

国立大学法人 大阪大学

微生物病研究所



2010

目次	Contents	
沿革と概要	History & Outline	1
機構	Organization	2
歴代所長／歴代教授	Former Directors & Professors	3
役職員等	Department Heads	4
構成員	Faculty & Students	5
研究活動の概要	Research & Activities	
感染機構研究部門		6
生体防御研究部門		14
環境応答研究部門		24
難治感染症対策研究センター		30
遺伝情報実験センター		34
感染症国際研究センター		40
感染症学免疫学融合プログラム推進室		49
Office of Combined Program on Microbiology and immunology		
日本・タイ感染症共同研究センター		51
Thailand-Japan Research Collaboration Center on Emerging and Re-emerging Infections		
寄附研究部門	Endowed Chair	54
グローバルCOEプログラム	Global COE Program	56
附属研究施設／共通研究施設	Research Facilities	60
免疫学フロンティア研究センター	Immunology Frontier Research Center	66
決算／敷地／建物	Accounts & Building Area	68
案内図	Map & Access	70

昭和4年(1929)当時の大阪医科大学(昭和6年大阪帝国大学に移管)学長楠本長三郎と細菌血清学教授谷口隴二は、大阪、神戸がコレラ・ペストなどの外来伝染病の侵入門戸となりつつあったことと、大正12年の関東大震災の教訓から、関西、特に大阪に微生物病に関する総合的研究機関を設立する必要性を説き、当時の大阪府知事柴田善三郎や大阪財界に協力を要請した。山口玄洞氏は、この要請に応じて20万円を寄付し、これにより昭和9年(1934)2月、大阪市北区堂島西町3番地に研究所本館が竣工した。堂島キャンパスには、既に竹尾結核研究所(竹尾治右衛門氏の寄付)と大阪特殊皮膚病研究所(篤志家の寄付)があり、活発な研究活動を行っていたが、これら2機関を併せて、昭和9年(1934)9月17日勅令270号により、大阪帝国大学附置の微生物病研究所官制が公布され、本研究所が発足するに至った。

その後30余年を経て、研究部門、施設の増加に伴い堂島地区は次第に狭隘となった。また新しい研究活動に対応し得る研究室と諸施設の整備充実のため、大阪大学の吹田キャンパス統合計画の第一陣として、昭和42年(1967)現在地に移転した。

平成5年(1993)8月医学部附属病院の吹田キャンパスへの移転を機に、癌の治療、研究などで多くの実績をあげてきた本研究所附属病院は医学部附属病院と統合、合併し、60年にわたる輝かしい歴史の幕を閉じた。本研究所では、これを契機として、微生物病、がん及び特定の難治疾患に関する学理及びその応用研究の一層の発展を図り、21世紀を展望した新しい研究体制を確立すべく、平成6年(1994)従来の部門制を転換し、大部門制への改組を行った。平成17年(2005)には感染機構、生体防御、環境応答の3部門(15分野)に再編成するとともに、難治性感染症克服のために難治感染症対策研究センター(3分野)と感染症国際研究センター(2部門1室)を新設。また、ゲノム情報解析の研究開発を推進する遺伝情報実験センター(3分野)を学内共同教育研究施設から本研究所附属施設として統合、さらに、新興・再興感染症制圧に向けた国際研究拠点「日本・タイ感染症共同研究センター」をタイ国立予防衛生研究所内に設置した。平成21年(2009)6月には、文部科学大臣から共同利用・共同研究拠点として認定を受け、平成22年(2010)4月から活動を開始。さらに、遺伝子資源の確保と知的所有権の確保を目的とした「生体応答遺伝子解析センター」を新設した。

本研究所は、創立以来感染症の基礎的研究ならびにその制圧について研究を進め、新たな病原菌や病原ウイルスの発見、発病のメカニズムの解明、ワクチンや診断剤の開発など、我が国の感染症及び免疫学分野で多大

の貢献を行って来た。また、がん研究の分野においても昭和11年(1936)にラジウムを使用した研究を開始するなど、他の機関に先駆けてがんの早期発見と治療法の開発に努力するとともに、がん発生のメカニズムの研究を推進した。この面においても、世界に先駆けた培養細胞のがんの成功、がん遺伝子やがんウイルスの発見など多くの成果をあげ、がん研究の発展に大きく貢献した。また、難治性遺伝子疾患の研究においても一部原因遺伝子の単離とその機能解析など優れた研究が進展中である。一方、本研究所で最初に発見された細胞融合現象は体細胞遺伝学の発展や単クローン抗体の開発などに貢献し、現代の生命科学の基礎を築いた。

なお、本研究所では全教員が本学大学院医学系研究科(一部は理学研究科、薬学研究科・生命機能研究科も)博士課程ならびに修士課程の教育を担当すると共に人材の育成にあたっている。



微生物病研究所設立由来銅板額
(本館玄関ホール)

山口玄洞(やまぐちげんどう)

1863年医師の長男として尾道で生まれる。15歳で大阪に出て、努力の末関西を代表する実業家となる。大正6年には事業から手を引き、自宅で茶道と信仰の生活に入る。自らの財産を公共事業や社寺への寄進という形で社会還元。

所長 Director

教授会 Faculty Meeting

代議員会 Delegate Assembly

研究部門 Research Division

感染機構研究部門	Division of Infectious Diseases
分子細菌学分野	Department of Molecular Bacteriology
ウイルス感染制御分野	Department of Viral Infections
分子ウイルス分野	Department of Molecular Virology
薬物療法分野	Department of Pharmacotherapy
感染病態分野	Department of Pathology
生体防御研究部門	Division of Host Defense
分子免疫制御分野	Department of Molecular Immunology
免疫不全疾患研究分野	Department of Immunoregulation
自然免疫学分野	Department of Host Defense
細胞機能分野	Department of Cell Biology
免疫化学分野	Department of Immunochemistry
環境応答研究部門	Division of Cellular and Molecular Biology
遺伝子生物学分野	Department of Molecular Microbiology
分子遺伝研究分野	Department of Molecular Genetics
発癌制御研究分野	Department of Oncogene Research
情報伝達分野	Department of Signal Transduction
細胞制御分野	Department of Cellular Regulation

附属施設 Special Research Facilities

難治感染症対策研究センター	Research Center for Infectious Disease Control
細菌感染分野	Department of Bacterial Infections
分子原虫学分野	Department of Molecular Protozoology
ウイルス免疫分野	Department of Virology
遺伝情報実験センター	Genome Information Research Center
遺伝子機能解析分野	Department of Experimental Metagenome Research
ゲノム情報解析分野	Department of Genome Informatics
感染症メタゲノム研究分野	Department of Infection Metagenomics
感染症国際研究センター	International Research Center for Infectious Diseases
高病原性感染症研究部門	Department of Special Pathogens
感染制御部門	Department of Infectious Disease Control
病原微生物資源室	Pathogenic Microbes Repository Unit
感染動物実験施設	Animal Resource Center for Infectious Diseases
感染症DNAチップ開発センター	DNA-chip Development Center for Infectious Diseases
生体応答遺伝子解析センター	Center for Genetic Analysis of Biological Responses

感染症学免疫学融合プログラム推進室 Office of Combined Program on Microbiology and immunology

研究推進グループ	Research Promotion Group
教育推進グループ	Education Promotion Group

海外研究拠点 Research Collaboration Center in Overseas

日本・タイ感染症共同研究センター	Thailand-Japan Research Collaboration Center on Emerging and Re-emerging Infections
細菌感染部門	Section of Bacterial Infections
ウイルス感染部門	Section of Viral Infections

寄附研究部門 Endowed Chair

分子生物学(ライフテクノロジーズ)寄附研究部門	Laboratory of Molecular Biology (Life Technologies Co.- Endowed Chair)
-------------------------	--

共通施設 Common Research Facilities

中央実験室	Central Instrumentation Laboratory
放射性同位元素実験室	Radioisotope Laboratory
感染症共同実験室	Central Laboratory for Biological Hazardous Microbes
図書室	Library

事務部 Administration

庶務係	General Affairs Section
会計係	Accounting Section
研究協力係	Research Cooperation Section

関連施設 Related Institution

世界トップレベル拠点	World Premier International Research Center
免疫学フロンティア研究センター	Immunology Frontier Research Center

歴代所長 Former Directors

初代	古武 弥四郎	(昭和9年9月～昭和15年6月)	Yashiro Kotake, M.D., Professor	1934.9-1940. 6
2代	今村 荒男	(昭和15年8月～昭和18年7月)	Arao Imamura, M.D., Professor	1940.8-1943. 7
3代	谷口 腆二	(昭和18年7月～昭和30年3月)	Tenji Taniguchi, M.D., Professor	1943.7-1955. 3
4代	藤野 恒三郎	(昭和30年4月～昭和33年3月)	Tsunesaburo Fujino, M.D., Professor	1955.4-1958. 3
5代	釜洞 醇太郎	(昭和33年4月～昭和39年3月)	Juntaro Kamahora, M.D., Professor	1958.4-1964. 3
6代	天野 恒久	(昭和39年4月～昭和43年3月)	Tsunehisa Amano, M.D., Professor	1964.4-1968. 3
7代	奥野 良臣	(昭和43年4月～昭和47年3月)	Yoshiomi Okuno, M.D., Professor	1968.4-1972. 3
8代	堀 三津夫	(昭和47年4月～昭和51年3月)	Mitsuo Hori, M.D., Professor	1972.4-1976. 3
9代	川俣 順一	(昭和51年4月～昭和55年3月)	Junichi Kawamata, M.D., Professor	1976.4-1980. 3
10代	加藤 四郎	(昭和55年4月～昭和59年3月)	Shiro Kato, M.D., Professor	1980.4-1984. 3
11代	高橋 理明	(昭和59年4月～昭和61年3月)	Michiaki Takahashi, M.D., Professor	1984.4-1986. 3
12代	三輪谷 俊夫	(昭和61年4月～昭和63年3月)	Toshio Miwatani, M.D., Professor	1986.4-1988. 3
13代	角永 武夫	(昭和63年4月～昭和63年9月)	Takeo Kakunaga, D.Pharm., Professor	1988.4-1988. 9
14代	藤尾 啓	(昭和63年11月～平成2年10月)	Hajime Fujio, M.D., Professor	1988.11-1990.10
15代	豊島 久真男	(平成2年11月～平成5年10月)	Kumao Toyoshima, M.D., Professor	1990.11-1993.10
16代	羽倉 明	(平成5年10月～平成9年10月)	Akira Hakura, D.Sc., Professor	1993.10-1997.10
17代	西宗 義武	(平成9年10月～平成13年10月)	Yoshitake Nishimune, M.D., Professor	1997.10-2001.10
18代	本田 武司	(平成13年10月～平成15年10月)	Takeji Honda, M.D., Professor	2001.10-2003.10
19代	木下 タロウ	(平成15年10月～平成19年10月)	Taroh Kinoshita, D.Med.Sc., Professor	2003.10-2007.10
20代	菊谷 仁	(平成19年10月～)	Hitoshi Kikutani, M.D., Professor	2007.10-

歴代教授 Former Professors

医学博士	古武 弥四郎	所長	医学博士	中林 敏夫	原虫学部門
医学博士	吉田 貞雄	寄生虫学	医学博士	山之内 孝尚	感染動物実験施設
医学博士	今村 荒男	所長	医学博士	三輪谷 俊夫	細菌血清学部門
医学博士	佐谷 有吉	癩治療研究部	医学博士	高橋 理明	麻疹部門
医学博士	谷口 腆二	所長	医学博士	藤尾 啓	免疫化学部門
医学博士	世良 好太	細菌化学部	医学博士	田口 鐵男	臨床部門
医学博士	政山 龍徳	癌治療学部門	理学博士	松代 愛三	細菌ウイルス部門
医学博士	大谷 象平	細菌化学部	理学博士	中田 篤男	化学療法部門
医学博士	関悌 四郎	防疫学部門	医学博士	岡山 博人	分子遺伝研究分野
医学博士	須田 正巳	細菌化学部	医学博士	豊島 久真男	発癌遺伝子部門
医学博士	森下 薫	寄生虫原虫学部門	医学博士	木谷 照夫	臨床部門
医学博士	山口 寿	臨床部門	医学博士	高井 新一郎	臨床部門
医学博士	藤野 恒三郎	細菌血清学部門	医学博士	松田 守弘	細菌毒素学分野
医学博士	伊藤 政一	第一結核研究科	医学博士	栗村 敬	ウイルス感染制御分野
医学博士	釜洞 醇太郎	腫瘍ウイルス部門	医学博士	山西 弘一	ウイルス免疫分野
医学博士	西村 眞二	癩部門	理学博士	羽倉 明	癌抑制遺伝子研究分野(兼 腫瘍ウイルス分野)
医学博士	加藤 允彦	結核病理学部門	理学博士	秋山 徹	発癌制御研究分野
医学博士	米田 政彦	抗酸菌生理学部門	医学博士	倉田 毅	エマージング感染症研究センター
医学博士	芝 茂	臨床部門	医学博士	上田 重晴	神経ウイルス分野
医学博士	猪木 正三	寄生虫原虫学部門	医学博士	島田 和典	遺伝子疾患研究分野
医学博士	堀 三津夫	結核病理学部門	医学博士	笹川 千尋	細菌毒素学分野
医学博士	奥野 良臣	麻疹部門	理学博士	杉野 明雄	遺伝子複製研究分野
医学博士	石上 重行	臨床部門	医学博士	清野 宏	免疫化学分野
医学博士	天野 恒久	免疫化学部門	医学士	西宗 義武	感染動物実験施設
医学博士	川俣 順一	化学療法部門	医学博士	仲野 徹	遺伝子動態研究分野
医学博士	岡田 善雄	動物ウイルス部門	理学博士	品川 日出夫	遺伝子生物学分野
理学博士	鳥居 光雄	免疫化学部門	理学博士	田村 慎一	ウイルス感染予防寄附研究部門
医学博士	深井 孝之助	防疫学部門	医学博士	松田 道行	情報伝達分野
医学博士	森 龍男	結核病理学部門	医学博士	本田 武司	細菌感染分野
医学博士	伊藤 利根太郎	癩部門	医学博士	谷口 直之	疾患糖鎖学(生化学工業)寄附研究部門
薬学博士	角永 武夫	発癌遺伝子部門	医学博士	吉森 保	細胞制御分野
医学博士	加藤 四郎	感染病理学部門	医学博士	田邊 和祐	感染症国際研究センター

役職員等 *Department Heads*

平成22年4月1日現在

所長 副所長	教授 教授	医学博士 医学博士	菊谷 仁 目加田 英輔
感染機構研究部門 分子細菌学分野 ウイルス感染制御分野 分子ウイルス分野 薬物療法分野 感染病態分野 生体防御研究部門 分子免疫制御分野 免疫不全疾患研究分野 自然免疫学分野 細胞機能分野 免疫化学分野 環境応答研究部門 遺伝子生物学分野 分子遺伝研究分野 発癌制御研究分野 情報伝達分野 細胞制御分野	教授 教授 教授 教授 教授 教授 教授 教授 教授 教授 教授	農学博士 医学博士 獣医学博士 医学博士 医学博士 医学博士 医学博士 医学博士 理学博士 理学博士 医学博士	堀口 安彦 塩田 達雄 松浦 善治 熊ノ郷 淳 菊谷 仁 木下 タロウ 審良 静男 目加田 英輔 荒瀬 尚 野島 博 岡田 雅人 高倉 伸幸
難治感染症対策研究センター 細菌感染分野 分子原虫学分野 ウイルス免疫分野 遺伝情報実験センター 遺伝子機能解析分野 ゲノム情報解析分野 感染症メタゲノム研究分野 感染症国際研究センター 高病原性感染症研究部門 臨床感染症学研究グループ 感染細胞生物学研究グループ ウイルス研究グループ 感染制御部門 ゲノム病原細菌学研究グループ マラリア学研究グループ 感染症学・免疫学融合研究グループ 感染動物実験施設 感染症DNAチップ開発センター 生体応答遺伝子解析センター	センター長・教授 教授 教授 センター長・教授 教授 教授 センター長・教授 特任教授 特任准教授 特任准教授 特任教授 特任准教授 施設長・教授 センター長・教授 センター長・教授	理学博士 理学博士 医学博士 理学博士 薬学博士 理学博士 理学博士 医学博士 医学博士 理学博士 医学博士 理学博士 薬学博士 理学博士 薬学博士	堀井 俊宏 堀井 俊宏 生田 和良 安永 照雄 岡部 勝 安永 照雄 堀井 俊宏 大石 和徳 藤永 由佳子 中屋 隆明 飯田 哲也 永井 宏樹 岡部 勝 野島 博 岡部 勝
感染症学免疫学融合プログラム推進室 研究推進グループ 教育推進グループ	室長・所長 准教授 准教授	医学博士 医学博士 医学博士	菊谷 仁 村上 良子 藤井 穂高
日本・タイ感染症共同研究センター 細菌感染部門 ウイルス感染部門	センター長・特任教授 特任教授 特任教授	歯学博士 歯学博士 医学博士	浜田 茂幸 浜田 茂幸 武田 直和
分子生物学(ライフテクノロジーズ)寄附研究部門	教授	理学博士	今本 文男
中央実験室 放射性同位元素実験室 感染症共同実験室 図書室	室長・教授 室長・教授 室長・教授 室長・教授	理学博士 理学博士 医学博士 医学博士	岡田 雅人 岡田 雅人 塩田 達雄 荒瀬 尚
事務部	事務長		木富 敬一



職員 Staff

平成22年4月1日現在

教授	Professor	12
寄附研究部門教授	Endowed Chair Professor	1
特任教授	SA Professor	5
准教授	Associate Professor	16
寄附研究部門准教授	Endowed Chair Associate Professor	0
特任准教授	SA Associate Professor	4
特任講師	SA Associate Professor	2
助教	Assistant Professor	27
寄附研究部門助教	Endowed Chair Assistant Professor	1
特任助教	SA Assistant Professor	5
教務職員	Educational Support Staff	3
技術職員	Technical Staff	3
事務職員	Administrative Staff	17
特任研究員	SA Researcher	54
研究支援推進員	Research Collaborator	5
事務・技術補佐員	Part-time General & Technical staff	43
計	Total	198

SA : Specially Appointed

大学院学生 Graduate Students

平成22年4月1日現在

		博士課程 Doctor Course	修士課程 Master Course
医学系研究科	Graduate School of Medicine	57	5
理学研究科	Graduate School of Science	4	7
薬学研究科	Graduate School of Pharmaceutical Science	2	6
歯学研究科	Graduate School of Dentistry	0	0
生命機能研究科	Graduate School of Frontier Biosciences	2	7
計	Total	65	25

研究員・研究生 Research Fellows & Research Students

平成22年4月1日現在

特別研究学生	Special research students	1
研究生	Research Students	6
外国人研究者	Visiting Research Scholars	1
日本学術振興会特別研究員(PD)	JSPS Research Fellows	4
計	Total	12

分子細菌学分野

研究グループ

教授 農学博士 堀口 安彦
 助教 医学博士 神谷 重樹
 助教 理学博士 安倍 裕順

助教 バイオサイエンス博士 福井 理
 特任研究員 生活科学博士 戸嶋 ひろ野

当分野では、細菌の病原因子が宿主細胞機能に及ぼす影響を分子レベルで解析している。現在進行中の研究課題は以下の通りである。

(1) 細菌性タンパク毒素の構造と機能の解析

地球上に存在する毒性物質の中で、細菌性タンパク毒素の毒性は圧倒的に高く、またその作用はきわめて細胞・標的分子特異的である。当研究室では、百日咳菌壊死毒、パストレラ毒素、ウエルシュ菌エンテロトキシン、大腸菌細胞壊死因子など種々の細菌毒素を材料に用いて、動物、組織、細胞、分子レベルで細菌性タンパク毒素の作用機構を解析している。また、各毒素の機能ドメイン分布解析および立体構造解析をすすめ、両者の成果を併せて毒素の構造と機能の全体像の理解を目指している。

(2) 百日咳病態の解析

百日咳の原因菌である百日咳菌は、ヒトの上部気道に感染して発作性咳嗽を主症状とする病気を起こす。本菌はヒトのみを宿主とするが、この宿主特異性を決定する宿主側要因や細菌側要因は不明である。また発作性咳嗽の発症メカニズムも明らかにされていない。当研究室では、これらのふたつの疑問の回答を得るため、百日咳菌やその類縁菌を用いた動物感染モデルにおける病態を解析している。

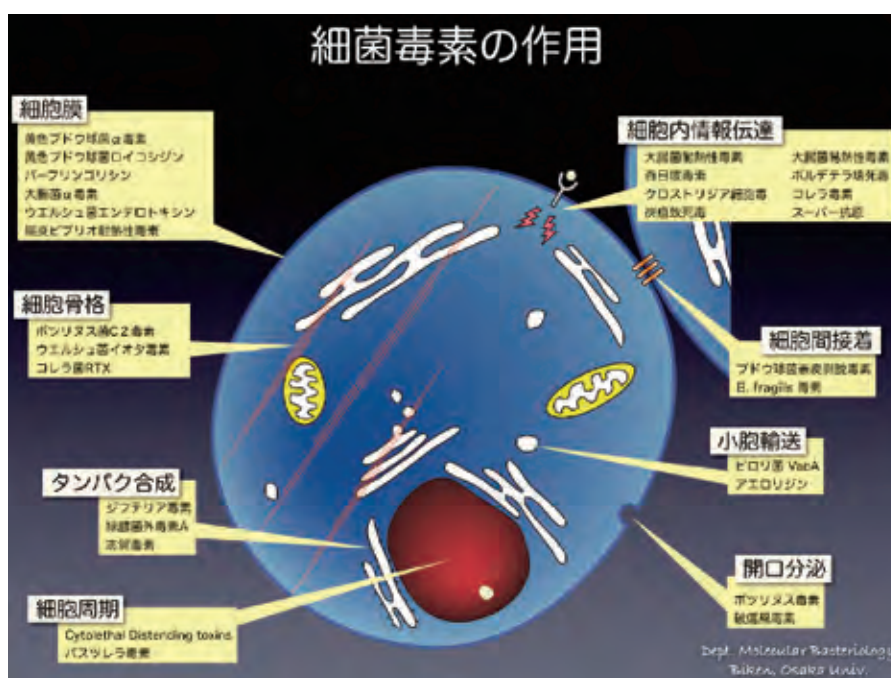


図1: 多彩な細胞機能に影響を及ぼす細菌毒素 細菌毒素の多くは宿主細胞の重要な機能を修飾することによって効率的に作用を發揮する。すなわち細菌毒素の作用機構の解析は細菌感染病態のみならず動物細胞機能の理解にも役立つといえる。

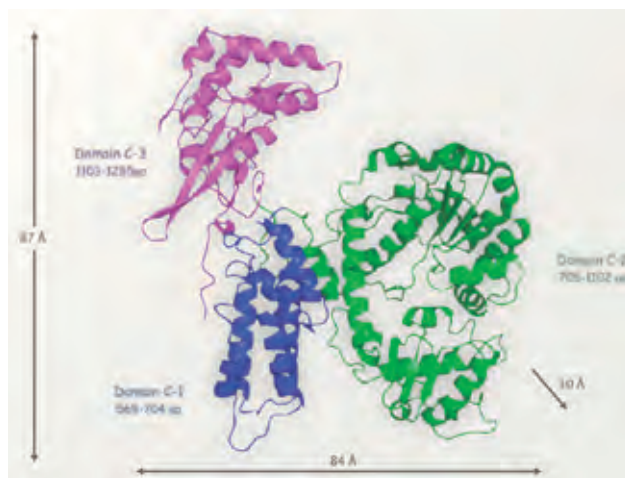


図2:パストレル毒素の細胞内作用領域断片の立体構造

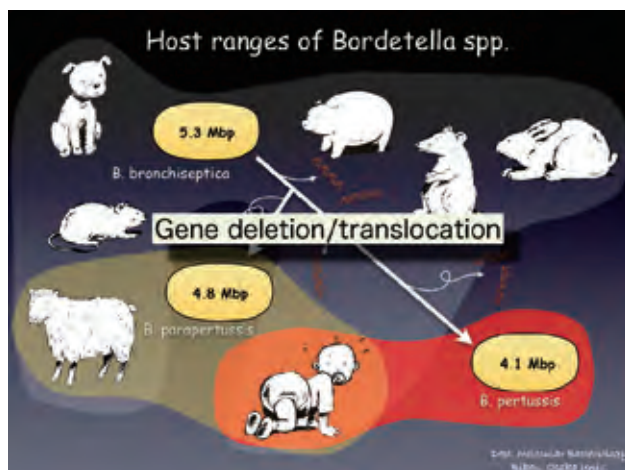


図3:百日咳菌(*Bordetella pertussis*)類縁の気管支敗血症菌(*B. bronchiseptica*)と類百日咳菌(*B. parapertussis*)のゲノムサイズと宿主特異性。5.3 Mbpのゲノムサイズを持つ気管支敗血症菌は多種類の動物を宿主に持ち、遺伝子の転位や欠失でゲノムサイズの小さくなった類百日咳菌や気管支敗血症菌は宿主範囲も狭くなる。

最近の代表的な論文

1. Kimura J, Abe H, Kamitani S, Toshima H, Fukui A, Miyake M, Kamata Y, Sugita-Konishi Y, Yamamoto S, and Horiguchi Y. *Clostridium perfringens* enterotoxin interacts with claudins via electrostatic attraction. J Biol Chem. 2010 Jan 1;285(1):401-8.
2. Miyake M, Sakane S, Kobayashi C, Hanajima-Ozawa M, Fukui A, Kamitani S, and Horiguchi Y. A colorimetric assay for studying effector secretion through the bacterial type III secretion system. FEMS Microbiol Lett. 2008 Jan;278(1):36-42.
3. Ohnishi H, Miyake M, Kamitani S, and Horiguchi Y. FEMS Microbiol Lett. 2008 Feb;279(2):174-9. The morphological changes in cultured cells caused by *Bordetella pertussis* adenylate cyclase toxin. FEMS Microbiol Lett. 2008 Feb;279(2):174-9.
4. Kitadokoro K, Kamitani S, Miyazawa M, Hanajima-Ozawa M, Fukui A, Miyake M, and Horiguchi Y. Crystal structures reveal a thiol protease-like catalytic triad in the C-terminal region of *Pasteurella multocida* toxin. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Mar 20;104(12):5139-44.
5. Hanajima-Ozawa M, Matsuzawa T, Fukui A, Kamitani S, Ohnishi H, Abe A, Horiguchi Y, and Miyake M. Enteropathogenic *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, and *Listeria monocytogenes* recruit a junctional protein, zonula occludens-1, to actin tails and pedestals. Infect Immun. 2007 Feb;75(2):565-73.

