検体の検査解析、診断にあたっている。また分子標的薬の開発とその臨床導入、各種免疫病態・感染症病態解析のため新たに一昨年分子解析室を、また昨年にはフローサイトメトリー室を立ち上げこれらの検査解析要請に対応する態勢を整えその稼働を開始している。このような日常業務に加え医科研附属病院が探索型臨床研究の拠点に指定されたのを期に検査部全体を探索医療対応型に大きく進化・変換させる一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。

Our department consists of seven subdivisions of clinical physiology, hematology, biochemistry, bacteriology molecular diagnosis and pathology, and engages in laboratory analysis and diagnosis of clinical material submitted from the research hospital. This year, we newly developed a new subdivision; a division of flow cytometrical analysis. Along with the ongoing practice of translational research projects in the research hospital, we are now performing the extensive analysis to evaluate the effectiveness of these experimental approaches and developing molecular based surrogate markers to set appropriate endpoints. Our goal is to evolve into function as an integrated diagnosis & monitoring laboratory thereby promoting and contributing to the translational research at IMSUT.

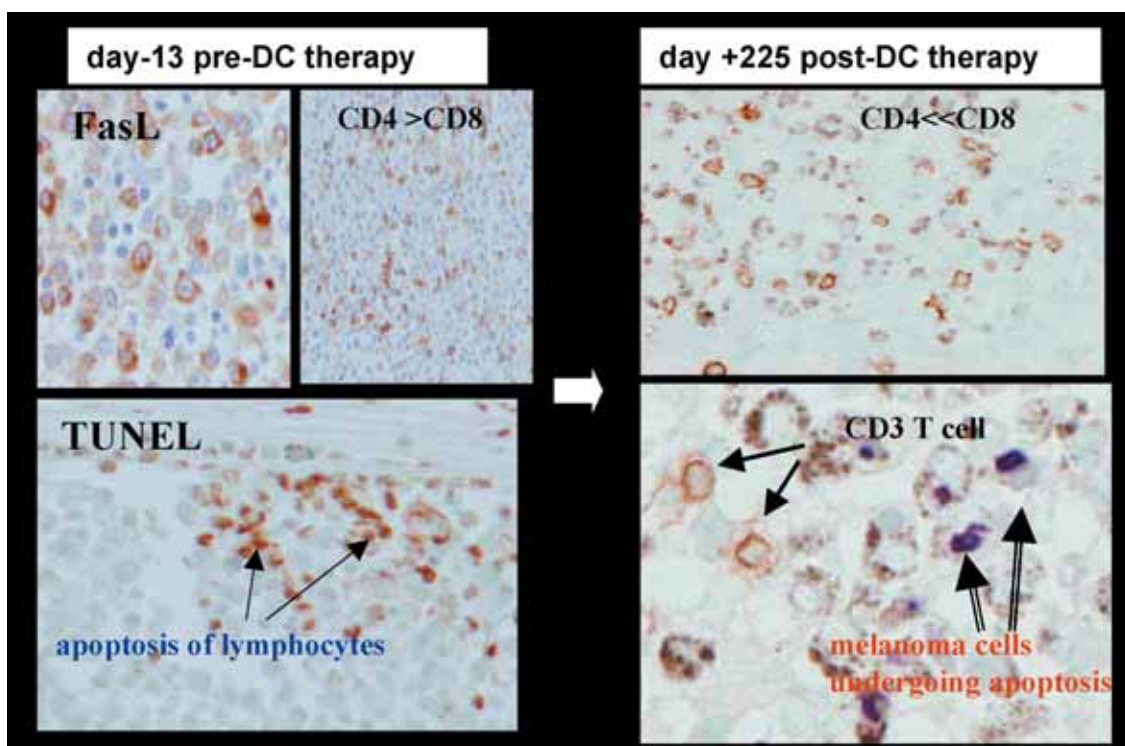


図 1

メラノーマ樹状細胞療法治療前(左)、後(右)の変化を示す。治療前の腫瘍浸潤リンパ球はCD4 T細胞優位でありかつメラノーマ細胞に発現しているFasLによりリンパ球自らがアポトーシスに陥っているのが示唆される。これに対し、治療後はCD8 T細胞優位に転換し、逆に腫瘍細胞にアポトーシスが誘導されている。

教育活動 EDUCATION

東京大学医科学研究所は、大学院制度を中心にした研究者の養成機関としても大きな実績をもち、医科学分野の研究者を目指す若い人々に理想的な教育環境を提供している。各研究分野の教員は医学系、理学系、農学生命科学、薬学系、情報理工学系、新領域創成科学、総合文化研究科のいずれかの教員として、大学院学生を受け入れている。特に「学融合」を追求して東京大学大学院に新設された新領域創成科学研究科のうち、メディカルゲノム専攻は、医科学研究所が協力することにより平成16年度に発足したものである。同専攻の3基幹講座は白金台キャンパスにも研究室を持ち、医科学研究所との強い連携のもとで領域横断的な教育・研究を展開している。教育機関としての特徴は、研究者を目指す大学院学生が中心であり、教員は学生に対する講義や実習の義務が少なく、研究室で若手の育成に専念できることにある。また、学生も教員も、多様な学問的背景と興味をもつ人々が、研究室の垣根を越えて盛んに交流していることも、大きな特色であろう。これらの人的条件と、優れた研究環境とを活かして、以下に述べるような特色ある教育制度も機能している。