ウイルス感染制御分野

研究グループ

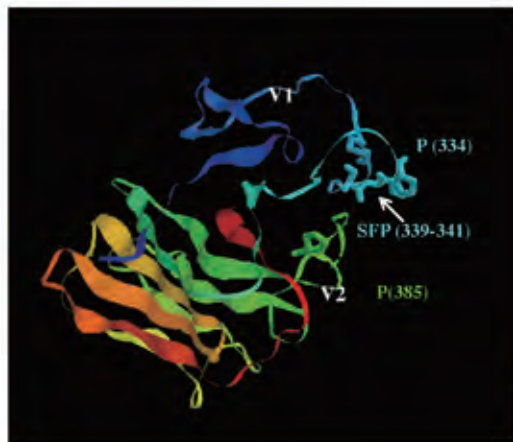
教授 医学博士 塩田 達雄
 助教 医学博士 櫻木 淳一
 助教 医学博士 中山 英美

特任研究員 医学博士 櫻木 小百合
 ポスドク 医学博士 河野 健
 ポスドク 医学博士 黒石 歩

我々はエイズ等のウイルス感染症の病原性発現の分子機構の解明を目標としている。具体的には以下の研究を行っている。

1. 抗HIV因子の研究

HIVはチンパンジー以外にサルや小動物に感染が成立しないため動物モデルが存在せず、詳細な病理学的解析が行えない。サルにおいては、ウイルス感染の初期過程(逆転写)を阻害する因子Cyclophilin AやTRIM5αが存在する。われわれは現在までにTRIM5αの抗ウイルス効果にC末端側のいくつかのアミノ酸が重要であること、一方でウイルスはTRIM5αの標的であるカプシドN末端側の限られたアミノ酸を変異させてTRIM5αによる感染抑制から逃避しており、ウイルスと宿主因子TRIM5αが進化の過程で闘ぎあっていることを示して来た(図1)。また、西アフリカのHIV-2感染者においては、カプシドのわずか1アミノ酸の違いが血中ウイルス量と相関することから、TRIM5αが生体内で実際にウイルス感染制御に寄与していることを明らかにし、ウイルスの配列解析による予後予測を可能にした。さらにサル細胞に感染可能な変異HIV-1株の作成にも成功し、一方でサルゲノム解析により感染に適した個体の選別を可能とした。今後も引き続きサル感染モデル系の確立を目指す一方で、TRIM5αとウイルスカプシドの構造機能解析を行い、新しい抗HIV薬開発への応用を試みる。



TRIM5αのC末端領域(SPRY領域)の三次元構造モデル。ウイルス感染抑制に重要なアミノ酸は、同じ平面上に並ぶ。V1 V2は、種間で変異に富む領域。

TRIM5αの標的であるウイルスカプシドの3次元構造モデル。P、A、あるいはQで示した1アミノ酸の変化によりループの構造が大きく変化する。

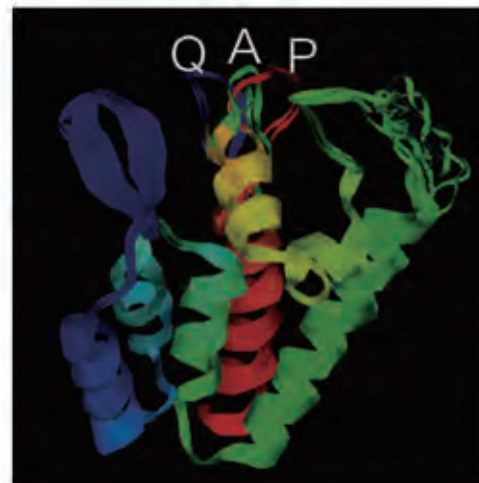


図1:TRIM5α(C末端)とカプシド(N末端)の構造

2. ゲノム疫学研究

我々は疫学的手法で、モデル動物のないエイズの病態を個体レベルで明らかにしようとしている。例えばHIVに暴露されながらも感染を免れた症例や、ウイルスに感染してはいるが、薬物治療を受けずにウイルスの増殖を抑さえこみエイズ発症を免れている症例が少数ではあるが存在する。これらの症例はHIVに対する感染抵抗性因子を持っている可能性がある。これらの症例と通常の感染者ならびに非感染者のゲノム塩基配列を比較し、これまでにHIVのコレセプターCCR5の欠失変異CCR5-893(-)、HIVの細胞への侵入を阻害するケモカインRANTESのプロモーターの多型、コレセプターの発現を調節するIL4のプロモーターの多型を発見し、それらが実際にHIV感染の効率やエイズ病態進行に影響することを報告してきた。

また、抗HIV薬による副作用の出現にも個体差が存在する。感染者の多いタイ国との共同研究で、副作用の少ない薬物投与(テーラーメイド医療)の確立を目指している。これまでに薬疹とHLA-Cとの関係、抗レトロウイルス薬の血中濃度とチトクローム遺伝子との関係を明らかにし、現在は脂質代謝異常や腎機能異常の副作用に関わる多型を探索している。

3. HIVのウイルス粒子形成機構の解析

HIV-1粒子内にはそのゲノムRNAが二量体としてパッケージングされている。二量体化の意義として、ゲノム損傷時の補償や、ゲノム組換えによる遺伝的多様性の獲得を通じてHIV-1の生存に有利に働く可能性が指摘されてきた。我々は、二量体化に必要な十分なゲノム上の領域を世界で初めて明らかにし(図2)、ゲノム二量体化がゲノムパッケージングの必須の一段階であるという可能性を示唆した。また、ゲノム二量体化が細胞への侵入後の初期過程にも影響することを明らかにした。



図2:HIVゲノム二量体化

最近の代表的な論文

1. Nakayama EE, Shioda T. Anti-retroviral activity of TRIM5alpha. Rev Med Virol. 2010 Mar;20(2):77-92.
2. Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, Uttayamakul S, Prosithsirikul W, Tunthanathip P, Nakayama EE, Shioda T. HLA-Cw*04 allele associated with nevirapine-induced rash in HIV-infected Thai patients. AIDS Res Ther. 2009 Oct 21;6:22.
3. Nakajima T, Nakayama EE, Kaur G, Terunuma H, Mimaya JI, Ohtani H, Mehra N, Shioda T, Kimura A. Impact of novel TRIM5alpha variants, Gly110Arg and G176del, on the anti-HIV-1 activity and the susceptibility to HIV-1 infection. AIDS. 2009 Oct 23;23(16):2091-100.
4. Kuroishi A, Saito A, Shingai Y, Shioda T, Nomagushi M, Adachi A, Akari H, Nakayama EE. Modification of a loop sequence between alpha-helices 6 and 7 of virus capsid (CA) protein in a human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) derivative that has simian immunodeficiency virus (SIVmac239) vif and CA alpha-helices 4 and 5 loop improves replication in cynomolgus monkey cells. Retrovirology. 2009 Aug 3;6:70.
5. Sakuragi J, Sakuragi S, Shioda T. Minimal region sufficient for genome dimerization in the human immunodeficiency virus type 1 virion and its potential role in the early stages of viral replication. J Virol. 2007 Aug;81(15):7985-92.

分子ウイルス研究分野

研究グループ	教授	獣医学博士	松浦 善治	ポストク	医学博士	要 祐喜
	准教授	獣医学博士	森石 恆司	ポストク	医学博士	福原 崇介
	特任准教授	医学博士	神谷 亘	ポストク	獣医学博士	加藤 大志
	助教	工学博士	阿部 隆之			
	特任助教	保健学博士	谷 英樹			

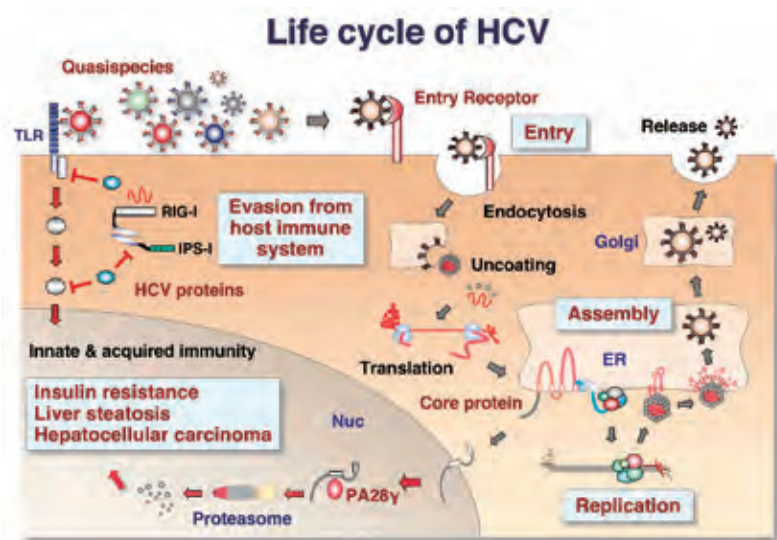
当研究室では、C型肝炎ウイルス(HCV)の感受性細胞への侵入、複製、そして発症病理の分子機序の解析と、遺伝子治療に必須な新しい遺伝子導入ベクターの開発を進めている。

1. HCVの分子生物学

世界の総人口の3%が既にHCVに感染しており、その約8割が慢性持続感染へと移行し、多くが肝硬変を経て肝細胞癌を発症する。我が国では高感度な献血のスクリーニング法が導入され、輸血によるHCV感染はほぼ制圧されたが、既に200万人もの感染者が存在する。HCVはフラビウイルス科に属し、日本脳炎ウイルスなどのフラビウイルスやウシウイルス性下痢症ウイルスなどのペストウイルスに近縁である。HCV粒子は細胞表面の硫酸多糖類に捕捉され、エンベロップ蛋白質を介して親和性の高い蛋白性の受容体と結合し、エンドサイトーシスによってエンドゾーム内に取り込まれる。HCVは他のフラビウイルス科のウイルスと同様に、ウイルスゲノムがmRNAとして働くプラス鎖RNAウイルスで、ゲノムRNAから約3000アミノ酸の前駆体蛋白質が翻訳される。ウイルスゲノムの5'非翻訳領域にはIRES(Internal Ribosomal Entry Site)が存在し、キャップ非依存的な翻訳を司る。また、3'非翻訳領域も複雑な二次構造を取り

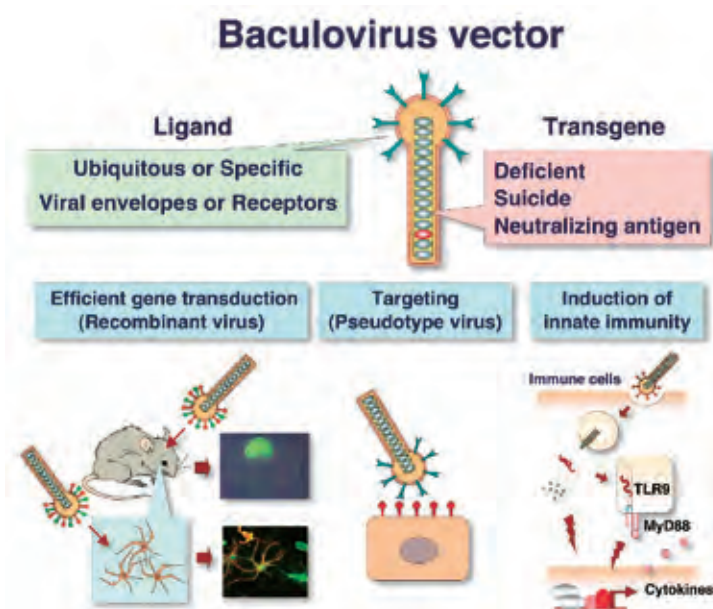
り、RNA複製に重要な役割を担っていることが明らかにされている。

HCV研究の最大の障害は病原性を保持したウイルスを効率よく培養細胞で増幅できないことである。そこで、HCVのシュードタイプウイルスや組換えウイルスを作製し、HCVの感染機構を解析している。現在、ウイルスのポリメラーゼやプロテアーゼに対するの阻害剤の開発が進行しているが、薬剤耐性ウイルスの出現が大きな問題となっている。ウイルス蛋白質を標的にする薬剤に比べて、複製に必須な宿主因子を標的とした薬剤の方が、耐性ウイルスの出現率が低い点で有利である。そこで、HCVの複製や宿主免疫監視機構からの回避に参与する宿主因子を同定し、C型慢性肝炎の新しい創薬ターゲットを検索している。また、HCV感染による脂肪肝や肝細胞癌の発症機構の解析を、HCV蛋白質を発現するトランスジェニックマウスを用いて進めている。



2. バキュロウイルスベクターの開発

HCVのように培養細胞で複製できないウイルス感染症の研究には、ウイルスベクターが重要な武器となる。また、先端医療の要となる遺伝子治療には、安全で遺伝子導入効率が高い、遺伝子導入ベクターの開発が不可欠である。我々は昆虫ウイルスであるバキュロウイルス *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcNPV) を利用した多機能ウイルスベクター開発を進めている。AcNPVは134kbpの環状2本鎖DNAをゲノムとして持ち、感染細胞の30~40%が多角体蛋白質に置き換わるほどの強力な多角体プロモーターを有している。この性質を利用して、AcNPVは昆虫細胞を用いた組換え蛋白質の産生系として利用されている。また、AcNPVは昆虫細胞のみならず、広範な哺乳動物細胞に、効率よく外来遺伝子を導入できることが判明し、新しい遺伝子導入ベクターとして脚光を浴びる事となった。AcNPVは大きな外来遺伝子を組み込んだ組換えウイルスを簡単に作製でき、しかも、哺乳動物細胞では全く複製しないことから、アデノウイルスベクター等で問題となる自立増殖ウイルスの出現や、ウイルス蛋白質の発現による有害な免疫応答の誘導等の危惧がない長所がある。また、AcNPVを鼻腔内投与されたマウスが、致死量のインフルエンザウイルスの攻撃から完全に防御されることが報告され、細胞内に取り込まれたAcNPVゲノムが、Toll-like receptor 9 (TLR9) を介して免疫遺伝子の発現を誘導していることを明らかにした。この成績は、バキュロウイルスが遺伝子導入ベクターとしてだけでなく、接種経路によってはアジュバント活性を併せ持った新しいワクチンベクターとしての可能性を示唆するものである。



最近の代表的な論文

1. Tani H, Shiokawa M, Kaname Y, Kambara H, Mori Y, Abe T, Moriishi K, Matsuura Y. Involvement of ceramide in the propagation of Japanese encephalitis virus. *J Virol.* 2010 Mar;**84**(6):2798-807.
2. Taguwa S, Kambara H, Omori H, Tani H, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Yoshimori T, Moriishi K, and Matsuura Y. Co-chaperone activity of human butyrate-induced transcript 1 facilitates hepatitis C virus replication through an Hsp90-dependent pathway. *J. Virol.*, **83**, 10427-10436 (2009).
3. Yamashita T, Mori Y, Miyazaki N, Cheng H.R., Yoshimura M., Unno H, Shima R, Moriishi K, Tsukihara T., Li T.C., Takeda N., Miyamura T., and Matsuura Y. Biological and immunological characteristics of hepatitis E virus-like particles based on the crystal structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 12986-12991 (2009).
4. Kukihara H, Moriishi K, Taguwa S, Tani H, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Fukuhara T, Taketomi A, Maehara Y., and Matsuura Y. Human VAP-C negatively regulates hepatitis C virus propagation. *J. Virol.*, **83**, 7959-7969 (2009).
5. Abe T, Kaname Y, Wen X, Tani H, Moriishi K, Uematsu S, Takeuchi O, Ishii K.J., Kawai T., Akira S., and Matsuura Y. Baculovirus induces type I IFN production through TLR-dependent and -independent pathways in a cell type-specific manner. *J. Virol.*, **83**, 7629-7640 (2009).

感染病態分野

研究グループ	教授(兼)	医学博士	熊ノ郷 淳	助教(兼)	医学博士	奥野 龍禎
	准教授	医学博士	豊福 利彦	助教(兼)	医学博士	高松 漂太
	准教授(兼)	医学博士	石井 優			

免疫セマフォリン分子群による免疫応答制御機構の解析

セマフォリンファミリーは1990年代の初めから発生過程で神経の進むべき方向性を決定するガイダンス因子として同定されてきた分子群であるが、その後神経だけでなく器官形成、血管新生、脈管形成、癌の悪性化等への関与も報告されている。私たちの研究グループは、セマフォリンCD100/Sema4Dの免疫系における役割を見出したのを端緒に、Sema4A, Sema6D及びSema7Aなど免疫系で機能するセマフォリン分子を次々と明らかにし、「免疫セマフォリン分子: immune semaphorin」という概念を確立した(図1)。これらの免疫セマフォリンは主に細胞間相互作用において重要な役割を果たすが、最近分泌型のセマフォリンであるSema3Aが樹状細胞の移動に重要な役割を果たしていることを見出すなど(図2)、免疫セマフォリン研究は新たな展開を見せている。本分野ではこれら免疫セマフォリン分子群を「窓」に免疫応答機構の解析を行う。

代表的な免疫セマフォリン分子

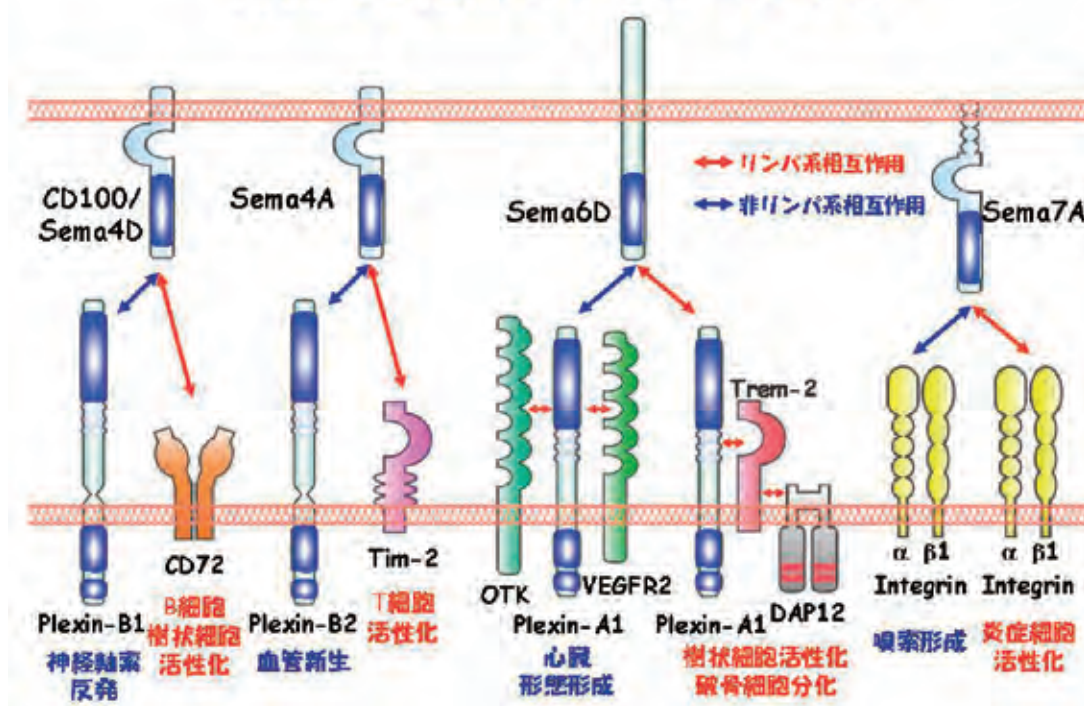


図1. 代表的な免疫セマフォリン分子。これらセマフォリン分子は遺伝子欠損マウスなどの解析から、免疫調節に関与していることが明らかとなっている。

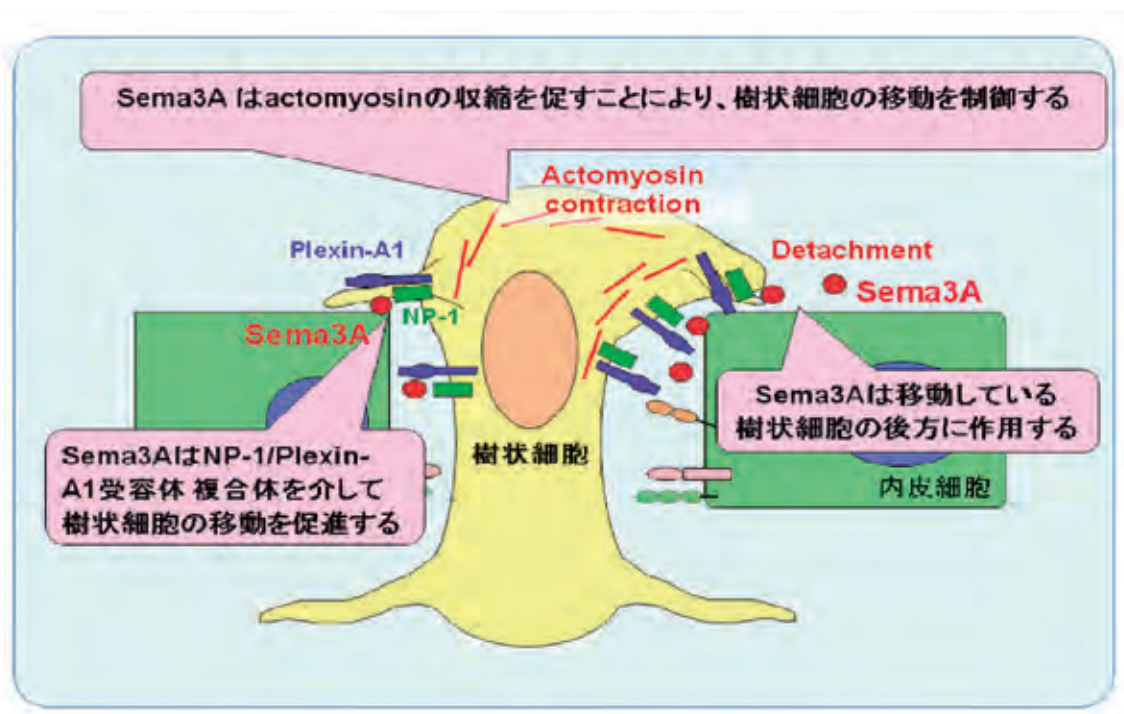


図2. 分泌型のセマフォリンSema3Aは樹状細胞の移動に重要な役割を果たす。

最近の代表的な論文

1. Okuno T, Nakatsuji Y, Moriya M, Takamatsu H, Nojima S, Takegahara N, Toyofuku T, Nakagawa Y, Kang S, Friedel RH, Sakoda S, Kikutani H, Kumanogoh A. Roles of Sema4D-plexin-B1 interactions in the central nervous system for pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. J Immunol. 2010 Feb 1;184(3):1499-506.
2. Toyofuku T, Yoshida J, Sugimoto T, Yamamoto M, Makino N, Takamatsu H, Takegahara N, Suto F, Hori M, Fujisawa H, Kumanogoh A, Kikutani H. Repulsive and attractive semaphorins cooperate to direct the navigation of cardiac neural crest cells. Dev Biol. 2008 Sep 1;321(1):251-62.
3. Suzuki K, Kumanogoh A, Kikutani H. Semaphorins and their receptors in immune cell interactions. Nat Immunol. 2008 Jan;9(1):17-23.
4. Suzuki K, Okuno T, Yamamoto M, Pasterkamp J, Takegahara N, Takamatsu H, Kitao T, Takagi J, Rennert P, Kolodkin A, Kumanogoh A, Kikutani H. Semaphorin 7A initiates T-cell mediated inflammatory responses through $\alpha 1 \beta 1$ integrin. Nature 2007 Apr 5;446(7136):680-4.
5. Takegahara N, Takamatsu H, Toyofuku T, Tsujimura T, Okuno T, Yukawa K, Mizui M, Yamamoto M, Prasad DV, Suzuki K, Ishii M, Terai K, Moriya M, Nakatsuji Y, Sakoda S, Sato S, Akira S, Takeda K, Inui M, Takai T, Ikawa M, Okabe M, Kumanogoh A, Kikutani H. Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis. Nat Cell Biol. 2006 Jun;8(6):615-22.

分子免疫制御分野

研究グループ	教授	医学博士	菊谷 仁	ポストク	医学博士	Olivia A. Simma
	准教授	医学博士	安居 輝人	ポストク	生命科学博士	森本 智美
	助教	医学博士	水井 理之	ポストク	理学博士	森田 健太郎

1. リンパ球を介した免疫応答成立の分子機構

T細胞は抗原提示細胞上のMHC分子によって提示された抗原分子を認識し、ヘルパーT細胞やエフェクターT細胞へと分化する。一方、抗原刺激とヘルパーT細胞の補助の下、B細胞は抗体産生細胞や記憶B細胞に分化する。このようなリンパ球の分化過程にはT細胞・抗原提示細胞間及びT細胞・B細胞間の物理的な相互作用が必須であり、これら相互作用はCD40、CD40リガンド、B7、CD28等の補助刺激分子によって担われている。最近、セマフォリンファミリーに属する分子が、種々の免疫応答において重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。また、CD40のシグナル伝達分子TRAF3およびその関連分子が、B細胞生存や分化に重要であることも明らかとなっている。当研究分野では、これらリンパ球を舞台として繰り広げられる様々な免疫制御分子による免疫反応調節機構を解析している。

1) 免疫セマフォリンによる免疫制御機構:

セマフォリンファミリー分子は神経の軸索に対して化学反発活性や化学誘因活性を発揮し、その伸長方向を決定する神経軸索ガイダンス因子として知られているが、当分野の研究から、数種類のセマフォリン分子が免疫反応の様々なステップで機能していることが明らかになっており、新たな免疫制御分子ファミリー（免疫セマフォリン）が形成されつつある（図1）。例えば、Sema4DはB細胞の活性化や恒常性維持に寄与するとともに、樹状細胞の活性化を介して細胞性免疫の調節にも関与している。一方、Sema4Aは直接T細胞に働いて、T細胞のプライミングやTh1分化に重要な役割を果たす。また、Sema6Dとその受容体Plexin-A1の相互作用は、樹状細胞の活性化、破骨細胞の分化誘導に必要である。更に、活性化T細胞上のSema7Aが $\alpha 1$ integrinを介してマクロファージを刺激して、炎症反応の引き金を引くことも明らかになっている（図2）。

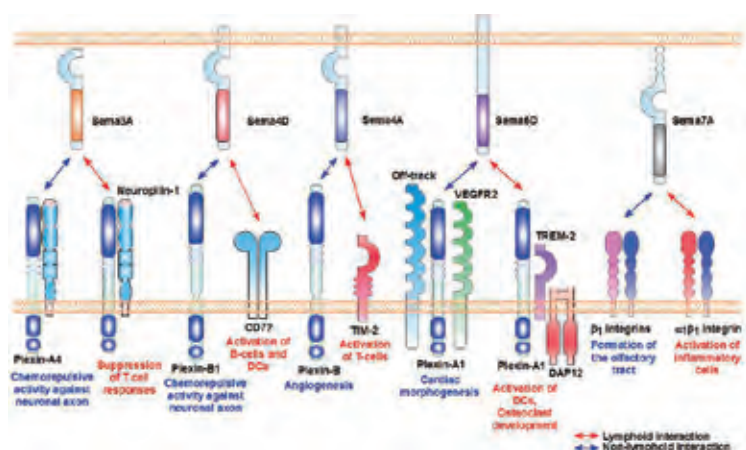
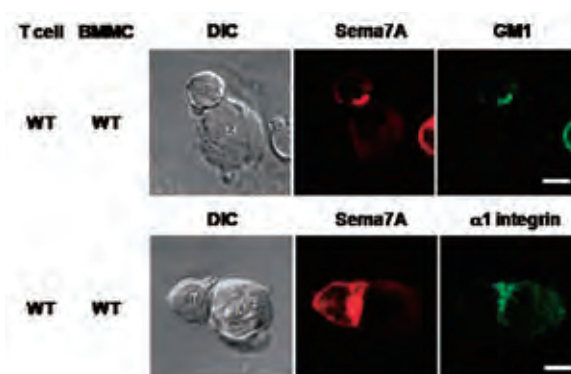


図1：代表的な免疫セマフォリン

図2：T細胞-マクロファージ間直接相互作用におけるSema7Aと $\alpha 1$ integrinの免疫シナプスへの凝集

2) B細胞分化・生存制御の分子機構:

B細胞は外来抗原に対して効果的な抗体を産生するために抗体産生細胞や記憶B細胞に分化するが、その際にB細胞表面上のB細胞抗原レセプターやCD40、BAFF-Rに代表されるTNFレセプターファミリーからの刺激を必要とする。これらのシグナル伝達経路に関与する分子機能が当分野の研究により明らかになるにつれ、液性免疫成立機構とその脆弱性による免疫病態の発症機構が解明されてきた。特に、CD40、BAFFR細胞内領域に会合するTRAF3分子が、B細胞の生存に必須であることが明らかとなるとともに、TRAF3会合分子であり、かつB細胞抗原レセプターシグナルの下流に存在するPKCファミリー分子、PKN1がAktのネガティブ制御分子として作用し、自己反応性B細胞除去等の免疫寛容成立に必要であることも最近見出されてきた。

2. 宿主-病原体間相互作用による免疫病態発症の分子機構

EBVは全世界で広範に潜伏感染しているB細胞指向性ヒトがんヘルペスウイルスである。生体内では常にウイルス複製とその排除を繰り返して感染平衡を保っているが、加齢、臓器移植に伴う免疫抑制剤の投与及びHIV感染等によって、免疫低下状態が惹起されるとEBVの恒常的な活性化が誘導される。その活性化はバーキットリンパ腫やホジキンリンパ腫等の悪性リンパ球増殖疾患や全身性エリテマトーデスや多発性硬化症等の自己免疫疾患に関与することが示唆されている。したがって、当研究分野はEBV感染成立における宿主免疫監視を回避する分子メカニズムを解析することによって宿主免疫脆弱性の理解を目標として研究を行っている。さらにEBVを通じてヒトがん化や自己免疫疾患の発症メカニズムを解明する(図3)。

1) Epstein-Barrウイルス(EBV)潜伏感染成立の分子機構:

EBV感染はヒトB細胞に対して強い細胞形質転換活性と不死化をもたらすことが知られているが、当研究分野ではEBVのB細胞へのエンタリーから持続感染までの感染動態及び細胞形質転換作用を、包括的に細胞レベルで解析できるシステムの構築を試みている。GFPリコンビナントEBV BACを用いて、ヒト末梢血B細胞でのEBV感染の可視化に既に成功しているの、さらにsiRNAライブラリの適用により潜伏感染に重要な宿主側因子の網羅的な同定を目指している(図4)。

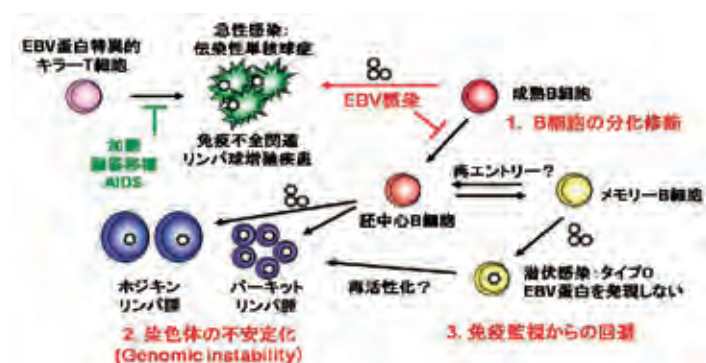


図3: EBVと宿主免疫システム

EBVの形質転換機構と感染成立機構は免疫システムの脆弱性と密接に関連している。1.B細胞分化修飾(宿主免疫細胞生存シグナルの模倣)2.染色体の不安定化3.免疫監視からの回避(潜伏感染遺伝子の完全不活性化)

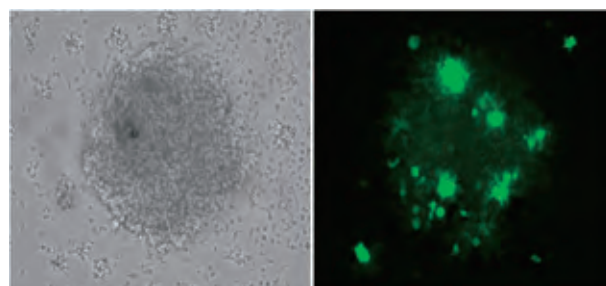


図4: GFP遺伝子を有するリコンビナントEBVによるヒト末梢血B細胞の不死化

最近の代表的な論文

1. Mizui M, Kumanogoh A, Kikutani H. Immune semaphorins: novel features of neural guidance molecules. J Clin Immunol. 2009 Jan;29(1):1-11.
2. Mizui M, Shikina T, Arase H, Suzuki K, Yasui T, Rennert PD, Kumanogoh A, Kikutani H. Bimodal regulation of T cell-mediated immune responses by TIM-4. Int Immunol. 2008 May;20(5):695-708.
3. Suzuki K, Okuno T, Yamamoto M, Pasterkamp RJ, Takegahara N, Takamatsu H, Kitao T, Takagi J, Rennert PD, Kolodkin AL, Kumanogoh A, Kikutani H. Semaphorin 7A initiates T-cell-mediated inflammatory responses through alpha1beta1 integrin. Nature. 2007 Apr 5;446(7136):680-4.
4. Mizui M, Kikutani H. Neuropilin-1: the glue between regulatory T cells and dendritic cells? Immunity. 2008 Mar;28(3):302-3.
5. Takegahara N, Takamatsu H, Toyofuku T, Tsujimura T, Okuno T, Yukawa K, Mizui M, Yamamoto M, Prasad DV, Suzuki K, Ishii M, Terai K, Moriya M, Nakatsuji Y, Sakoda S, Sato S, Akira S, Takeda K, Inui M, Takai T, Ikawa M, Okabe M, Kumanogoh A, Kikutani H. Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis. Nat Cell Biol. 2006 Jun;8(6):615-22.

免疫不全疾患研究分野

研究グループ	教授(兼)	医学博士	木下 タロウ	ポスドク(兼)	医学博士	王 冶陶
	准教授	医学博士	前田 裕輔	ポスドク	医学博士	神澤 範行
	准教授(兼)	医学博士	村上 良子	ポスドク(兼)	Ph. D.	Matthew Stokes
	助教	Ph. D.	森田 康裕	ポスドク	工学博士	福田 剛士
	特任助教	理学博士	藤田 盛久			

当研究分野では、生体防御機構が関与する様々な生物学的、医学的問題を取り扱っている。とくに、GPIアンカー型タンパク質の生合成経路・輸送経路・リモデリング機構の研究、GPIアンカー型タンパク質の欠損症の発症機序に関する研究、病原体におけるGPI生合成とその薬剤開発への応用をめざした研究を行っている。

1) GPIアンカー型タンパク質の生合成・輸送・リモデリング機構の研究

GPIアンカーは、ホスファチジルイノシトールにグルコサミン、マンノース、エタノールアミンリン酸が結合した糖脂質の一種である。哺乳動物においてはおよそ150種類のタンパク質が、GPIアンカーを介して細胞膜に結合しており、これらGPIアンカー型タンパク質には生体防御や細胞間の情報伝達に重要な役割を果たしているものが多く含まれるほか、ウイルスや毒素の受容体として機能しているものもある。またGPIによる修飾はタンパク質の局在・ソーティングシグナルとして働いている。我々は小胞体におけるGPIアンカーの生合成に関与するPIG(Phosphatidylinositol Glycan) 遺伝子群、小胞体で合成された後GPIアンカー型タンパク質のソーティング・局在過程に影響を及ぼす遺伝子群をPGAP(Post GPI-Attachment to Proteins) 遺伝子群と命名し、それらの同定・機能解析を行なっている。これらの研究により、何故多くのタンパク質がGPIアンカーで修飾されるのか、その生物学的意義を明らかにしたいと考えている。

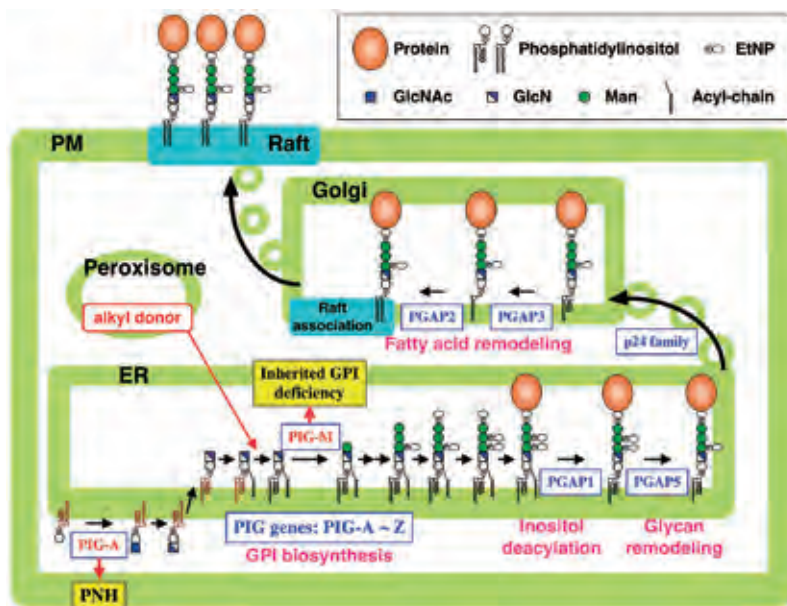


図1: GPIアンカー型タンパク質の生合成・輸送経路

GPIアンカー型タンパク質は、小胞体でGPIアンカーとタンパク質が結合することにより生合成される。GPIアンカーの生合成及びタンパク質への結合に関与するのはPIG遺伝子群である。その後、ゴルジ体を経て細胞表面に輸送され、ラフトに濃縮される。PGAP遺伝子群がこの過程に関与する。現在、遺伝子同定されているPGAP1、PGAP5は小胞体にPGAP2、PGAP3はゴルジ体に存在し、GPIアンカーの糖鎖・脂質リモデリングに関与している。このリモデリングはGPIアンカーの物理特性を変えGPIアンカー型タンパク質の局在、輸送に影響することが示された。

2) 後天性GPI欠損症(発作性夜間血色素尿症PNH)と先天性GPI欠損症の発症機序

PNHはGPIアンカー型タンパク質である補体制御因子が欠損しているために、赤血球が補体により破壊されて、溶血性貧血をきたす血液疾患である。後天的に造血幹細胞のGPI生合成に必須の遺伝子PIG-Aに突然変異がおこりGPI欠損細胞となった後(ステップ1)、併発する自己免疫的機序から逃れてクローンが増大し(ステップ2)、さらに腫瘍性増殖を来す遺伝子変異が起こることにより病態が完成する(ステップ3)と考えており、このステップ3に関与する候補遺伝子としてHMGA2を同定した(図2)。現在HMGA2遺伝子の異所性発現の機序を明らかにすることを目指している。

先天性GPI欠損症として英国のグループは門脈血栓症と欠神発作を主徴とし、常染色体劣性の遺伝形式をもつGPI欠損症の2家系を見いだした。我々との共同研究によって、患者はGPI生合成に必須の遺伝子PIG-Mのプロモーター部位の点変異により転写因子Sp1の結合が阻害され遺伝子の発現が激減していることがわかった。更にヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害薬である酪酸ナトリウムの投与によりGPIアンカー型タンパク質の発現が回復し症状も改善した。GPIの完全欠損は胎生致死となるが、本例のような部分欠損の症例はGPI生合成の各ステップの遺伝子異常によって起こる可能性があり、程度によって様々な症状を呈すると考えられる。今後網羅的なゲノム解析により新たなGPI欠損症が見つかる可能性がある。

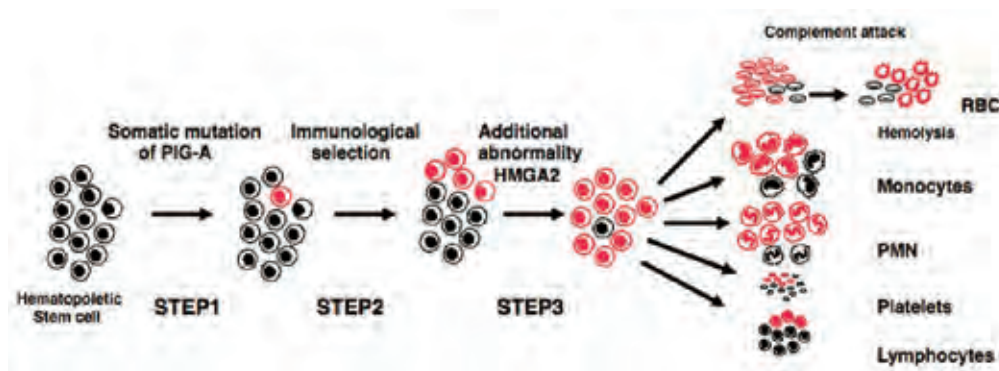


図2：PNH発症のメカニズム(モデル)

骨髄中の1個(～数個)の血液幹細胞のPIG-A遺伝子に変異が起こりGPIアンカー型タンパク質を欠損する(STEP1)。血液幹細胞に対する自己免疫的な反応が起こるとGPIアンカー欠損細胞はその攻撃から逃れてクローン性に拡大する(STEP2)。さらに遺伝子変異が加わって良性腫瘍性に増殖し末梢血の大部分が異常細胞で占められるようになる(STEP3)。

3) 病原体におけるGPI生合成と薬剤開発

マイコバクテリアおよびアフリカトリパノソーマにおけるGPI生合成の全容解明を目指して研究している。マイコバクテリア属の細菌は結核をはじめとする様々な病気の病原体として知られる。一方、アフリカトリパノソーマは睡眠病を引き起こす寄生虫である。これらの病原体のGPIは、宿主感染に際して免疫学的に重要な役割を果たしていると考えられている。特に結核菌のGPI様糖脂質はマクロファージによる炎症性サイトカインの産生を抑制するなどの生理活性を有しており結核菌が感染を成立させるために重要な役割を果たしていると考えられている。我々はこれらのGPI生合成に関与する遺伝子を同定し、それらの遺伝子の欠損株や過剰発現株などを作成し、これらのGPI分子が病原体の細胞表面構造の維持および宿主の免疫反応の修飾にどのような役割を果たしているのかを分子レベルで明らかにすることを試みている。また、生合成酵素を標的とした薬剤開発のスクリーニング方法を開発し、薬剤ライブラリーをスクリーニングすることにより、リード化合物の同定を目指している。

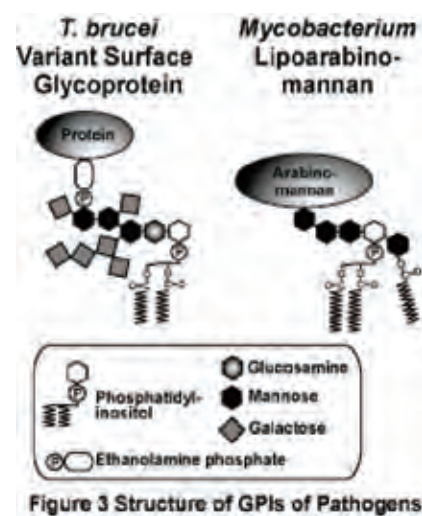


Figure 3 Structure of GPIs of Pathogens

最近の代表的な論文

1. Sena CB, Fukuda T, Miyanagi K, Matsumoto S, Kobayashi K, Murakami Y, Maeda Y, Kinoshita T, Morita YS. Controlled expression of branch-forming mannosyltransferase is critical for mycobacterial lipoarabinomannan biosynthesis. *J Biol Chem*. 2010 Mar 9. doi: 10.1074/jbc.M109.077297
2. Kanzawa N, Maeda Y, Ogiso H, Murakami Y, Taguchi R, Kinoshita T. Peroxisome dependency of alkyl-containing GPI-anchor biosynthesis in the endoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Oct 20;106(42):17711-6.
3. Fujita M, Maeda Y, Ra M, Yamaguchi Y, Taguchi R, Kinoshita T. GPI glycan remodeling by PGAP5 regulates transport of GPI-anchored proteins from the ER to the Golgi. *Cell*. 2009 Oct 16;139(2):352-65.
4. Maeda Y, Ide T, Koike M, Uchiyama Y, Kinoshita T. GPHR is a novel anion channel critical for acidification and functions of the Golgi apparatus. *Nat Cell Biol*. 2008 Oct;10(10):1135-45.
5. Almeida AM, Murakami Y, Baker A, Maeda Y, Roberts IA, Kinoshita T, Layton DM, Karadimitris A. Targeted therapy for inherited GPI deficiency. *N Engl J Med*. 2007 Apr 19;356(16):1641-7.