医科学研究所独自の教育コースとして制度化されているものとしては、大学院実習、大学院セミナーなどがある。

大学院実習とは、各研究室が所内他研究室のごく少数（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。

また新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻の講義は医科学研究所内でも聴講できる仕組みができています。

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。

その他に頻繁に開かれる学友会セミナーやインフォーマルなセミナーで、国内外の研究者から直接研究の進展を学ぶことができる。

図書室は24時間体制でほぼいつでも利用貸出できる。コンピュータによる文献検索システムも整備している。

The Institute of Medical Science, The University of Tokyo (IMSUT), is prominent as an institution for graduate education. It provides an ideal environment for young people interested in following a career in scientific research. Drawing upon diverse backgrounds in medicine, physics, chemistry agricultural biology, pharmacology, and informatics, the faculties of the various divisions teach a wide range of courses to a similarly diverse cross-section of elite graduate students. Putting this strength to good use, the University of Tokyo has now established the new Department of Medical Genome Sciences, to pursue interdisciplinary studies within the Graduate School of Frontier Sciences. Through IMSUT's strenuous efforts, this program was launched in fiscal year 2004, with the Shirokanedai campus housing many participating laboratories as well as three of the six courses that make up the program's core curriculum. Thus, with IMSUT's strong cooperation, cross-discipline education and research is expanding. The professors and staff members do not have heavy teaching obligations, and can thus concentrate on guiding students in their laboratory research. The departments and divisions frequently collaborate and interact closely with each other.

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

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

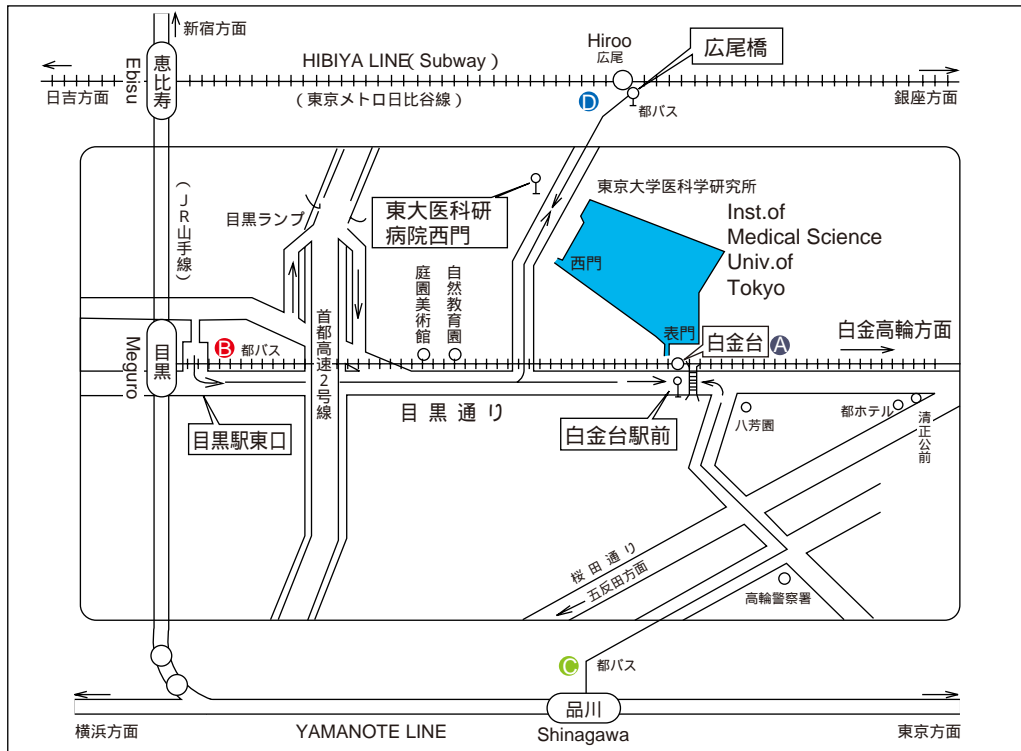
The graduate seminar series is a 6-month long seminar series by speakers invited from all over the country. The graduate students are involved in choosing the series theme.

IMSUT has excellent computer facilities. Courses in genome informatics are held frequently to train beginners. There are many computer experts in the Human Genome Center as well as in other departments.

The students learn about the most recent developments from distinguished research leaders—both domestic and foreign—in frequent IMS (Gakuyukai) seminars and other informal seminars.

Reflecting the ambition and dedication of our faculty and students, the library is open 24 hours per day and has a computerized literature search system.

案内図 LOCATION AND TRANSPORTATION



交通機関

- A 東京メトロ南北線・都営地下鉄三田線白金台駅2番出口下車，徒歩3分
- B JR山手線目黒駅東口から都バス⑩東京駅南口行または⑨③大井競馬場行で，白金台駅前下車。あるいは，都バス⑦千駄ヶ谷行または⑧⑥新橋駅前行で，東大医科研病院西門下車。
- C JR品川駅から都バス⑨③目黒行で，白金台駅前下車。
- D 東京メトロ日比谷線広尾駅そばの都バス広尾橋から⑦⑧⑥目黒駅行で，東大医科研病院西門下車。

住所
〒108 8639 東京都港区白金台4 6 1
Address
4-6-1, Shirokanedai Minato-ku ,Tokyo 108-8639

平成18年7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)



昭和初期の伝染病研究所（医科学研究所前身）