自然免疫学分野

研究グループ	教授(兼)	医学博士	審良 静男	准教授(兼)	医学博士	植松 智
	准教授	医学博士	竹内 理	助教	医学博士	齊藤 達哉
	准教授	医学博士	河合 太郎	特任助教	医学博士	熊谷 雄太郎

当研究分野では、自然免疫による病原体認識と、その活性化調節メカニズムについて研究を行っている。自然免疫は細菌、ウイルス、寄生虫といった感染病原体の初期認識ならびにその後の炎症反応の惹起や獲得免疫の誘導に重要な役割を果たしている生体防御メカニズムである。自然免疫の異常は、免疫不全、敗血症性ショック、自己免疫疾患など様々な疾患の原因となる。自然免疫を司る細胞であるマクロファージや樹状細胞は病原体固有に存在する構造 (Pathogen-associated molecular patterns: PAMPs) を認識するパターン認識受容体 (Pattern-recognition receptors: PRRs) を発現しており、このPRRsを介して活性化シグナルが伝達される。当研究分野では、自然免疫の複雑な調節メカニズムを解明することを目指している。

1) Toll-like receptor (TLR)ファミリーによる病原体認識、TLRシグナル伝達系の解析

TLRファミリー分子は自然免疫における病原体の認識に必須の受容体である。TLRシグナルは炎症に関わる遺伝子の発現を誘導し、その後の免疫応答に重要な役割を果たす。我々は、TLRファミリー分子、そのシグナル分子を同定、さらにそのノックアウトマウスを作製し解析を行ってきた。その結果、各TLRの認識するリガンドやシグナル伝達経路を明らかにしてきた(図1)。また、TLRの刺激は炎症性サイトカイン遺伝子発現と共にI型インターフェロン遺伝子の発現誘導も促進する。我々はTLR4やTLR3のシグナル伝達経路において、TRIF-TBK1/IKK-i-IRF-3経路が重要な役割を果たしている事を明らかにしてきた(図2)。更にウイルス感染の際に重要な働きをする形質細胞様樹状細胞において、TLR7やTLR9が発現しており、I型インターフェロンの産生を誘導するシグナル伝達経路を明らかにした(図2)。このようにTLRシグナルはリガンドや細胞ごとに異なった複雑な制御を受けている。我々は更に各TLRの生体内における役割、またそのシグナル伝達機構を解析している。

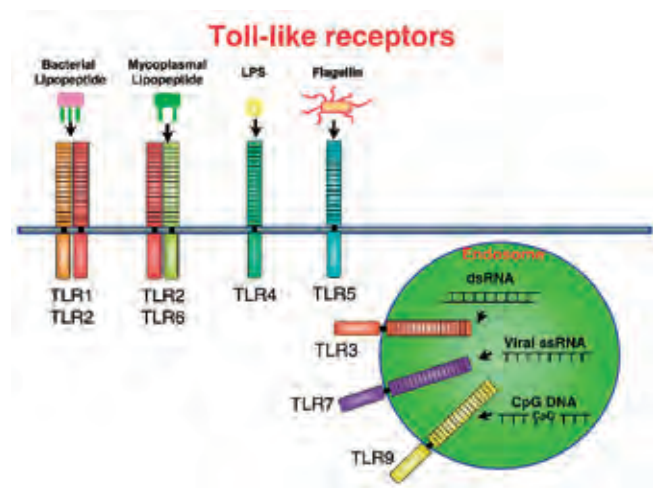


図1: TLRによる病原体の認識

Toll-like receptor (TLR)ファミリーは細菌、真菌、寄生虫、ウイルスといった様々な種類の病原体の構成成分を認識する。

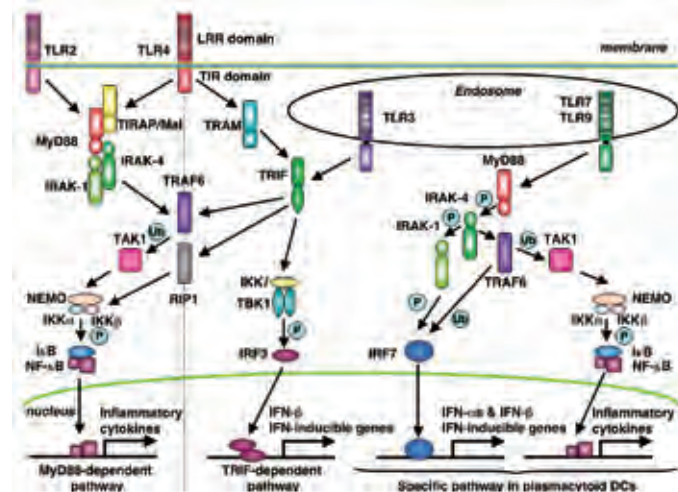


図2: TLRのシグナル伝達経路

TLRはファミリーメンバーごとに特異的なシグナル伝達経路を有している。TLR3を除く全てのTLRに共通なMyD88依存経路に加えて、TLR3、TLR4はTRIF依存経路を有している。TLR7、TLR9にはpDCにおいてI型IFNを産生する特徴的なシグナル伝達経路が存在する。Ub:ユビキチン化、P:リン酸化。

2) TLRアゴニスト、アンタゴニストを用いた研究

TLRを介した自然免疫賦活化作用は非常に強くかつ特異的であるためTLRのアゴニストを利用した抗感染症、抗腫瘍、抗アレルギーまた、ワクチンのアジュバントとして臨床応用が期待されている。しかしTLRの刺激の種類や強さによって自己免疫疾患や敗血症を誘発し、動脈硬化などにも影響を与えることも知られている。そのような異常なTLRの刺激に対しTLRのアンタゴニストを投与することにより自然免疫が関わる疾患の予防や治療を行うことも考えられている。

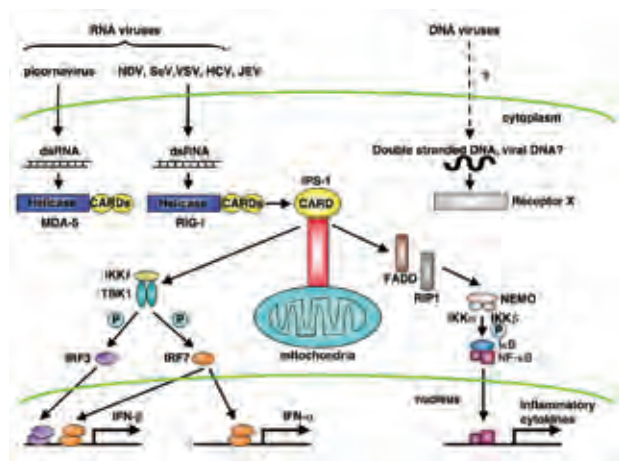


図3：細胞内核酸受容体による病原体認識とそのシグナル伝達経路
ウイルスは細胞質で複製の際に2本鎖RNAをつくる。RIG-IとMDA5は2本鎖RNAを認識して抗ウイルス応答を誘導する。IPS-1はCARDドメインを介してRIG-IやMDA5と会合し、TBK1/IKK1依存的にIRF3やIRF7をリン酸化する。IPS-1はまたFADD/RIP1依存的にNF-κBを活性化する。合成の2本鎖DNAはI型IFNプロモータを活性化する。一部にはpolymerase IIIを介して2本鎖RNAに転写されRIG-Iを活性化するとの報告もあるが、細胞質内でDNAを認識する受容体は分かっていない。

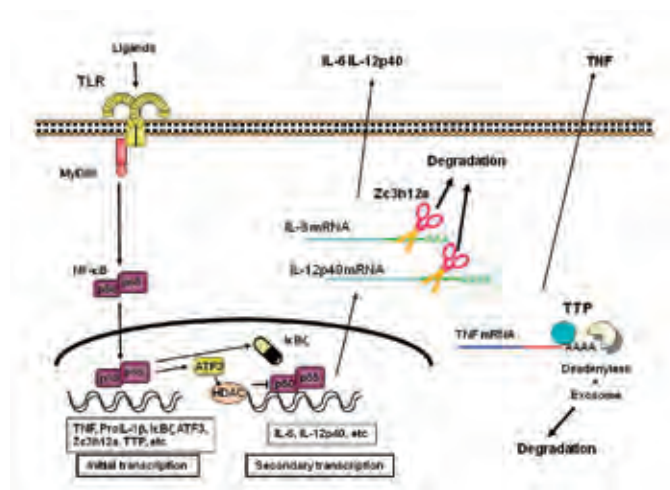


図4：TLR誘導遺伝子による炎症応答調節メカニズム
TLRにより発現誘導されるIκBζはNFκBp50を介してIL-6などの転写を誘導する。これに対し、同様に誘導されるZc3h12aはRNaseとして働き、IL-6やIL-12p40などのmRNAを分解、炎症応答を負に制御している。TTPもTNF mRNA分解に関わる分子として知られている。

4) 炎症応答調節メカニズムの解析

自然免疫活性化による炎症応答は様々な機構で適切に調節されている。これまでの研究で、感染に対しTLRシグナルにより発現誘導される分子が、更に炎症応答を正に、負に制御している事が明らかになってきた。例えば、TLRにより早期誘導される核内因子IκBζは転写調節因子として働き、炎症性サイトカイン産生に必要である(図4)。これに対し、RNA分解酵素であるZc3h12aはインターロイキン6(IL-6)などのmRNAを分解し炎症を負に制御している(図4)。Zc3h12aを欠損するマウスは重篤な自己免疫疾患を自然発症する。現在、炎症応答における転写後調節メカニズムに関して研究を行っている。

最近の代表的な論文

1. Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):805-820.
2. Kawagoe T, Takeuchi O, Takabatake Y, Kato H, Isaka Y, Tsujimura T, Akira S. TANK is a negative regulator of Toll-like receptor signaling and is critical for the prevention of autoimmune nephritis. *Nat Immunol*. 2009 Sep;10(9):965-72.
3. Matsushita K, Takeuchi O, Standley DM, Kumagai Y, Kawagoe T, Miyake T, Satoh T, Kato H, Tsujimura T, Nakamura H, Akira S. Zc3h12a is an RNase essential for controlling immune responses by regulating mRNA decay. *Nature*. 2009 Apr 30;458(7242):1185-90.
4. Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T, Akira S. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1β production. *Nature*. 2008 Nov 13;456(7219):264-8.
5. Uematsu S, Fujimoto K, Jang MH, Yang BG, Jung YJ, Nishiyama M, Sato S, Tsujimura T, Yamamoto M, Yokota Y, Kiyono H, Miyasaka M, Ishii KJ, Akira S. Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5. *Nat Immunol*. 2008 Jul;9(7):769-76.

細胞機能分野

研究グループ	教授	医学博士	目加田 英輔	特任研究員	理学博士	森部 弘樹
	准教授	医学博士	岩本 亮	特任研究員	バイオサイエンス博士	中村 尚志
	助教	理学博士	水島 寛人			

当研究分野では、細胞間に存在する細胞増殖因子や細胞接着因子を介した細胞の機能制御機構について研究を行っている。研究の主役となる分子は、HB-EGFというEGFファミリーの膜結合型細胞増殖因子とテトラスパンインと呼ばれる膜4回貫通型タンパク質である。これらのタンパク質は、細胞外マトリックス分子やその他膜タンパク質、あるいは細胞内シグナル分子と複合体を形成して、細胞増殖の調節、形態形成や組織の維持・修復に働いていると同時に、がん細胞の増殖・浸潤・転移にも深く関わっている。

1) HB-EGFの役割と作用機構の解析

HB-EGFはEGFファミリーの増殖因子で、EGFRやErbB4に結合して、これらを活性化する。HB-EGFは膜貫通ドメインを含んだ膜結合型細胞増殖因子として合成され、膜結合型が細胞表面でプロテアーゼによって切断されると、分泌型HB-EGFを生じる。HB-EGFは、種々の組織、細胞より分泌され、心臓機能維持や心臓弁形成、目蓋形成、創傷治癒、肺胞形成、受精卵の着床、表皮肥厚などの過程において、細胞の生存、増殖抑制、移動、接着、増殖促進など多彩な機能を発揮している。生体内のほとんどの過程では分泌型が機能している。膜結合型は分泌型の前駆体であるばかりでなく、膜結合型の状態でも生物活性を持っている。膜型から分泌型への転換はどのように制御されているのか、膜型と分泌型の生理的役割、どのような機構で多彩な生理活性を示すのか、さらには病気との関わり等の問題に関して研究を進めている。

2) HB-EGFを分子標的とする抗癌剤の開発

HB-EGFはがんの進展にも深く関わっており、がん細胞の増殖、浸潤、転移におけるHB-EGFの果たす役割を解析している。またHB-EGFを分子標的とする抗癌剤の開発を推進し、HB-EGF中和抗体やジフテリア毒素変異体CRM197を有効成分とする卵巣がん治療薬の非臨床試験・臨床試験を実施している。

3) テトラスパンイン分子の解析

テトラスパンインは、特徴的な膜4回貫通構造を持ち、多細胞生物にだけ存在する一群の膜タンパク質ファミリーで、ヒトでは30種類以上、ショウジョウバエや線虫でも20種類以上存在する。このうち、CD9はHB-EGFと共役してジフテリア毒素の受容体としてジフテリア毒素の毒性発現に関わると同時に、種々の膜タンパク質と複合体を形成して、細胞の接着、運動性、癌細胞の浸潤転移能、精子と卵子の融合などにも深く関わっている。また、線虫テトラスパンインの一種であるTSP-15は、表皮の維持に必須で、この分子が欠損すると水疱症様の異常を示し、致死となる。CD9ノックアウトマウスや線虫ミュータントを用いて、CD9およびテトラスパンインファミリー分子の機能を探索している。

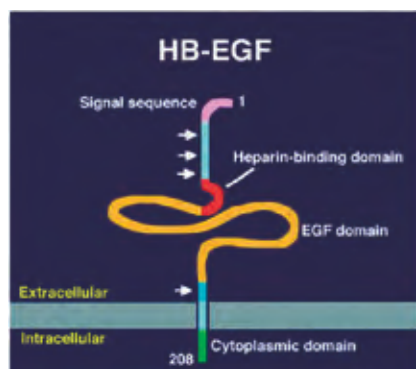


図1 HB-EGF模式図

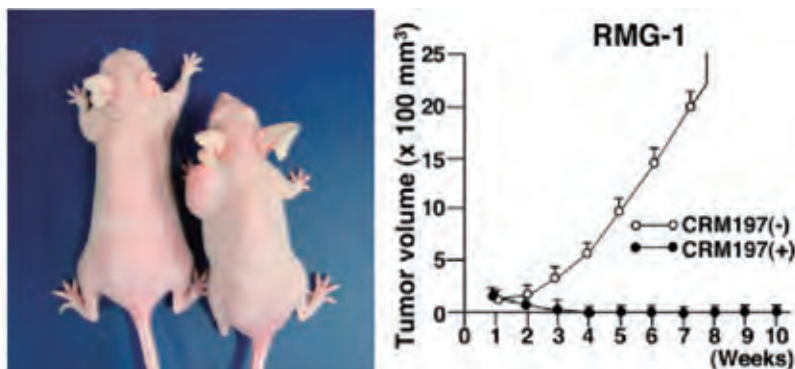


図2 卵巣癌細胞による腫瘍形成（左）と無毒性変異ジフテリア毒素CRM197による腫瘍形成阻害（右）

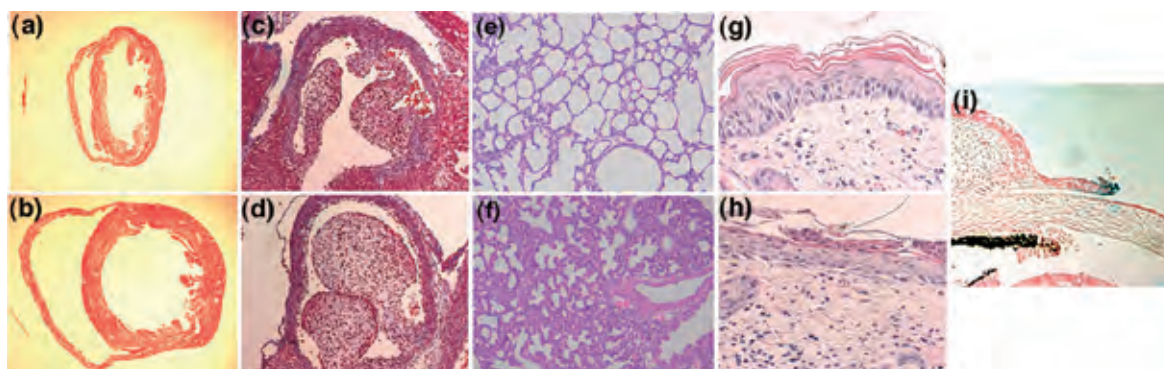


図3 野生型マウス(a,c,e,g)とHB-EGF KOマウス(b,d,f,h)における心臓(a,b)、心臓弁(c,d)、肺胞(e,f)、レチノイン酸誘導性表皮肥厚(g,h)の表現型の違い。(i)目蓋閉鎖過程でのHB-EGFの発現(伸展上皮先端の青い部分)。

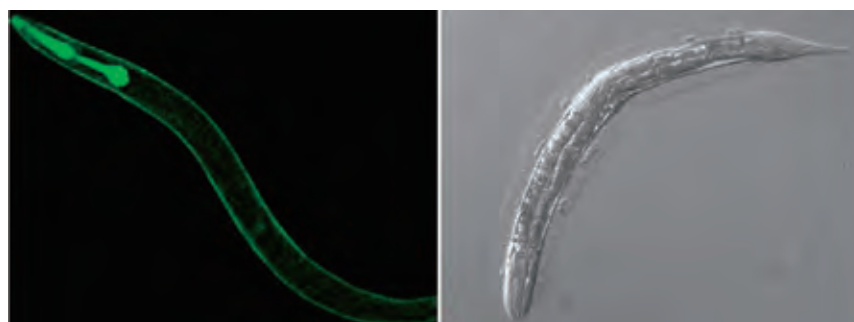


図4 線虫におけるtsp-15。(左)野生型でのtsp-15発現。(右)RNAiによりtsp-15を機能低下した線虫。表皮剥離が見られる。

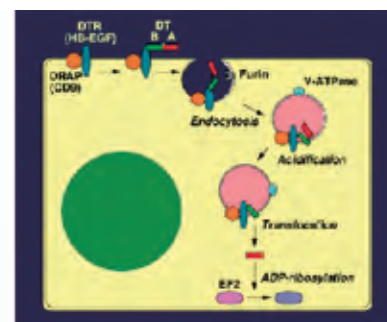


図5 ジフテリア毒素の細胞内侵入機構

最近の代表的な論文

1. Koshikawa N, Mizushima H, Minegishi T, Iwamoto R, Mekada E, Seiki M. MT1-MMP cleaves off the NH2-terminal portion of HB-EGF and converts it into a heparin-independent growth factor. Cancer Res. 2010 in press.
2. Iwamoto R, Mine N, Kawaguchi T, Minami S, Saeki K, Mekada E. HB-EGF function in cardiac valve development requires interaction with heparan sulfate proteoglycans. Development 2010 in press.
3. Mizushima H, Wang X, Miyamoto S, Mekada E. Integrin signal masks growth-promotion activity of HB-EGF in monolayer cell cultures. J Cell Sci. 2009 Dec 1;122(Pt 23):4277-86.
4. Miyado K, Yoshida K, Yamagata K, Sakakibara K, Okabe M, Wang X, Miyamoto K, Akutsu H, Kondo T, Takahashi Y, Ban T, Ito C, Toshimori K, Nakamura A, Ito M, Miyado M, Mekada E, Umezawa A. The fusing ability of sperm is bestowed by CD9-containing vesicles released from eggs in mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Sep 2;105(35):12921-6.
5. Takeda Y, He P, Tachibana I, Zhou B, Miyado K, Kaneko H, Suzuki M, Minami S, Iwasaki T, Goya S, Kijima T, Kumagai T, Yoshida M, Osaki T, Komori T, Mekada E, Kawase I. Double deficiency of tetraspanins CD9 and CD81 alters cell motility and protease production of macrophages and causes COPD-like phenotype in mice. J Biol Chem. 2008 Sep 19;283(38):26089-97.

免疫化学分野

研究グループ	教授(兼)	医学博士	荒瀬 尚	ポストク	医学博士	齋藤 史路
	助教	医学博士	末永 忠広	ポストク	保健学博士	平安 恒幸
	助教	バイオサイエンス博士	上堀 淳二			

当研究分野では、病原体がどのように免疫システムからの逃避機構を獲得してきたのか、一方、免疫システムは、種々の感染症に対してどのように抵抗性を獲得してきたかについて解明を行っている。特に、免疫細胞が発現する種々の活性化制御レセプターの機能解析を通して、種々の病原体に対する生体防御機構の解明を目指している。我々の研究により、多くの免疫細胞が発現する抑制化と活性化からなるペア型レセプターが(図1)、病原体と共に進化してきたレセプターである可能性や、さらに、これらのレセプターがウイルスのエントリーにも利用されることが明らかになってきた。そこで、これらのレセプターに対する宿主リガンドや病原体リガンドの解明により、宿主の感染抵抗性とどのような関係があるかを解明する。本研究は、病原体の免疫逃避機構や侵入機構の解明や生体の感染抵抗性決定因子の解明に重要であり、ワクチン開発や感染症予防法、治療法開発のための基礎研究になる。

(1) ペア型レセプターの認識機構の解明

免疫細胞は、抑制化と活性化レセプターから成る種々のペア型レセプターを発現している(図1)。抑制化ペア型レセプターは、MHC等の自己分子を認識する一方、活性化レセプターは自己分子を認識しない。当分野では、ペア型レセプターの一つがサイトメガロウィルスのウィルス分子を認識することを明らかにし、ペア型レセプターによる病原体認識が、感染抵抗性を決定する上で重要な機能を担っていることを明らかにした(図2)。そこで、これらのペア型レセプターが何を認識し、どのような機能を持っているかを明らかにすることにより、ペア型レセプターの免疫応答における機能、さらに、病原体と宿主免疫との間に存在する種々の相互作用の解明を目指す。



図1: ペア型レセプター

ペア型レセプターは、非常に相溶性の高い抑制化レセプターと活性化レセプターから構成される。抑制化レセプターはITIMを介して抑制化シグナルを伝達する一方、活性化レセプターはITAMを介して活性化シグナルを伝達する。

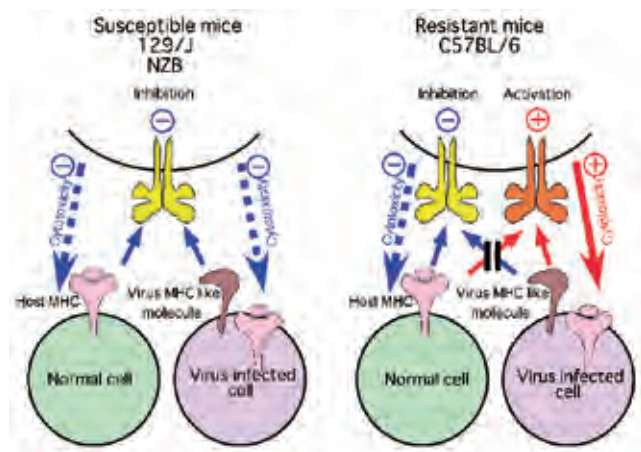


図2: 抑制化および活性化レセプターによるサイトメガロウィルス感染細胞の認識機構

ウィルスは、MHCの発現を低下させキラーT細胞による認識を逃れ、さらに、NK細胞の抑制化レセプターのリガンドとしてMHC様分子を発現することにより、NK細胞による細胞障害性からも逃れている(左図)。一方、感染抵抗性のマウスのNK細胞では、宿主MHC特異的な抑制化レセプターを発現することにより、MHCの発現したウィルス感染細胞を異常細胞として認識できる。さらに、ウィルスのMHC様分子に対する活性化レセプターを発現することによって、ウィルス感染細胞を積極的に障害する(右図)(Arase et al. Science 2002)。

分子遺伝研究分野

研究グループ

教授	理学博士	野島 博
助教	医学博士	藪田 紀一
助教(兼)	医学博士	奥崎 大介
特任研究員	理学博士	内藤 陽子

当研究分野では癌の悪性化に伴う染色体不安定性の制御機構を、細胞周期チェックポイント制御や中心体成熟の異常という観点から研究している。とくに中心体に局在するSer/ThrキナーゼであるLats1/2あるいはGAKが構成する複合体の、DNA傷害という環境からのストレスに対する応答の制御機構に的を絞って解析している。これら2つのテーマはMdm2やp53を介して互いに密接に連繫している(図1)。それらの応用研究としてコネキシン26を標的とした癌の自然転移と増殖を阻害する副作用の少ない安全な薬剤(オレアミド類縁体)の開発研究も進めてきた。



図1：LatsグループとGAKグループは互いに連繫している。

(1) Lats(Large tumor suppressor)グループ

Lats1, Lats2は種間で保存された中心体に局在する類似なキナーゼである(Toji *et al.*, Genes Cells, 2004)。とくにLats2は癌抑制因子p53の直接的な転写標的である一方でp53の分解を抑制することによりM期における均等な染色体分配を制御している。我々は以下の現象を見出してきた。①Lats2の遺伝子欠失(LATS2 KO)マウスを作製し解析した結果、類似遺伝子LATS1とは異なり胚の発生・分化に必須な遺伝子であった。

②Lats2 KOの胚由来線維芽細胞株(Lats2^{-/-} MEF)では細胞増殖速度の増加、中心体の断片化、染色体の不整列、染色体分配の異常、細胞質分裂の異常が観察された。これらの結果は、Lats2が正常なM期進行に必須なキナーゼであることを示唆している(図3)。③分裂(M)期において、Aurora-AキナーゼがLats2のN末領域の異なる3箇所のアミノ酸残基をリン酸化し、これらリン酸化型Lats2は互いに異なる分裂装置上へ局在する。つまり、リン酸化のひとつは中心体と中央体に、もうひとつは中心体と中央体に加えてスピンドル・ミッドゾーンに、残りのひとつは核内からセントラル・スピンドルに移動し、中央体に局在した。これは一種の蛋白質(Lats2)の局在が一種のキナーゼ(Aurora-A)による複数部位のリン酸化によって別々の分裂装置上に仕分けされるという極めて珍しい現象である。④siRNAにより内在性Lats2をノックダウンすると細胞質分裂の異常が観察された。これらの結果から、我々はAurora-A-Lats2経路がLats2のM期局在と蛋白質安定性を介して正確な細胞質分裂の制御を行う新たなシグナルカスケードであると提唱した。⑤Lats1/Lats2ダブルノックアウトマウス作製し解析した結果、胎生初期に異常を起こして発生が停止していた。

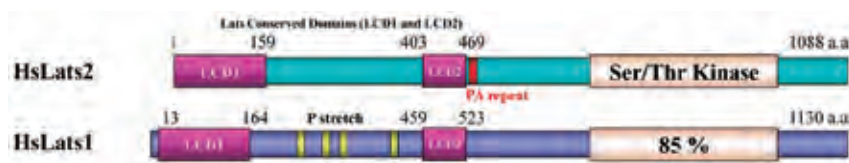


図2：Lats1とLats2 の構造は類似している。

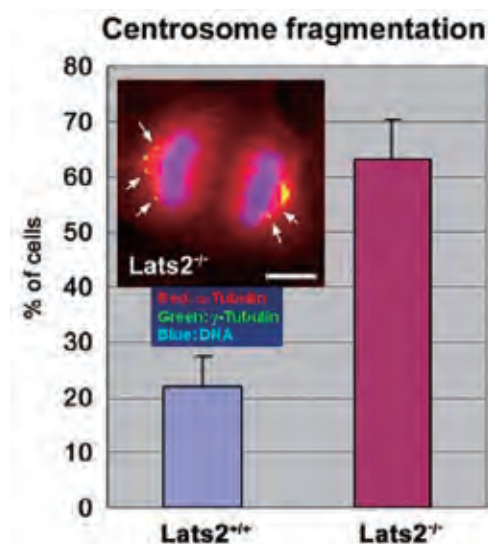


図3：Lats2欠損(Lats2^{-/-})MEFでは中心体周辺物質(PCM)の断片化を引き起こすため3個以上のγ-tubulin スポットが頻繁に観察される。

(2) GAK(cyclin G-associated kinase)グループ

GAKは細胞質でクラスリン被覆小胞の脱被覆を制御することで膜輸送(エンドサイトーシス)に必須である。しかしながら、脳神経以外の細胞でクラスリンを介したエンドサイトーシス制御に主要な役割を果たしていることが明らかにされてきたが、この現象にはキナーゼとしての領域は不要であるためGAKの持つキナーゼドメインの役割は不明であった。我々は以下の現象を見出してきた。

①GAKはPP2A B' γ 3および cyclin G(cyclin G1およびcyclin G2)とKBG(KBG1およびKBG2)複合体を形成し、PP2Aの脱リン酸化酵素活性を制御している。②GAKは細胞質のみでなくM期において中心体や核内にも局在し、成熟と中心体染色体凝縮・整列を制御している。③GAKをノックダウンすると、染色体整列異常を起こし、それを感知したスピンドルチェックポイントの活性化によって細胞がM期で停止する。④この現象にはエンドサイトーシスに必須なCHCが関わっており、GAKはCHCの上流に位置しながら、M期進行においてもCHCと協調的に機能している。こうしてエンドサイトーシスとM期進行という一見関係ないように思われる現象の間に緊密な関係があることを証明した。



図4：GAKとAuxilin の構造はGAKのキナーゼ領域以外は類似している。

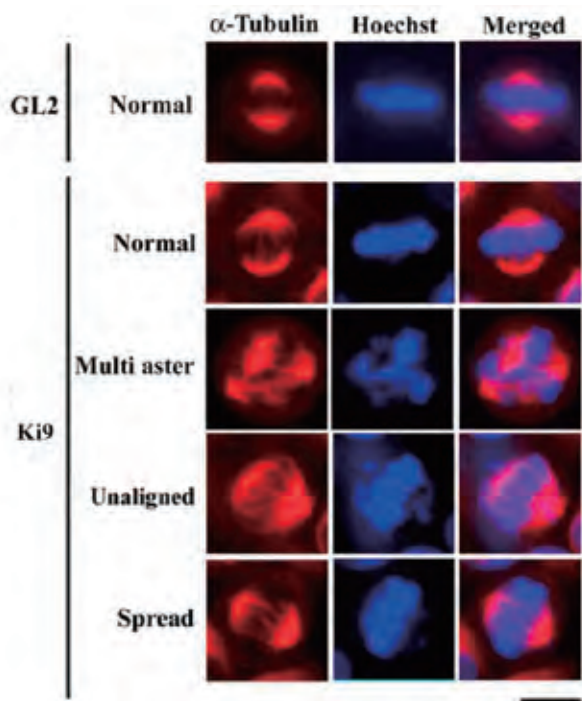


図5：GAKをsiRNA (Ki9)でノックダウンすると染色体異常を起こす。

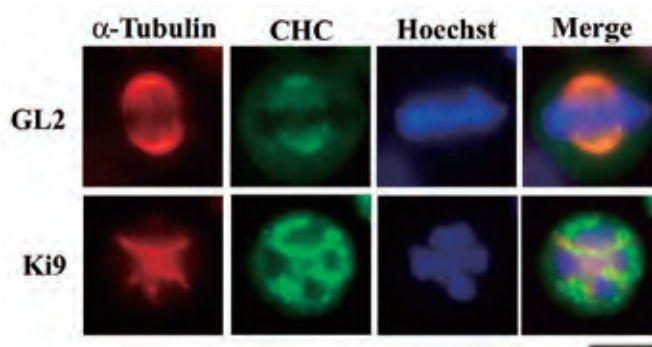


図6：GAKをsiRNA (Ki9)でノックダウンするとCHCの局在異常を起こす。

最近の代表的な論文

1. Shigehisa A, Okuzaki D, Kasama T, Tohda H, Hirata A, Nojima H. Mug28, a Meiosis-specific Protein of *Schizosaccharomyces pombe*, Regulates Spore Wall Formation. *Mol Biol Cell*. 2010 Apr 21. In press.
2. Shimizu H, Nagamori I, Yabuta N, Nojima H. GAK, a regulator of clathrin-mediated membrane traffic, also controls centrosome integrity and chromosome congression. *J Cell Sci*. 2009 Sep 1;122(Pt 17):3145-52.
3. Nishioka N, Inoue K, Adachi K, Kiyonari H, Ota M, Ralston A, Yabuta N, Hirahara S, Stephenson RO, Ogonuki N, Makita R, Kurihara H, Morin-Kensicki EM, Nojima H, Rossant J, Nakao K, Niwa H, Sasaki H. The Hippo signaling pathway components Lats and Yap pattern Tead4 activity to distinguish mouse trophectoderm from inner cell mass. *Dev Cell*. 2009 Mar;16(3):398-410.
4. Ohtaka A, Okuzaki D, Nojima H. Mug27 is a meiosis-specific protein kinase that functions in fission yeast meiosis II and sporulation. *J Cell Sci*. 2008 May 1;121(Pt 9):1547-58.
5. Yabuta N, Okada N, Ito A, Hosomi T, Nishihara S, Sasayama Y, Fujimori A, Okuzaki D, Zhao H, Ikawa M, Okabe M, Nojima H. Lats2 is an essential mitotic regulator required for the coordination of cell division. *J Biol Chem*. 2007 Jun 29;282(26):19259-71.

発癌制御研究分野

研究グループ

教授	理学博士	岡田 雅人
准教授	理学博士	名田 茂之
助教	医学博士	小根山 千歳
特任研究員	医学博士	梶原 健太郎

「がん」は、ゲノムDNAに生じる様々な変異を引き金として発生し、進化し、そして悪性化する。その過程において、「がん抑制遺伝子」の機能欠失変異による細胞の不死化と「がん原遺伝子」の機能獲得変異（「がん遺伝子」への変異）による細胞形質の大きな転換が生じる。不死化によってがん防御機構としてのアポトーシスや老化が回避され、形質転換によっては自律的増殖能の獲得、細胞間コミュニケーションの破綻、細胞形態の変化、基質分解酵素や増殖因子の分泌亢進、浸潤・転移能の獲得などのがん悪性化形質が誘導される。当研究室では、後者の形質転換に関わる「がん原遺伝子」の本来の生理機能と制御機構をまず理解し、その機能獲得変異による形質転換の分子基盤の解明と新たながん治療標的の開拓を目指した研究を進めている。これまでに、形質転換において中心的な役割を担うチロシンキナーゼ型がん原遺伝子c-Srcの発生・分化・組織構築などにおける生理機能、およびその調節機構を明らかにしてきた。現在は、がん化モデル細胞や実際のヒトがん細胞などを用いて、c-Srcによるがん悪性化の細胞内経路の全容とその抑制機構解明に向けた研究を進めている。

I. c-Srcによるがん悪性化とその抑制機構

正常細胞では、c-Srcは特異的な制御因子Cskによってリン酸化された不活性型で存在し（図1）、増殖因子や細胞外マトリックスなど多様な細胞外刺激に応答して活性化する。その下流で、MAPキナーゼ経路などを活性化して細胞増殖に関わる遺伝子の発現を誘導し、細胞骨格系の再編を惹起するとともに、細胞接着、運動能、基質分解酵素の産生・分泌を亢進するなど多様な機能を発揮する（Fig.1）。ヒトのがんではc-Src遺伝子自体の機能獲得変異やCskの機能欠損変異は検出されていないが、様々ながん細胞でSrcの蛋白量や活性が上昇していることが認められている。その増大したキナーゼ活性によってSrcの多様な機能が一斉に増幅されてがん悪性化形質の発現が誘導されたと考えられている（Fig.2）。

近年当研究室では、正常細胞にはこうした危険分子c-Srcの異常な活性化を抑制するシステムが存在をすることを見いだした。これまでに、c-Srcの抑制因子Cskが細胞膜ミクロドメイン「ラフト」に局在する膜アダプター分子Cbpを介してSrcに効率よくアクセスすることを明らかにしていたが、そのCbpが活性化したc-Srcを特異的に認識してラフトに封じ込めるだけでがん化を抑制できること、また、Cbpの発現がある種のがん化に伴って著しく低下し、その結果としてc-Srcのがん化能が亢進することが観察された。このことから、Cbp遺伝子のがん抑制遺伝子として機能する可能性が示されている（ref.3, Fig.3）。現在、Cbp遺伝子およびそれと関連する遺伝子のがん化に伴う発現低下のメカニズムの解析を進めている。

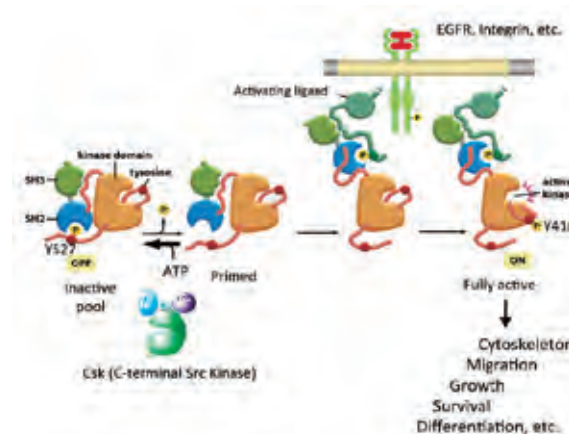


Fig.1. Function and regulation of c-Src

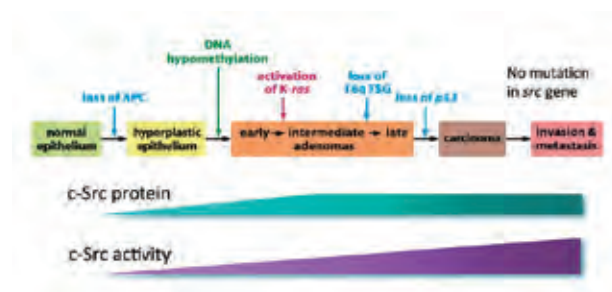


Fig.2. c-Src and human cancer

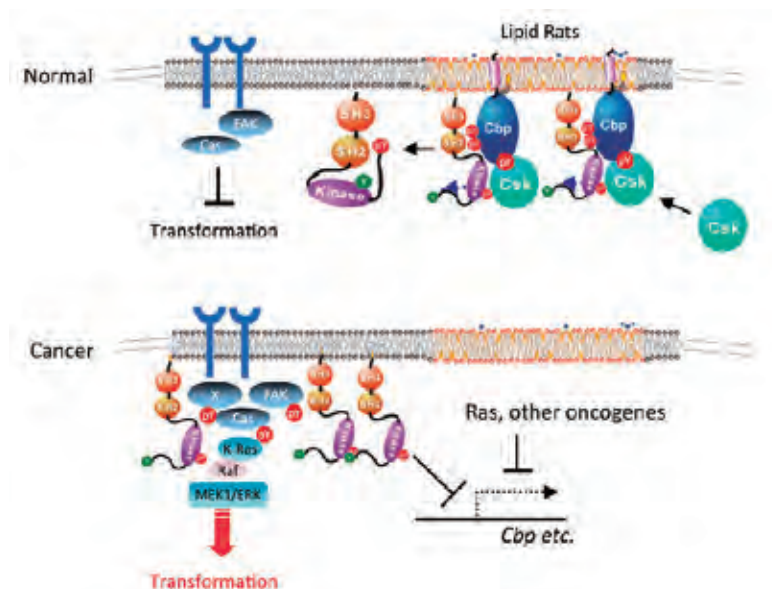


Fig.3. Tumor suppressing role of Cbp.

II. Srcによるがん悪性化の細胞内経路

当研究室では、c-Srcによるがん悪性化の根幹的な細胞内経路を特定するために、c-Srcの新たな基質蛋白の探索を進めている。その過程で近年、細胞内の後期エンドソームのラフト画分より新たなSrc基質蛋白p18を同定した。p18は、MAPキナーゼ経路のMEK1の足場蛋白複合体p14/MP1と結合して、その経路を後期エンドソームにリクルートする機能を持つ。また、p18 KOマウス(胎生期致死)、p18 KO細胞、表皮特異的p18 KOマウスなどの解析より、p18がエンドソーム系のダイナミクスの制御で中心的な役割を担うことが明らかとなった。さらに最近の研究より、p18依存的なMAPキナーゼ経路がc-Srcによる形質転換に必須となることも明らかとなった(ref.2, Fig.4)。現在、その詳細なメカニズムの解析を進めるとともに、本経路を標的としたがん治療薬開発に向けた解析に着手している。

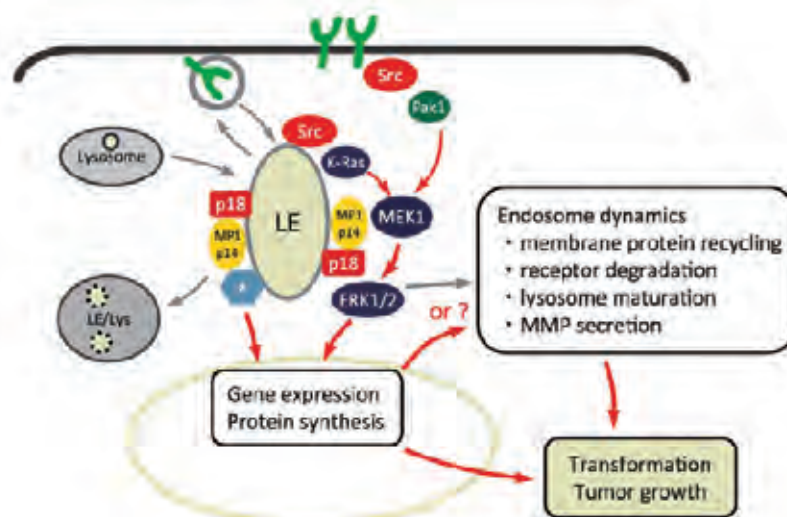


Fig.4. Function of the p18-MAPK pathway in the endosome dynamics and cancer growth.

最近の代表的な論文

1. Oneyama C, Iino T, Saito K, Suzuki K, Ogawa A, Okada M. Transforming potential of Src family kinases is limited by the cholesterol-enriched membrane microdomain. *Mol Cell Biol*. 2009 Dec;29(24):6462-72.
2. Nada S, Hondo A, Kasai A, Koike M, Saito K, Uchiyama Y, Okada M. The novel lipid raft adaptor p18 controls endosome dynamics by anchoring the MEK-ERK pathway to late endosomes. *EMBO J*. 2009 Mar 4;28(5):477-89.
3. Oneyama C, Hikita T, Enya K, Dobenecker MW, Saito K, Nada S, Tarakhovsky A, Okada M. The lipid raft-anchored adaptor protein Cbp controls the oncogenic potential of c-Src. *Mol Cell*. 2008 May 23;30(4):426-36.
4. Oneyama C, Hikita T, Nada S, Okada M. Functional dissection of transformation by c-Src and v-Src. *Genes Cells*. 2008 Jan;13(1):1-12.
5. Yagi R, Waguri S, Sumikawa Y, Nada S, Oneyama C, Itami S, Schmedt C, Uchiyama Y, Okada M. C-terminal Src kinase controls development and maintenance of mouse squamous epithelia. *EMBO J*. 2007 Mar 7;26(5):1234-44.

情報伝達分野

研究グループ	教授	医学博士	高倉 伸幸	ポスドク	医学博士	衣笠 由美
	助教	医学博士	木戸屋 浩康	ポスドク	医学博士	内藤 尚道
				ポスドク	薬学博士	毛利 友美
				ポスドク	医学博士	韓 瑛路

正常組織・臓器／器官の構築においては、組織特異的幹細胞による組織細胞の産生が必須であるが、同時にこの幹細胞を中心とした、組織環境の構築がこれら幹細胞システムを維持していく上では重要である。組織環境の要素として、基本骨格をなすのが血管であり、血管構築がなければほとんどの臓器・器官の形成は阻害される。我々の研究室では、このような正常臓器・器官における血管新生と組織幹細胞の幹細胞性の維持機構についての分子機構を解明し、特に病態形成との関わりにおいては腫瘍に注目して、がん幹細胞の発生／増殖／維持のメカニズムと、それを支持する生態学的適所(ニッチ)を解析し、がんを根治する治療法の開発を行っている。研究は大きく分け以下の2項目により実施している。

I. 正常組織およびがん組織における血管リモデリングの分子機序の解明

- 1) 発芽の血管新生の分子メカニズム (Tie2受容体の活性化、不活性化の分子機構)
- 2) 成体血管幹細胞の同定と血管リモデリング (CD31陽性side populationにおける幹細胞性因子の発現制御)
- 3) 動静脈パターンニングの解明 (ephrinB2/EphB4, apelin/APJ)
- 4) 血管特異的なドラッグデリバリーシステムの構築

II. がん幹細胞および正常組織幹細胞の組織内維持機構の解明

- 1) 幹細胞へのリプログラミング機構の解析
- 2) 幹細胞の分裂を制御するDNA複製因子PSF1およびGalectin-3の機能制御
- 3) がん幹細胞のニッチ領域のバイオイメージング
- 4) がん幹細胞維持にかかわるニッチ構成細胞の同定とニッチの破綻

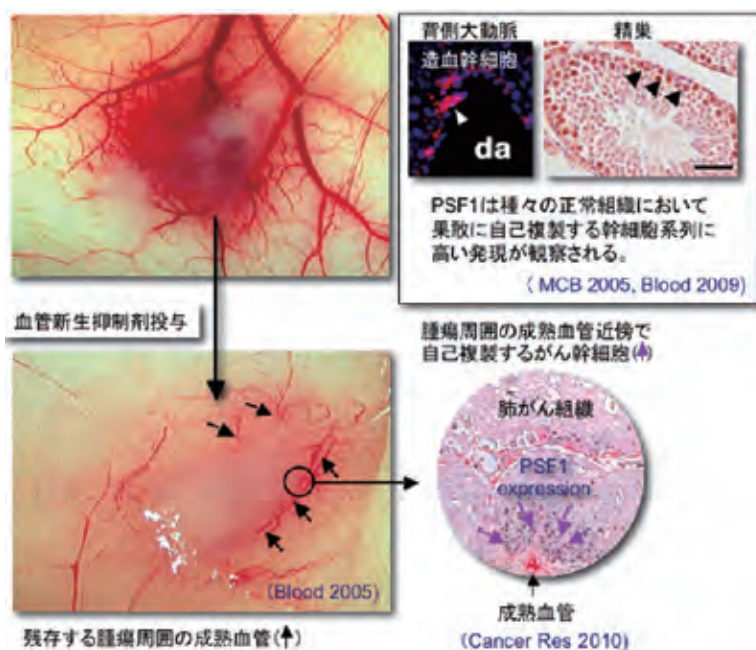


図1: がん幹細胞の血管ニッチ
腫瘍血管新生抑制剤投与により、腫瘍中心部分の血管は退縮しても、腫瘍周囲の成熟血管は残存する(図左)。このような血管領域では、正常組織において自己複製中の幹細胞分画の細胞に共通して発現するDNA複製因子であるPSF1を発現するがん幹細胞が生態学的適所を形成している(図右)。がん根治のためには、血管ニッチにおける、血管の成熟化機構や、がん幹細胞の生存、自己複製機構を解明することが重要である。

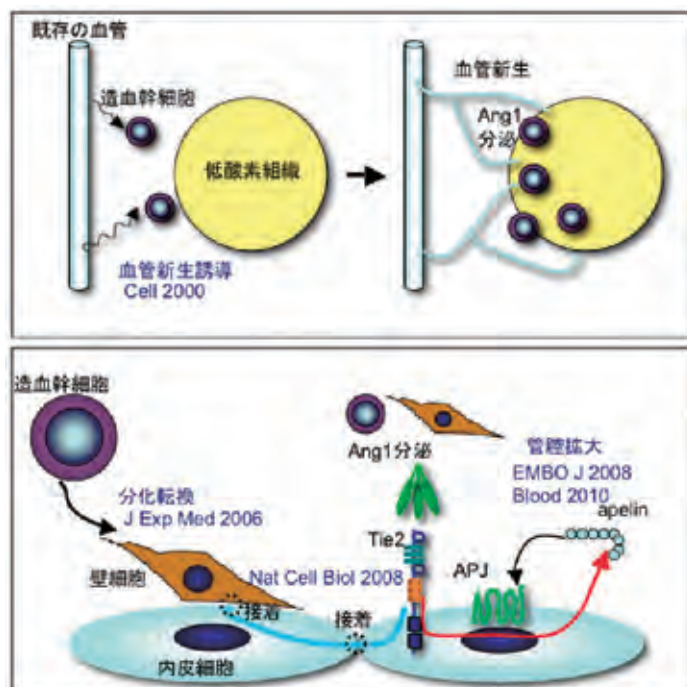


図2：腫瘍周囲の血管の成熟化機構
壁細胞の解離した血管より発芽した内皮細胞は、先に低酸素組織内に侵入した造血幹細胞が分泌するangiopoietin-1 (Ang1)により、増殖や遊走が誘導されて血管新生が進行する(図上)。血管新生を誘導後、一部の造血幹細胞は、壁細胞に分化して血管構造の安定化に寄与するとともに、造血幹細胞や壁細胞の分泌するAng1は内皮細胞にapelinの分泌を促進させ、内皮細胞に発現する7回膜貫通型のGPCRであるapelinの受容体APJを活性化して、内皮細胞の増殖とともに、内皮細胞の集合を誘導して、血管径を拡大させる(図下)。

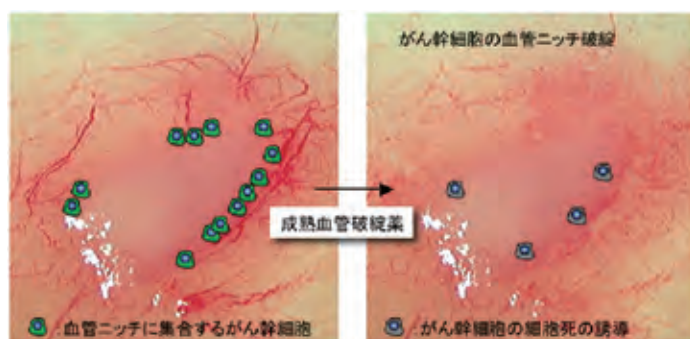


図3：腫瘍周囲の血管ニッチの破綻
血管成熟化の機構を応用して、腫瘍周囲でがん幹細胞の自己複製を支持している成熟血管の破綻を誘導する治療法の開発を行う。本治療法は、根治が困難ながんの治療法の一つとして期待できる。

最近の代表的な論文

1. Kidoya H, Naito H, Takakura N. Apelin induces enlarged and non-leaky blood vessels for functional recovery from ischemia. Blood in press
2. Nagahama Y, Ueno M, Miyamoto S, Morii E, Minami T, Mochizuki N, Saya H, Takakura N. (2010). PSF1, a DNA replication factor expressed widely in stem and progenitor cells, drives tumorigenic and metastatic properties. Cancer Res. 2010 Feb 1;70(3):1215-24.
3. Ueno M, Itoh M, Sugihara K, Asano M, and Takakura N. (2009). Both Alleles of PSF1 are Required for Maintenance of Pool Size of Immature Hematopoietic Cells and Acute Bone Marrow Regeneration. Blood. 2009 Jan 15;113(3):555-62.
4. Kidoya H, Ueno M, Yamada Y, Mochizuki N, Nakata M, Yano T, Fujii R, Takakura N. (2008). Spatial and temporal role of the apelin/APJ system in the caliber size regulation of blood vessels during angiogenesis. EMBO J. 2008 Feb 6;27(3):522-34.
5. Yamada, Y., and Takakura, N. (2006). Physiological pathway of differentiation of hematopoietic stem cell population into mural cells. J Exp Med. 2006 Apr 17;203(4):1055-65.

分子原虫学分野

研究グループ	教授	理学博士	堀井 俊宏
	助教	理学博士	有末 伸子
	助教	医学博士	東岸 任弘
	特任研究員	理学博士	八木 正典

世界人口の約4割がマラリア流行地域に居住し、年間におよそ200万人が死亡するため、マラリアは人類最大の敵と呼ばれている。また、流行地域の全域において、薬剤耐性マラリアが出現しており、マラリア対策が困難になりつつある。従って、ワクチンや抗マラリア薬剤の開発は緊急の研究課題である。当研究分野ではマラリアワクチンの開発を行うとともに、分子細胞生物学的手法を用いて、マラリア原虫の寄生適応戦略の解析を行っている。

(1) 組換えSERA蛋白質によるマラリアワクチンの開発

分子原虫学分野では熱帯熱マラリア原虫のSERA蛋白質の一部を大腸菌で発現させた組換え蛋白質、SE36を用いたマラリアワクチンの実用化研究を推進している。流行地域の研究者との共同研究から、マラリアの高度流行地域住民において自然に獲得されるマラリア免疫は主として血清中に存在する抗SERA-IgG3抗体であることを明らかにした。また、チンパンジーを含む多く動物をSE36で免疫すると、マラリア原虫の増殖を抑制する抗体が誘導されるという結果を得ている。現在、(財)阪大微生物病研究会と共同してSE36試作マラリアワクチンの量産体制を築いた。平成17年より国内においてSE36マラリアワクチンの第Ia相臨床試験を実施し、その安全性と免疫原性が確認された。ワクチン接種を施したボランティアの人では100%の抗体陽転率を示した。現在はアフリカのウガンダにおいて第I相b臨床試験を実施中である。本プロジェクトは (財)阪大微生物病研究会との共同開発プロジェクトとして実施している。

熱帯熱マラリア原虫のSERA蛋白質の機能解析や発現解析、さらにSERA蛋白質に対する宿主の免疫応答などの基礎研究にも勢力を注いでいる。また、三日熱マラリア原虫のワクチン開発にも着手しており、進化系統的な解析からワクチン候補抗原を探索するとともに、ウガンダ、タイ、インドネシア、ソロモン諸島などの流行地域とも共同研究を行い、患者サンプルの解析も行っている。



図1：ウガンダ北部アパッチにある病院の待合室：重症マラリアの子供を連れた母親達。死亡者の大多数が5歳以下の子供

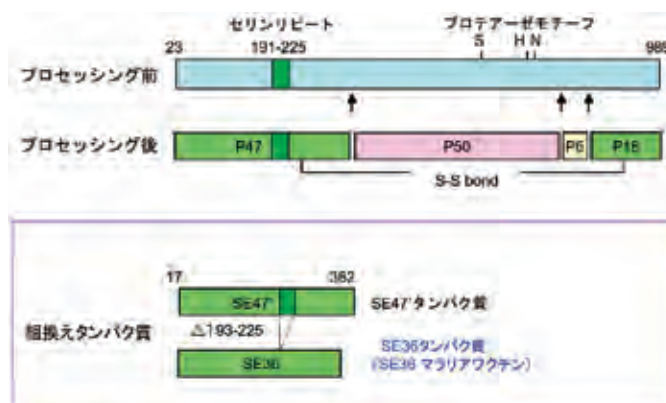


図2：熱帯熱マラリアSERAのプロセッシング断片とSE36蛋白質の構造

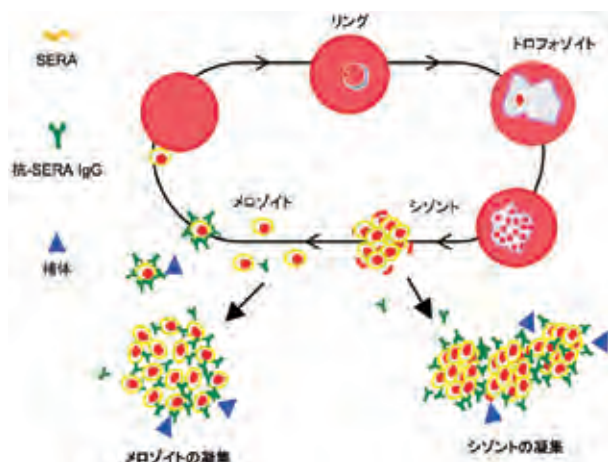


図3：抗SERA-IgGによる赤血球期原虫の増殖阻害



図4：SE36マラリアワクチン治験製剤
(財)阪大微生物病研究会観音寺研究所においてGMP条件を遵守して生産された

2) SERA遺伝子の同定と機能分子、ワクチンターゲット分子の探索

マラリア原虫のSERA遺伝子は複数の遺伝子からなる遺伝子ファミリーを形成している。様々なマラリア原虫からSERA遺伝子を同定し、SERA遺伝子の進化の過程を解析するとともに、発現解析や多型解析により、機能分子やワクチンターゲット分子の探索を行っている。

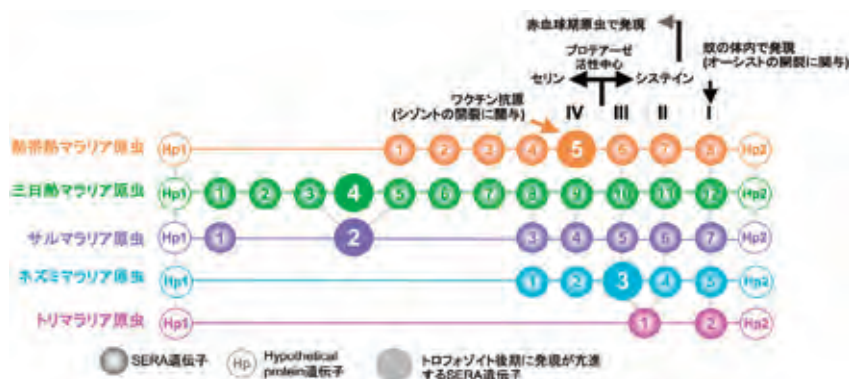


図5：SERA遺伝子ファミリーの構成

最近の代表的な論文

1. Horii T, Shirai H, Jie L, Ishii JK, Palacpac Q N, Tougan T, Hato M, Ohta N, Bobogare A, Arakaki N, Matsumoto Y, Namazue J, Ishikawa T, Ueda S, Takahashi M. Evidences of protection against blood-stage infection of *Plasmodium falciparum* by the novel protein vaccine SE36. Parasitol Int. in press.
2. Kimata-Arigo Y, Saitoh T, Ikegami T, Horii T, Hase T. Molecular interaction of ferredoxin and ferredoxin-NADP+ reductase from human malaria parasite. J Biochem. 2007 Dec;142(6):715-20.
3. Arisue N, Hirai M, Arai M, Matsuoka H, Horii T. Phylogeny and evolution of the SERA multigene family in the genus *Plasmodium*. J Mol Evol. 2007 Jul;65(1):82-91.
4. Palacpac NM, Leung BW, Arisue N, Tanabe K, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M, Udomsangpetch R, Horii T. *Plasmodium vivax* serine repeat antigen (SERA) multigene family exhibits similar expression patterns in independent infections. Mol Biochem Parasitol. 2006 Dec;150(2):353-8.
5. Krungkrai SR, Tokunaka K, Kusakari Y, Inoue T, Adachi H, Matsumura H, Takano K, Murakami S, Mori Y, Kai Y, Krungkrai J, Horii T. Crystallization and preliminary crystallographic analysis of orotidine 5'-monophosphate decarboxylase from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2006 Jun 1;62(Pt 6):542-5.

ウイルス免疫分野

研究グループ	教授	医学博士	生田 和良	ポスドク	医学博士	渡辺 洋平
	准教授	獣医学博士	朝長 啓造	ポスドク	理学博士	井上 雄嗣
	助教	医学博士	黒須 剛	ポスドク	保健学博士	佐々木 正大
				ポスドク	医学博士	安木(上田) 真世
				ポスドク	医学博士	フアン・フェルナンド・アリアス

当分野では、免疫系、呼吸器系、中枢神経系に感染するウイルスやプリオンについて、感染機構から病態解析、その制御法開発、さらには血液製剤に混入したこれら病原体の排除法やウイルス感染症の迅速診断法の開発を行っている。

(1) 免疫系に感染するウイルス

免疫系を標的として、免疫不全を引き起こすHIV感染症、また出血熱を引き起こすデングウイルス感染症について研究を進めている。特に、タイやインドの患者に由来するHIVサブタイプは世界中で最も多くの人が感染しており、その性状解析が急がれている。また、熱帯・亜熱帯地域の最も重要な蚊媒介性のデングウイルス感染症についても、東南アジア臨床分離株の性状について研究している。デングウイルス感染症では、デング出血熱など重症化を招くことも多く、その病態機序の解明から、有効なワクチンや治療薬の開発が望まれている。

(2) 呼吸器系に感染するウイルス

典型的な急性の感染症を引き起こすインフルエンザウイルスについて、ウイルスに対して中和活性を示すヒト型単クローン抗体を作製し、その認識エピトープ領域が高保存性の高次構造を形成する領域であったことから、この高次構造を重視したワクチンの開発を、企業との共同研究として進めている。

(3) 神経系に感染するウイルス

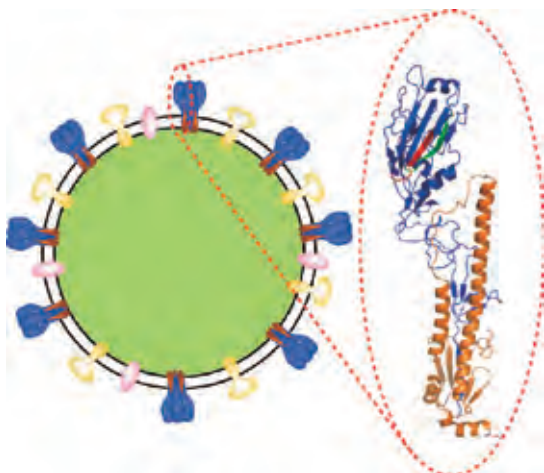
ボルナウイルスは、脳神経細胞に強い親和性を持つRNAウイルスである。ボルナウイルスの特徴は、広範囲な宿主域と細胞核における持続感染である。主に哺乳類に感染性を持つボルナ病ウイルス(BDV)はヒトへの感染も確認されており、機能性精神疾患をはじめとする原因不明の中枢神経系疾患との関連性が示唆されている。当分野では、ボルナウイルスの複製と病原機構に加えて、近年明らかとなった哺乳類ゲノムに存在する内在性ボルナ様N因子EBLNに関する研究を行っている。

(4) 血液製剤を介して感染伝播するウイルス

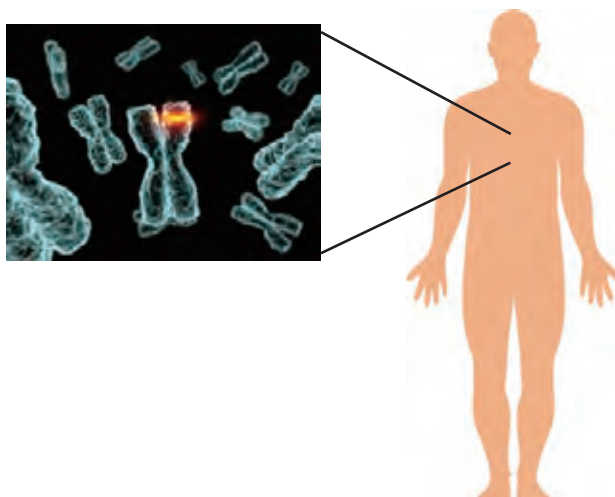
血液や血液製剤の安全性確保のために、これら製剤を介して感染伝播のリスクのあるバルボウイルスB19、SARSコロナウイルス、E型肝炎ウイルス、プリオン等に関する排除法について、企業との共同研究として検討している。

(5) 感染症の迅速診断法の開発

さまざまなウイルス感染症の診断には、蛍光抗体法、ELISA、ウェスタンブロット法などを用いる血清学的手法やPCRを用いる分子的手法が採られている。私たちは、感染症の迅速診断法としての免疫クロマト法によるキット開発を企業との共同研究として行っている。



インフルエンザウイルス A/H3N2 亜型に属するウイルスを広く中和するヒト型単クローン抗体の認識エпитープとして、ウイルス表面タンパク質 HA の高保存領域(赤と緑)を認識していた。同様の高次構造は、H3N2に限らず、他の亜型ウイルスにも存在していたことから、中和抗体を効果的に誘導できる次世代型ワクチン開発に取り組んでいる



ヒトをはじめさまざまな哺乳動物のゲノムにボルナウイルスの N 遺伝子が内在化していた。EBLN と名付けられたこの遺伝子は、霊長類では機能を持つ可能性が示された。

最近の代表的な論文

1. Horie M, Honda T, Suzuki Y, Kobayashi Y, Daito T, Oshida T, Ikuta K, Jem P, Gojobori T, Coffin JM, Tomonaga K. Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes. *Nature*. 2010 Jan 7;463(7277):84-7.
2. Yamashita A, Kawashita N, Kubota-Koketsu R, Inoue Y, Watanabe Y, Ibrahim MS, Ideno S, Yunoki M, Okuno Y, Takagi T, Yasunaga T, Ikuta K. Highly conserved sequences for human neutralization epitope on hemagglutinin of influenza A viruses H3N2, H1N1 and H5N1: Implication for human monoclonal antibody recognition. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Mar 19;393(4):614-8.
3. Watanabe Y, Ohtaki N, Hayashi Y, Ikuta K, Tomonaga K. Autogenous translational regulation of the Borna disease virus negative control factor X from polycistronic mRNA using host RNA helicases. *PLoS Pathog*. 2009 Nov;5(11):e1000654
4. Yunoki M, Kubota-Koketsu R, Urayama T, Sasaki T, Du A, Konoshima Y, Ideno S, Fukunaga Y, Morikawa S, Hiroi S, Takahashi K, Okuno Y, Hagiwara K, Ikuta K. Significant neutralizing activity of human immunoglobulin preparations against pandemic 2009 H1N1. *Br J Haematol*. 2009 Nov 24;143:953-955.
5. Kubota-Koketsu R, Mizuta H, Oshita M, Ideno S, Yunoki M, Kuhara M, Yamamoto N, Okuno Y, Ikuta K. Broad neutralizing human monoclonal antibodies against influenza virus from vaccinated healthy donors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Sep 11;387(1):180-5.

遺伝子機能解析分野

研究グループ	教授(兼)	薬学博士	岡部 勝	助教	医学博士	蓮輪 英毅
	准教授	理学博士	三輪 岳志	助教	薬学博士	井上 直和
	准教授(兼)	薬学博士	伊川 正人	助教(兼)	薬学博士	磯谷 綾子
				特任助教(兼)	生命科学博士	佐藤 裕公

ヒトやマウスのゲノムプロジェクトが一応の完了を迎えた現在では、人工的に遺伝子进行操作した遺伝子組換え動物が、疾病の研究や基礎的な生物学研究に重要な役割を果たすようになっている。我々は個体レベルでの遺伝子機能解析ツールを開発して生殖生物学分野での研究を行うとともに、遺伝子組換え動物の作製支援を行っている。

研究内容

我々は世界に先駆けて発光オワンクラゲのGFP遺伝子を組み込んだ蛍光マウスを作製するとともに、それを用いて受精が成立するメカニズムや生殖細胞における性の分化機構を研究している(図1)(3)。また受精や着床妊娠という現象を自他認識という立場から捉え、分子生物学的に解明しようとしている。これまでに精子上にあるタンパク質IZUMO1が卵子との融合に必須であること、SPESP1が融合に必須な膜構造の安定化に重要であることをそれぞれのノックアウトマウスの解析から明らかにした(図2、3)(1、2)。

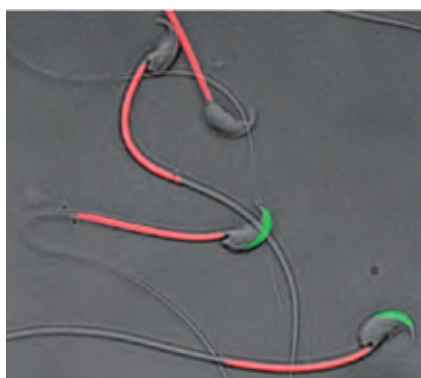


図1) マウス精子の頭部にGFP、中間部にRFPの遺伝子が発現するトランスジェニックマウス。このマウスの精子を用いることにより、受精のライブイメージングが可能となる(3)。



図2) Izumo1 をノックアウトしたマウス精子は透明帯を通過して卵細胞内に侵入できるが、卵子に融合できない(1)。

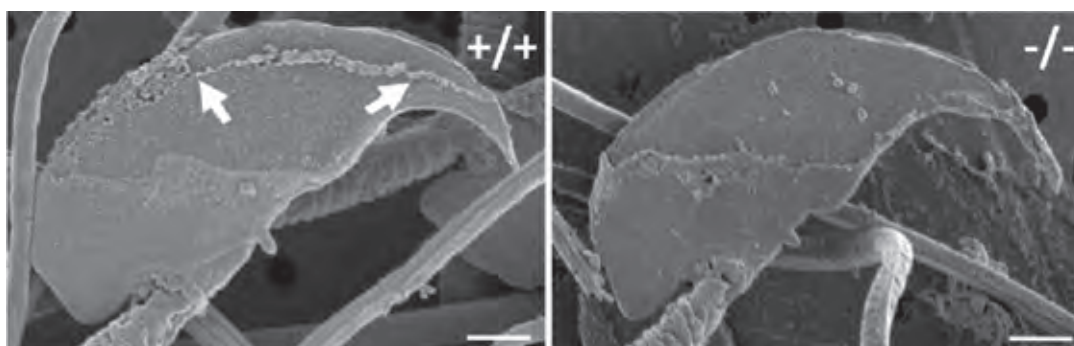


図3) Spesp1ノックアウトマウスの精子は融合に重要な膜構造であるエカトリアルセグメントが不安定であるため、先体反応後に崩壊する(右図)(2)。

さらに胎児を母体と結びつける胎盤に着目して研究を進め、胎児に遺伝子を導入することなく胎盤に対してのみ遺伝子操作できる方法を開発した(図4)。最近是非coding RNAの持つ生体機能の調節作用にも着目しており、miRNA欠損マウスを作製し個体レベルでどのような影響を与えうるのかについて検討している。

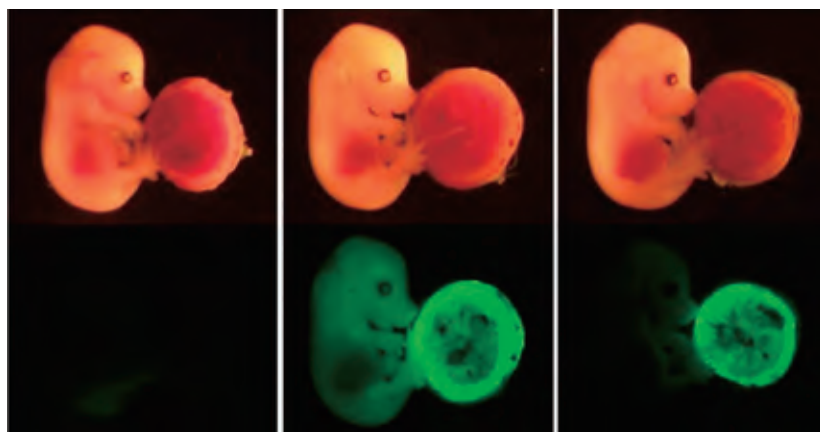


図4) レンチウイルスベクターを胚盤胞に感染させれば胎盤特異的に遺伝子を導入できる。左: 未感染、中央: 2細胞期に感染させた場合、右: 胚盤胞期に感染させた場合 (4)。

研究支援

感染動物実験施設と共同して、学内のみならず広く学外にも遺伝子組換え動物の作製支援を行っている。ノックアウトマウス、トランスジェニックマウスはそれぞれ100、300ラインを超える作製実績がある (<http://kumikae01.gen-info.osaka-u.ac.jp/EGR/index.cfm>)。さらに遺伝子組換え動物を重要な研究資源として保存する目的で、受精卵や精子の凍結保存の作製支援も行っている。

三輪グループはヒト循環器系疾患に関与する遺伝子の分子生物学的解析を遺伝子組換え実験動物等を利用して行っている。血管平滑筋細胞における組織特異的遺伝子発現調節機構の解析をヒト血管平滑筋アクチン (SmaA) に関して行うとともに (図5)、急性炎症時に一過的に強発現する遺伝子マーカーであるSmaAの発現機構とその発現の意義を解析している (5)。また、拡張心不全動物モデルラットを作製し、その発症メカニズムを分子生物学的に解析している。

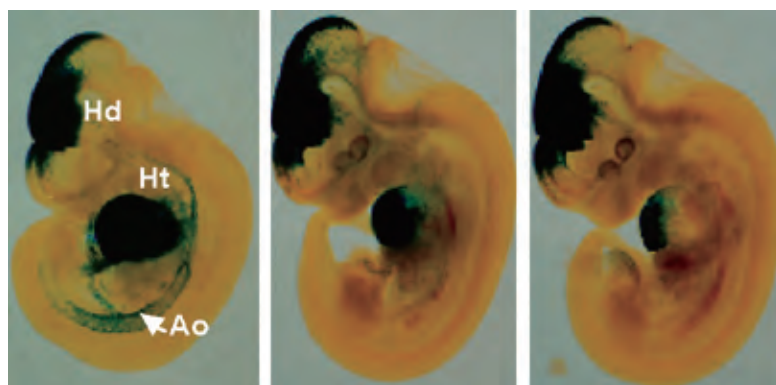


図5) 血管平滑筋アクチン遺伝子プロモーターに塩基変異を持つもの (中央と右) は正常 (左) に対してマウス胎児で大動脈 (Ao) での発現のみが阻害されるので、これらの塩基配列が血管組織特異的遺伝子発現に必須である (5)。

最近の代表的な論文

1. Inoue N, Kasahara T, Ikawa M, Okabe M. Identification and disruption of sperm-specific angiotensin converting enzyme-3 (ACE3) in mouse. PLoS ONE. 2010. 5, e10301.
2. Fujihara Y, Murakami M, Inoue N, Satouh Y, Kaseda K, Ikawa M, Okabe M. Sperm equatorial segment protein 1, SPESP1, is required for fully fertile sperm in mouse. J Cell Sci. 2010. 123, 1531-1536.
3. Hasuwa H, Muro Y, Ikawa M, Kato N, Tsujimoto Y, Okabe M. Transgenic mouse sperm that have green acrosome and red mitochondria allow visualization of sperm and their acrosome reaction in vivo. Exp Anim. 2010. 59,105-107.
4. Okada Y, Ueshin Y, Isotani A, Saito-Fujita T, Nakashima H, Kimura K, Mizoguchi A, Oh-hora M, Mori Y, Oagata M, Oshima RG, Okabe M, Ikawa M. Complementation of placental defects and embryonic lethality by trophoblast-specific lentiviral gene transfer. Nat Biotechnol. 2007. 25, 233-237.
5. Takeji M, Moriyama T, Oseto S, Kawada N, Hori M, Imai E, Miwa T. Smooth muscle α -actin deficiency in myofibroblasts leads to enhanced renal tissue fibrosis. J Biol Chem. 2006. 281,40193-40200.

ゲノム情報解析分野

研究グループ	教授	理学博士	安永 照雄	助教(兼)	薬学博士	川下 理日人
	教授(兼)	薬学博士	高木 達也	特任研究員	理学修士	U. Chandimal de Silva
	助教	理学博士	後藤 直久			

当分野では、大型計算機を駆使し、大量の遺伝子・ゲノム情報に対する大規模かつ網羅的な解析から生命現象や生物の進化の解明を目指す研究を行っている。また、バイオインフォマティクスや分子生物学用のソフトウェアの開発を行っている。さらに、ゲノム情報解析用コンピュータシステムを運用し、学内の遺伝子・ゲノム関係研究者に計算機資源を提供するとともに、ゲノム情報解析やコンピュータシステムの利用方法についての教育研修を行っている。

(1) 大規模ゲノム情報解析

現在までに数多くの生物種のゲノム配列が決定されているが、これらのゲノム配列やそれに付随する情報について、バイオインフォマティクスや分子進化学など様々な手法を駆使した網羅的な解析を行っている。同時に、大規模ゲノム情報解析に必要なソフトウェアや解析アルゴリズムの研究開発を行っている。我々は保存配列決定ソフトウェアCONSERVを開発し、細菌からヒトに至る様々な生物266種のゲノム配列の解析から、ほとんどすべての生物のゲノムに保存されている不変配列を見出した(Goto et al. 2007)(図1)。また、インフルエンザウイルスの進化を網羅的なゲノム配列解析で追っている(図2)。

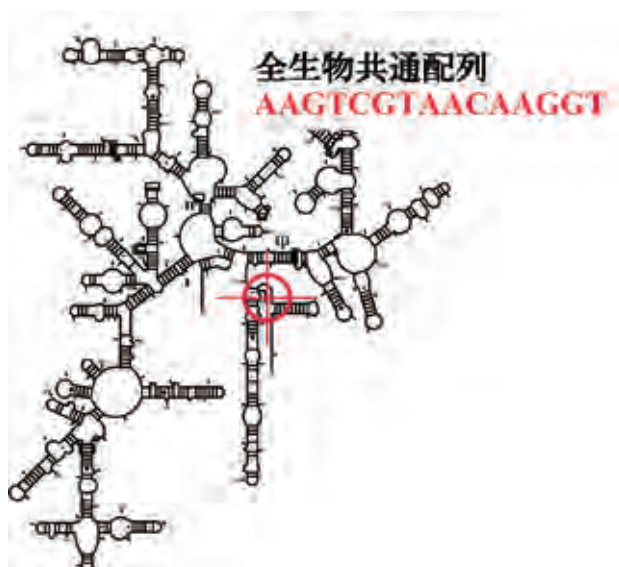


図1：266種のゲノム配列解析により明らかとなった全生物のゲノムの保存配列

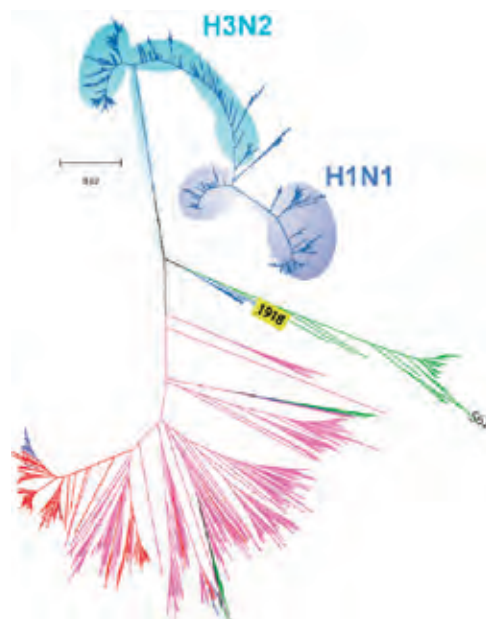


図2：インフルエンザウイルスゲノムの網羅的な情報解析

(2) 次世代シーケンサーによるゲノム情報解析

近年実用化された次世代シーケンサーでは、微生物なら1生物のゲノム全体を決めることも可能なほど大量の塩基配列を一度に決定することができる。当研究室は次世代シーケンサーが出力する膨大なデータ量のゲノム情報解析に対応すべく、解析ソフトウェアの開発および解析システムの構築を行っている。構築した解析システムを用いて、病原微生物など様々な生物の新規ゲノム配列決定や比較ゲノム解析を微生物病研究所内や学内外の各研究室と共同で行っている(図3)。

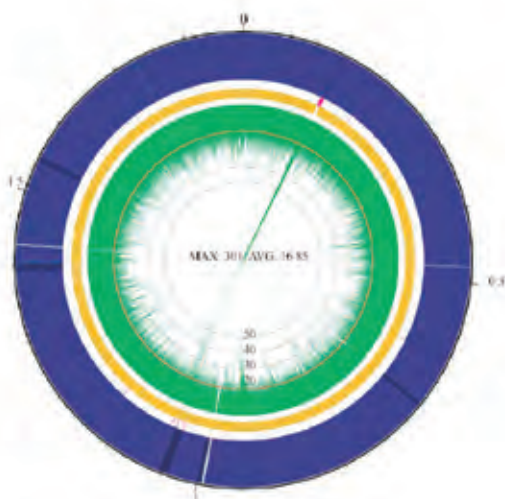


図3：次世代シーケンサーによるゲノム解析。1回のシーケンシングでゲノムのほぼ全領域を解読することが可能。



図4：遺伝情報実験センター計算機システム

(3) 学内共同利用のゲノム情報解析用コンピュータシステムの運用

ゲノム情報解析用のコンピュータシステムを運用し、学内の利用者へ提供している。本システムでは、遺伝情報解析に必須の世界中に公開されている様々なデータベースを入手し、常に最新の状態に自動的に保たれるよう維持管理しながら利用者に提供している。

最近の代表的な論文

1. Yamashita A, Kawashita N, Kubota-Koketsu R, Inoue Y, Watanabe Y, Ibrahim MS, Ideno S, Yunoki M, Okuno Y, Takagi T, Yasunaga T, Ikuta K. Highly conserved sequences for human neutralization epitope on hemagglutinin of influenza A viruses H3N2, H1N1 and H5N1: Implication for human monoclonal antibody recognition. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Mar 19;393(4):614-8.
2. Nakamura S, Yang CS, Sakon N, Ueda M, Tougan T, Yamashita A, Goto N, Takahashi K, Yasunaga T, Ikuta K, Mizutani T, Okamoto Y, Tagami M, Morita R, Maeda N, Kawai J, Hayashizaki Y, Nagai Y, Horii T, Iida T, Nakaya T. Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach. *PLoS One*. 2009;4(1):e4219.
3. Yamashita A, Goto N, Nishiguchi S, Shimada K, Yamanishi H, Yasunaga T. Computational search for over-represented 8-mers within the 5'-regulatory regions of 634 mouse testis-specific genes. *Gene*. 2008 Dec 31;427(1-2):93-8.
4. Yoshida M, Yamashita A, Idoji Y, Nishiguchi S, Shimada K, Yasunaga T, Yamanishi H. In silico study of a novel gene evolved from an ancestral SVIP gene and highly expressed in the adult mouse testes. *Int J Mol Med*. 2008 Aug;22(2):143-8.
5. Goto N, Kurokawa K, Yasunaga T. Analysis of invariant sequences in 266 complete genomes. *Gene*. 2007 Oct 15;401(1-2):172-80.

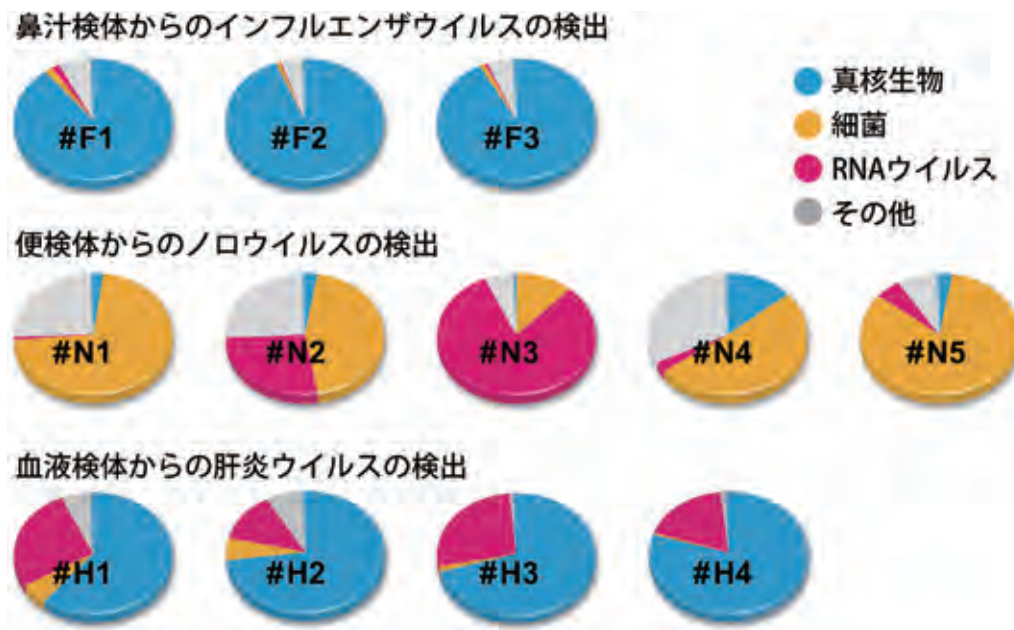


図2：ウイルス感染例で検出された生物種の分布

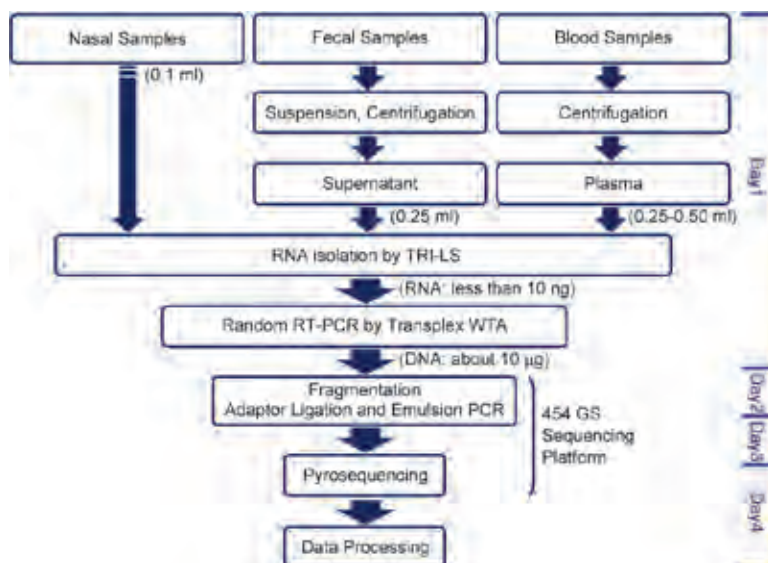


図3：RAPIDの標準プロトコル



図4：次世代シーケンサー 454 GS Junior System

最近の代表的な論文

1. Nakamura S, Yang CS, Sakon N, Ueda M, Tougan T, Yamashita A, Goto N, Takahashi K, Yasunaga T, Ikuta K, Mizutani T, Okamoto Y, Tagami M, Morita R, Maeda N, Kawai J, Hayashizaki Y, Nagai Y, Horii T, Iida T, Nakaya T. Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach. PLoS One. 2009;4(1):e4219.
2. Nakamura S, Maeda N, Miron IM, Yoh M, Izutsu K, Kataoka C, Honda T, Yasunaga T, Nakaya T, Kawai J, Hayashizaki Y, Horii T, Iida T. Metagenomic diagnosis of bacterial infections. Emerg Infect Dis. 2008 Nov;14(11):1784-6.

臨床感染症学研究グループ

研究グループ	特任教授	医学博士	大石 和徳	特任研究員	生物学博士	中山 達哉
	特任講師	医学博士	明田 幸宏	特任研究員	医学博士	Zhenyu Piao
				技術補佐員		服部 裕美

当研究グループでは、1)肺炎、侵襲性細菌感染症の疫学と病態、ワクチンによる予防、2)デングの病態、3)病原細菌のタンパク質分泌メカニズムに関する研究を主要な研究テーマとしています。また、当研究グループは世界保健機関(WHO)/ Global outbreak alert & response network (GOARN)のメンバーとして登録しており、新興・再興感染症アウトブレイク対策に貢献します。

1) 肺炎、侵襲性細菌感染症の病態と予防ワクチン

1. タイにおける肺炎研究

我々は文部科学省「新興・再興感染症拠点形成プログラム」の研究の一環として、タイ拠点での新興呼吸器感染症の監視と二次性肺炎発症機構の解析を実施してきた。本研究の内容は、ウイルス感染に伴って気道上皮細胞上の肺炎球菌レセプターの発現増強と、細菌の定着や増殖が促進されるというこれまで実験的に確立されてきたウイルス-宿主-細菌相互応答の概念を小児肺炎患者の生体内で検証した。また、成人については平成21年度にPhitsanulok県のBuddachinaraj病院において成人のpandemic A/H1N1 influenza関連重症市中肺炎24症例の臨床像を検討した。

2. 肺炎球菌ワクチンの臨床応用と新規ワクチンの開発

a) 23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン(PPV)の臨床試験

我々はこれまでに、PPVとインフルエンザワクチンとの併用接種が慢性閉塞性肺疾患患者の急性増悪の頻度を減少させる効果があることを明らかにした(Vaccine, 2008)。また、我々は786名の65歳以上の成人を対象としたオープンラベル無作為比較研究において、PPVとインフルエンザワクチンとの併用接種が75歳以上の成人において有意に肺炎による入院頻度と医療費を有意に減少させることを明らかにした。さらに、我々は平成19年度から21年度まで高齢者介護施設入所者を対象とした肺炎球菌ワクチン接種事業(厚生労働省)を実施してきた。これらの臨床研究から、我々は日本独自のPPV接種による効果のエビデンスを提示することにより、23価PPVの高齢者に対する定期予防接種化(二類疾病)の実現を目指している。なお、平成21年10月に23価PPVの再接種が承認された。

一方、本邦でも小児を対象とした7価コンジュゲートワクチン(CV)が平成21年10月に承認され、小児科医の侵襲性肺炎球菌感染症(敗血症、髄膜炎)の予防に対する関心が高まっている。このような背景から、我々は血清中の血清型特異IgG抗体濃度とオプソニン(OPK)活性の測定依頼に対し、速やかに報告する体制を整備している。また、我が国では成人における侵襲性肺炎球菌感染症、肺炎の実態も未だ不明である。23価PPV、7価CVの臨床効果の検証には、血清免疫学的裏付けが不可欠である。

b) 次世代肺炎球菌経鼻粘膜ワクチンの開発

Pneumococcal surface protein A(PspA)はすべての肺炎球菌表層に存在するコリン結合蛋白質で、PspA接種により誘導された特異抗体は異なる血清型の肺炎球菌に対して交叉防御活性を誘導する。これまでに、PspAとTLR agonistの併用による経鼻粘膜ワクチンで、肺炎モデルにおける菌クリアランス効果を明らかにした(Vaccine, 2009)。また、PspA経鼻粘膜ワクチン接種はインフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎モデルにおいても有効であることを明らかにしている。

3. タイで流行するブタ連鎖球菌感染症の研究

ブタ連鎖球菌(*Streptococcus suis*)は重要な人獣共通感染菌であり、感染したブタに曝露されたり生豚を摂食した人に髄膜炎をはじめとする侵襲性感染症を発症する。とりわけ、北タイでは生豚やその生血を摂食する伝統習慣があり、近年症例報告が急増している。これまでに、我々はタイにおける血清型2による本症の臨床像と本菌のゲノタイプとの関連性を明らかにし、世界的にも報告が少なかった血清型14株のタイ国内におけるクローナルな拡散を明らかにした(図1)。また、我々は現在、阪大微研のタイ拠点プロジェクトとして、タイパヤオ県における臨床疫学研究を展開中である。

2) デングウイルス感染症における血小板減少機序

デングは熱帯地における重要な公衆衛生上の問題である。過去10年間のフィリピンにおけるデング二次感染症の臨床研究の過程から、我々は*ex vivo*の系で患者由来の血小板のマクロファージによる貪食クリアランスが急性期に一致して亢進する所見を報告した(AJTMH, 2009)。しかしながら、最近実施した高用量ヒト免疫グロブリン療法はデング患者の末梢血小板数に影響しなかったことから(AJTMH,2007)、本症のマクロファージを介した血小板クリアランス機序にはFcγレセプターは関与しないことが示唆された。現在、本症における血小板の貪食クリアランスの機序が明らかになりつつある。

3) 病原細菌のタンパク質分泌メカニズムに関する研究

細菌感染の成立には、病原細菌の産生する種々の病原因子が大きな役割を担っているが、それら病原因子の多くは主に細菌から分泌されるタンパク質である。そのため病原細菌タンパク質分泌機構や分泌タンパク質の機能を解析することは病原細菌の感染メカニズムを理解する上で重要である。当研究室では食中毒原因菌である腸炎ビブリオや呼吸器感染症原因菌である肺炎球菌の持つタンパク質分泌装置やそれらによって分泌される病原因子の機能について研究をおこなっている。

4) 新興・再興感染症対策

WHOは新興・再興感染症アウトブレイクへの対応過程に原因究明をする国際的な情報ネットワークとして、GOARNを、技術や人材を支援できる既存の研究施設を中心に構築している。GOARNの目的は、感染症の国際的拡散の防止、迅速かつ適切な技術支援の提供、長期間の感染流行に対する備えと能力構築に貢献することである。当研究グループはGOARNメンバーに登録しており、途上国における感染症アウトブレイク発生時の疫学調査、感染コントロールに協力する。

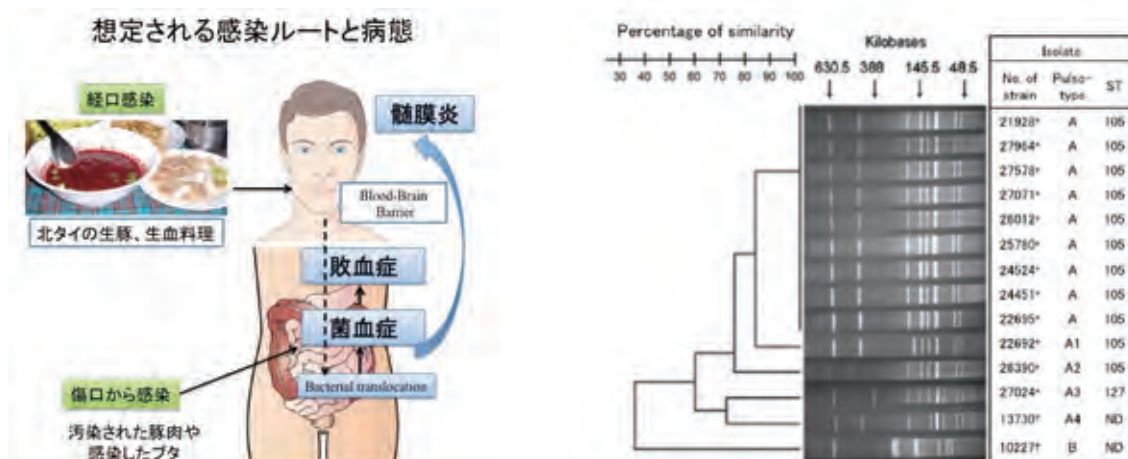


図1：タイにおけるブタ連鎖球菌感染症の感染ルートと病態と血清型14のクローナルな伝播(J Med Microbiol, 2009)

最近の代表的な論文

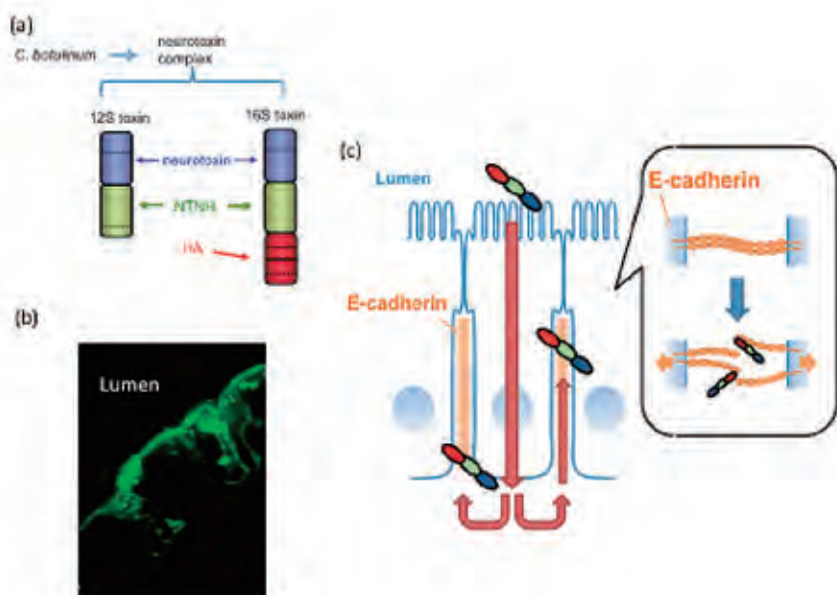
1. Kerdsin A, Oishi K, Sripakdee S, Boonkerd N, Polwichai P, Nakamura S, Uchida R, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S. Clonal Dissemination of *Streptococcus suis* serotype 14 in Thailand. J Med Microbiol. 2009 Nov;58(Pt 11):1508-13.
2. Honda S, Saito M, EM Dimaano, Morales PA, Alonzo MTG, Suarez LC, Koike N, Inoue S, Kumatori A, Matias RR, Natividad FF, Oishi K. Increased platelet phagocytosis from patients with secondary dengue virus Infection by human macrophages. Am J Trop Med Hyg. 2009 May;80(5):841-5.
3. Akeda Y, Okayama K, Kimura T, Dryselius R, Kodama T, Oishi K, Iida T, Honda T. Identification and characterization of a type III secretion-associated chaperone in the type III secretion 1 of *Vibrio parahaemolyticus*. FEMS Microbiol Lett. 2009 Jul;296(1):18-25.
4. Oma K, Zhao J, Ezoe H, Akeda Y, Koyama S, Ishii KJ, Kataoka K, Oishi K. Intranasal immunization with a mixture of PspA and a Toll-like receptor agonist induces specific antibodies and enhances bacterial clearance in the airways of mice. Vaccine. 2009 May 21;27(24):3181-8.
5. Chen M, Ssali F, Mulungi M, Awio P, Yoshimine H, Kuroki R, Furumoto A, Tanimura S, Kityo C, Nagatake T, Mugenyi P, Oishi K. Induction of opsonophagocytic killing activity with pneumococcal conjugate vaccine in human immunodeficiency virus-infected Ugandan adults. Vaccine. 2008 Sep 8;26(38):4962-8.
6. Furumoto A, Ohkusa Y, Chen M, Kawakami K, Masaki H, Sueyasu Y, Iwanaga T, Aizawa H, Nagatake T, Oishi K. Additive effect of pneumococcal vaccine and influenza vaccine on acute exacerbation in patients with chronic lung disease. Vaccine. 2008 Aug 5;26(33):4284-9.

感染細胞生物学研究グループ

研究グループ

特任准教授	医学博士	藤永 由佳子
特任研究員	バイオサイエンス博士	菅原 庸
ポスドク	医学博士	松村 拓大

当研究グループは細菌毒素と宿主細胞の相互作用を研究対象としている。多くの細菌毒素は微量で宿主に致死など大きな影響を与えるという特徴を持つ。細菌毒素がこのような強力な作用を発揮できる理由の一つとして一般的に考えられているのは、多くの細菌毒素が微量でも宿主の機能分子に特異的に作用する酵素であるということである。もう一つ重要な細菌毒素の特質として、作用する基質に効率よく到達する機構すなわち巧妙な輸送機構をもつ場合が多いことが挙げられる。その輸送機構は、もともと細胞が基本的・生理的にもっている膜輸送系やオルガネラの機能をうまく利用している場合が多い。従って細菌毒素の輸送経路の研究は、毒素による病態発現機構の解明という意義に加えて、従来知られていなかった宿主細胞の基本的で重要な生理的機能を明らかにできる可能性も秘めている。このような研究は外来病原因子の侵入に対する宿主の防御システムを理解し制御する上でも重要である。現在当研究グループでは、腸管上皮細胞バリアを通過してボツリヌス食中毒を引き起こすボツリヌス神経毒素複合体の輸送経路の解明を中心として研究を展開している。



(a) ボツリヌス神経毒素は無毒成分(HA、NTNH)との複合体(12S、16S毒素)としてボツリヌス菌より産生される。これらの毒素は腸管から体内へ吸収されてボツリヌス症を引き起こす。

(b) 毒素複合体(16S毒素、緑色)がマウス腸管管腔(lumen)側から腸管上皮バリアを通過して体内へ侵入する様子。

(c)その後、毒素複合体(HA成分)は腸管上皮細胞の細胞間接着を担うE-カドヘリンと結合することにより、上皮細胞間バリアを破壊する。本作用によりさらに多くの毒素複合体が体内に侵入すると考えられる。

最近の代表的な論文

1. Sugawara Y, Matsumura T, Takegahara Y, Jin Y, Tsukasaki Y, Takeichi M, Fujinaga Y. Botulinum HA disrupts the intercellular epithelial barrier by directly binding E-cadherin. J Cell Biol 2010., (in press)
2. Jin Y¹, Takegahara Y¹, Sugawara Y, Matsumura T, Fujinaga Y. Disruption of the epithelial barrier by botulinum hemagglutinin (HA) proteins - Differences in cell tropism and the mechanism of action between HA proteins of types A or B, and HA proteins of type C. Microbiology. 2009 Jan; 155(Pt 1): 35-45. ¹ These authors are contributed equally.
3. Matsumura T, Jin Y, Kabumoto Y, Takegahara Y, Oguma K, Lencer WI, Fujinaga Y. The HA proteins of botulinum toxin disrupt intestinal epithelial intercellular junctions to increase toxin absorption. Cell Microbiol. 2008 Feb; 10(2): 355-364.
4. Matsumura T¹, Fujinaga Y¹, Jin Y, Kabumoto Y, Oguma K. Human milk SIgA binds to botulinum type B 16S toxin and limits toxin adherence on T84 cells. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Jan 26; 352(4): 867-872.
5. Fujinaga Y. Transport of bacterial toxins into target cells: Pathways followed by cholera toxin and botulinum progenitor toxin. J Biochem. 2006 Aug; 140(2): 155-160.

ウイルス研究グループ

研究グループ

特任准教授 理学博士 中屋 隆明
特任研究員 獣医学博士 大道寺 智

◆ インフルエンザウイルス病原性の分子メカニズムの解明

現在流行している高病原性トリインフルエンザウイルス(H5N1)の病原性については、感染組織への直接的傷害の他に、レセプターの認識性、炎症性サイトカインの異常亢進、多臓器への感染拡大、など種々の要因の複合的関与が指摘されている。さらに2009年新型インフルエンザウイルス(H1N1pdm)の病原性についても未だ不明な点が多く、ウイルスゲノム変異に伴う強毒性が危惧されている。

本研究室ではウイルス外被タンパク質である“HA”に焦点を絞り、HAの遺伝子型(アミノ酸変異)とウイルス侵入過程および細胞傷害性との関連性について、呼吸器上皮細胞を用いた解析を行っている。加えて、各種組換えウイルスを作製して、マウス感染試験を行い(微研BSL3施設)、ウイルス宿主域および病原性とin vitro感染試験で得られた知見との集約化を試みている。このように、ウイルス(HA)遺伝子の「多様性・遺伝子型」と「宿主域」ならびに「病原性」の関連性について研究することにより、インフルエンザウイルスのダイナミズムの分子機構を理解することを目指している。

臨床検体のメタゲノム解析



◆ ヒト臨床検体中ウイルスのメタゲノム解析 [@感染症メタゲノム研究分野:共同研究プロジェクト]

超並列型(次世代)シーケンサーを用い、いかなる病原ウイルスであっても同一のプロトコルで、迅速かつ網羅的に同定することのできる新規病原体の同定システムを開発し、種々の病原ウイルスの検出を試みている。加えて、同システムを用いて、インフルエンザウイルス検体中のメタゲノム解析を行い、(上図参照)ウイルスゲノムの多様性(病原性との関連)および他の病原体との共感染について検討している。

最近の代表的な論文

1. Daidoji T, Kaihatsu K, Nakaya T. The role of apoptosis in influenza virus pathogenesis and the mechanisms involved in anti-influenza therapies. Curr Chem Biol [Review, in press]
2. Ueda M, Daidoji T, Du A, Yang C-S, Ibrahim M-S, Ikuta K, Nakaya T. Highly pathogenic H5N1 avian influenza virus induces extracellular Ca²⁺ influx, leading to apoptosis in avian cells. J Virol. 2010 84(6):3068-78.
3. Nakamura S, Yang C-S, Sakon N, Ueda M, Tougan T, Yamashita A, Goto N, Takahashi K, Yasunaga T, Ikuta K, Mizutani T, Okamoto Y, Tagami M, Morita R, Maeda N, Kawai J, Hayashizaki Y, Nagai Y, Horii T, Iida T, Nakaya T. Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach. PLoS ONE. 2009 4(1):e4219.
4. Du A, Daidoji T, Koma T, Ibrahim M-S, Nakamura S, de Silva U-C, Ueda M, Yang C-S, Yasunaga T, Ikuta K, Nakaya T. Detection of circulating Asian H5N1 viruses by a newly established monoclonal antibody. Biochem Biophys Res Commun. 2009 378(2):197-202.
5. Daidoji T, Koma T, Du A, Yang C-S, Ueda M, Ikuta K, Nakaya T. H5N1 avian influenza virus induces apoptotic cell death in mammalian airway epithelial cells. J Virol. 2008 82(22): 11294-307.

ゲノム病原細菌学研究グループ

研究グループ

特任教授 医学博士 飯田 哲也
 特任研究員 理学博士 井筒 香織
 特任研究員 薬学博士 松田 重輝

特任研究員 医学博士 岡田 奈津実
 特任研究員 医学博士 日吉 大貴

当研究グループでは、ヒトに病気を起こす細菌についてゲノムのアプローチにより研究を行っている。

1. 病原細菌の感染・発病メカニズムの研究

病原細菌、特に私たちが全ゲノム配列を決定した腸炎ビブリオの感染・発病メカニズムの全貌を分子レベルで解明する。その際、病原体のある特定の病原因子（たとえば毒素）の解析だけにとどまらず、マイクロアレイ解析やインフォマティクスを駆使し、ゲノム中の全遺伝子の動きを俯瞰することにより、病原体が宿主と相互作用する際の病原体の遺伝子発現のダイナミズムを明らかにしていく。このようなアプローチにより、個々の遺伝子・蛋白だけにこだわるのではない、全ゲノム情報を活用した新しい病原細菌学・生物学を目指す。また、得られる成果に基づいた新規な治療法や予防法、迅速診断法や簡易検査法の開発も常に視野に入れていく。

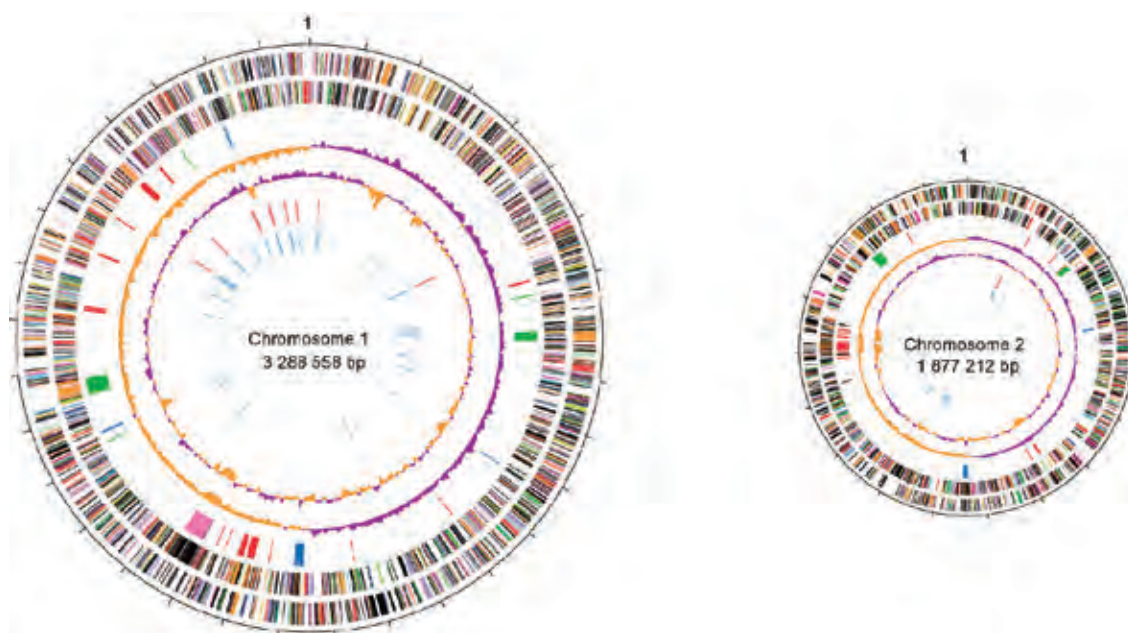


図1：病原細菌のゲノム解析。腸炎ビブリオの全ゲノム配列を決定した。腸炎ビブリオをはじめとするビブリオ属細菌のゲノムは2個の環状染色体よりなることを明らかにした。

2. エマージング感染症の出現メカニズムの研究

現在、感染症に関して世界的に注目されている問題のひとつはエマージング感染症の出現である。新たな感染症が出現してくる原因には社会的・経済的な要因とともに、病原体そのものの変化が考えられる。エマージング感染症の出現メカニズムについて分子レベルで解明された例は病原細菌においてはまだほとんどなく、これを明らかにしていくことは今後の新規なエマージング感染症の出現に備えるために重要である。私たちはエマージング感染症の出現メカニズム解析の端緒として、近年世界的レベルで流行をみせている腸炎ビブリオの新型流行株が従来の菌株とどのように違うのかをゲノム情報をもとに解析を行っている。

3. 生き物としての病原細菌

病原細菌の研究においては、細菌が病気を起こすという側面が特に注目される。しかしながらひとつの生き物として見た場合、宿主との相互作用についての知見やゲノムについての情報が高度に蓄積されている分、病原細菌は魅力的な研究材料であるといえる。たとえば、腸炎ビブリオはIII型分泌装置をもつ。III型分泌装置は細菌が真核細胞と密接に相互作用をするための細菌側の装置である。人体は腸炎ビブリオの本来の棲息環境ではないから、腸炎ビブリオは本来の棲息環境(海洋)でIII型分泌装置を使ってなんらかの真核生物と密接な相互作用をしていることが予想される。このように、これまでおもに病原性研究の観点から蓄積されてきた知見を糸口に、病原細菌の自然環境における生活環を明らかにしていきたい。

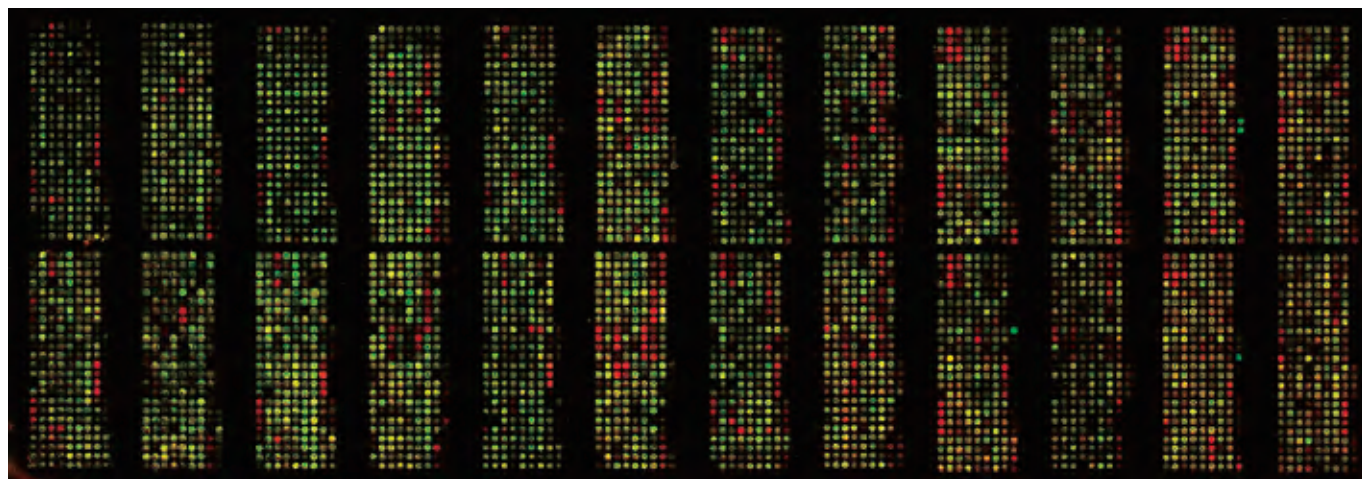


図2：DNAマイクロアレイによる病原細菌の遺伝子レパートリーの解析。

4. ゲノム情報に基づく細菌感染症の迅速診断法の開発

細菌感染症の迅速診断法の開発を目指した大規模塩基配列解析による病原細菌の迅速同定システムの構築を行っている。

最近の代表的な論文

1. Kodama T, Gotoh K, Hiyoshi H, Morita M, Izutsu K, Akeda Y, Park KS, Cantarelli VV, Dryselius R, Iida T, Honda T. Two regulators of *Vibrio parahaemolyticus* play important roles in enterotoxicity by controlling the expression of genes in the Vp-PAI region. PLoS One. 2010 Jan 13;5(1):e8678.
2. Okada N, Iida T, Park KS, Goto N, Yasunaga T, Hiyoshi H, Matsuda S, Kodama T, Honda T. Identification and characterization of a novel type III secretion system in *trh*-positive *Vibrio parahaemolyticus* strain TH3996 reveal genetic lineage and diversity of pathogenic machinery beyond the species level. Infect Immun. 2009 Feb;77(2):904-13.
3. Dryselius R, Izutsu K, Honda T, Iida T. Differential replication dynamics for large and small *Vibrio* chromosomes affect gene dosage, expression and location. BMC Genomics. 2008 Nov 26;9:559.
4. Nakamura S, Maeda N, Miron IM, Yoh M, Izutsu K, Kataoka C, Honda T, Yasunaga T, Nakaya T, Kawai J, Hayashizaki Y, Horii T, Iida T. Metagenomic diagnosis of bacterial infections. Emerg Infect Dis. 2008 Nov;14(11):1784-6.
5. Kodama T, Rokuda M, Park KS, Cantarelli VV, Matsuda S, Iida T, Honda T. Identification and characterization of VopT, a novel ADP-ribosyltransferase effector protein secreted via the *Vibrio parahaemolyticus* type III secretion system 2. Cell Microbiol. 2007 Nov;9(11):2598-609.

マラリア学研究グループ

研究グループ	招聘教授	理学博士	田邊 和祐
	ポスドク	農学博士	彦坂 健児
	ポスドク	農学博士	橋 真一郎
	学振PD	農学博士	本間 一

マラリアはエイズ、結核とならび世界の3大感染症の一つとなっている。当研究グループはマラリアの病原体であるマラリア原虫 (*Plasmodium* 属) の進化と遺伝的多様性を中心的研究テーマとし、マラリア原虫の寄生適応・進化機構の解明を目指している。主に以下の点について研究を進めている。

(1) 熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の歴史と人類との関わり

ヒトのマラリア原虫は例外を除き、ヒトにのみ寄生する。従って、ヒトマラリア原虫の進化は人類のそれと密接に関わるが、人類との進化的関わりはまだほとんど不明である。この点を解明すべく、世界各地の原虫集団の遺伝的多様性を調べている。現在までの解析の結果、遺伝的多様性はアフリカを起点としたアジア、オセアニアに至る地理的距離と明瞭な相関を示し、現生人類集団の移動経路を反映するものであった。各地域の原虫集団の起源年代と合わせると、*P. falciparum* はアフリカからヒト集団とともに世界に広まったことが推定される。

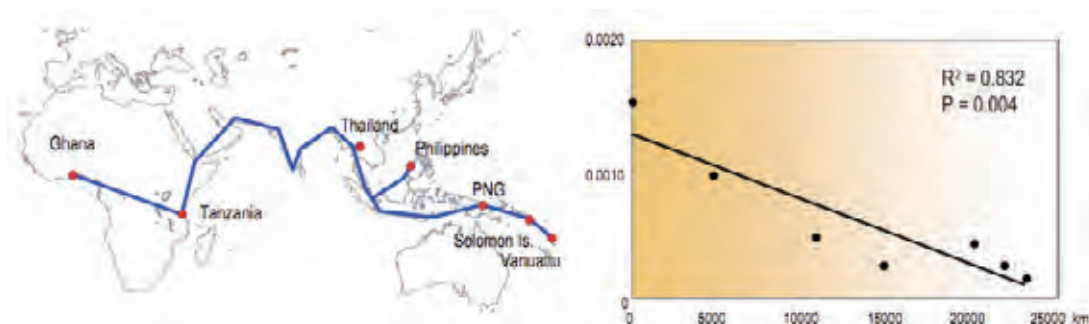


図1：熱帯熱マラリア原虫 (*P. falciparum*) の遺伝的多様性とアフリカからの地理的距離との相関。*P. falciparum* はアフリカからヒト集団とともに世界に広まったことが推定される。

(2) マラリア原虫抗原多型の進化

マラリア感染の特徴に何度でも感染し、容易に感染防御免疫が成立しない。この重要な現象にはマラリア原虫の抗原多型を介した株特異的免疫が関わる。世界各地のマラリア原虫集団における抗原多型の集団間比較、またヒトマラリア原虫と各種サルマラリア原虫における多型との種間比較を行ない、免疫標的抗原における加速進化、抗原多型の進化的起源、また、多型創出と維持の進化遺伝的機構を解析している。

(3) マラリア原虫と宿主の共進化

マラリア原虫の宿主域は広い(哺乳類、鳥類、爬虫類)が、各原虫種は特定の動物だけに感染する。この二つの事実はマラリア原虫と宿主との密接な関係を示唆する。この関係の把握を目的にマラリア原虫と宿主の進化の比較を行っている。その過程で、現生マラリア原虫の起源において急速な多様化が起き、その多様化は宿主転換によって生じたことを見いだしている。

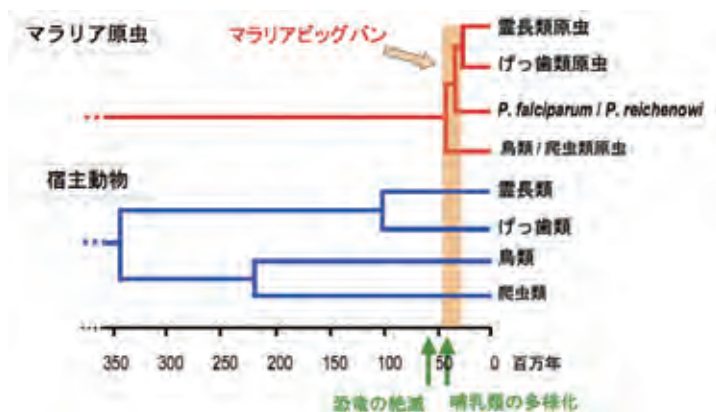


図2：マラリア原虫ビッグバン進化。現生マラリア原虫系統の起源において多様化が急速に起こった。その時期（ページ色）は宿主系統の出現よりも後であり、宿主転換により原虫系統が多様化したと考えられる。

(4) サルマラリア原虫 (*Plasmodium cynomolgi*) のゲノム解読と比較ゲノム解析

三日熱マラリア原虫 (*P. vivax*) はサルマラリア原虫の宿主転換によってヒト寄生性となった。*P. vivax* のゲノムに特有な変化を解明するため、近縁サルマラリア原虫の *P. cynomolgi* のゲノム解読(約27 Mb)を進めている。現在、gap closureの段階に入り、間もなくドラフトゲノムが完成する。比較ゲノム解析から、*P. vivax* に特有な遺伝子の欠失・獲得を見出している。

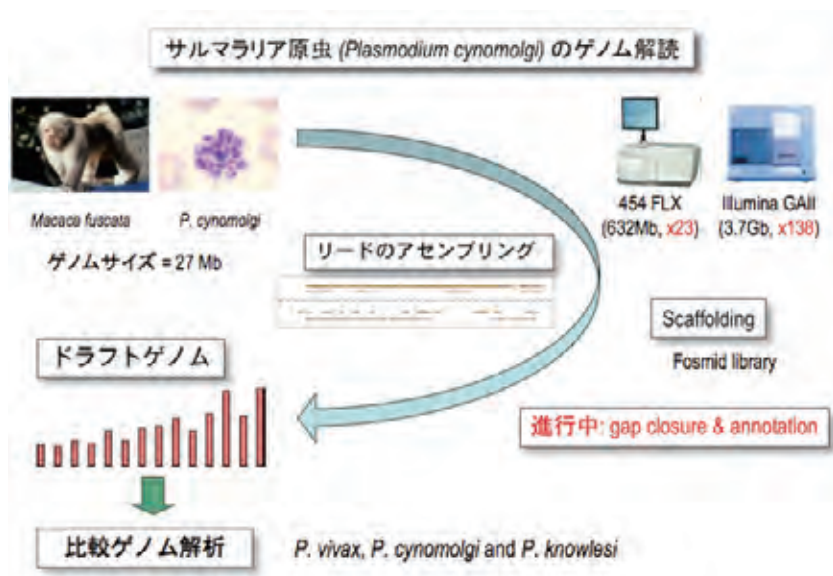


図3：次世代シーケンシングシステムによるサルマラリア原虫(*P. cynomolgi*) のゲノム解読。(獨協医大、川合覚博士との共同研究)

最近の代表的な論文

1. Tanabe K, Mita T, Jombart T, Eriksson A, Horibe S, Palacpac N, Randord-Cartwright L, Sawai H, Sakiyama N, Ohmae H, Nakamura M, Ferreira MU, Escalante AA, Prugnolle F, Björkman A, Färnert A, Kaneko A, Horii T, Manica A, Kishino H, Balloux F. *Plasmodium falciparum* accompanied the human expansion out of Africa. Curr. Biol. 2010 (in press).
2. Hikosaka K, Watanabe Y, Tsuji N, Kita K, Kishine H, Arisue N, Palacpac N M Q, Kawazu S, Sawai H, Horii T, Igarashi I, Tanabe K. Divergence of mitochondrial genome structure in the apicomplexan parasites, *Babesia* and *Theileria*. Mol Biol Evol. 2010 May; 27 (5): 1107-16.
3. Sawai H, Otani H, Arisue N, Palacpac N, de Oliveira Martins L, Pathirana S, Handunnett S, Kawai S, Kishino H, Horii T, Tanabe K. Lineage-specific positive selection at the merozoite surface protein 1 (*msp1*) locus of *Plasmodium vivax* and related simian malaria parasites. BMC Evol Biol. 2010 Feb 19; 10: 52.
4. Culleton R, Ndounga M, Zeyrek F Y, Coban C, Casimiro P N, Takeo S, Tsuboi T, Yadava A, Carter R, Tanabe K. Evidence for the transmission of *Plasmodium vivax* in the Republic of Congo, West Central Africa. J Infect Dis. 2009 Nov 1; 200 (9): 1465-9.
5. Hayakawa T, Culleton R, Otani H, Horii T, Tanabe K. Big bang in the evolution of extant malaria parasites. Mol Biol Evol. 2008 Oct; 25 (10): 2233-9.

感染症学・免疫学融合研究グループ

研究グループ

特任准教授 理学博士 永井 宏樹

病原菌が病気を引き起こすためには、細菌から宿主細胞へ「配達」される病原因子群と、そのための輸送システムが中心的な役割を果たします。私達はヒトに肺炎を引き起こすレジオネラという病原菌をモデルとして、輸送システムであるIV型分泌装置と、病原因子であるエフェクタータンパク質の働きを分子・原子レベルで明らかにしようとしています。

(1) IV型分泌装置の構造と機能

レジオネラはIV型分泌装置を利用して、レジオネラ全タンパク質の一割弱という膨大な数のエフェクタータンパク質をエフェクター分子を宿主細胞質中へ輸送しています。病原性大腸菌やサルモネラなどが持つIII型分泌装置とは異なり、IV型分泌装置の実体や分泌メカニズムはほとんど明らかにされていません。我々はIV型分泌の分子機構の解明を目指して、分泌装置の機能・構造解析を通じてその実体に迫りたいと考えています。

(2) エフェクターの機能とその制御

これまでに知られているエフェクタータンパク質のなかには、同じ宿主タンパク質をターゲットとするものの、正反対の機能を持つようなものもあります。従って、エフェクターの宿主細胞内での機能は、絶妙な時間的・空間的制御を受けていると考えられます。私達は他に先駆けてレジオネラでは最初のエフェクターRalFを同定した他、最近ではE3ユビキチンリガーゼとしての機能を持つLubXが、実は別のエフェクターの負の時間的制御を司る、これまでに例をみないタイプのエフェクターであることをつぎとめています。



図1：細菌両極に局在するIV型分泌装置(緑)

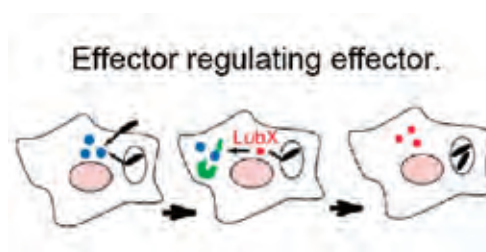


図2：エフェクターを制御するエフェクターLubX

最近の代表的な論文

1. Kubori, T., Hyakutake, A. and Nagai, H. Legionella translocates an E3 ubiquitin ligase that has multiple U-boxes with distinct functions. Mol. Microbiol. 2008;67(6),1307-1319.
2. Nagai, H., Cambronne, E.D., Kagan, J.C., Amor, J.C., Kahn, R.A. and Roy, C.R. A C-terminal translocation signal required for Dot/Icm-dependent delivery of the Legionella RalF protein to host cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005;102,826-831.
3. Amor, J.C., Swails, J., Roy, C.R., Nagai, H., Ingmundson, A., Cheng, X., and Kahn, R.A. The structure of RalF, an ARF guanine nucleotide exchange factor from Legionella pneumophila, reveals the presence of a cap over the active site. J. Biol. Chem, 2005;280, 1392-1400.

感染症学・免疫学融合プログラム推進室

研究グループ

研究推進グループ 准教授 医学博士 村上 良子
教育推進グループ 准教授 医学博士 藤井 穂高

当推進室では、微生物病研究所と免疫学フロンティアセンターというそれぞれ感染症学、免疫学のトップレベルの研究所が並立する有利な環境を最大限に生かし、感染症学、免疫学の融合研究の促進策を企画、それを実践する。

研究推進業務:研究推進グループでは、

1. 本研究所の主催で毎年9月に開催している淡路島感染症・免疫フォーラム(国際学会)の企画、運営。
2. 本研究所において2ヶ月に一度行われている研究発表会(集談会)の企画、運営。
3. 本研究所において年1回行われている大集談会・業績発表会の企画、運営。
4. フランスパスツール研究所・韓国全南大学ワクチンセンター・タイ感染症共同国際研究センターとの交流事業の企画、運営。等の活動を行っている。これらの業務を通して、微生物病研究所内の研究室間の研究協力、情報交換、人材交流を促進し、研究環境を整え、感染症学・免疫学の活性化を行う

教育推進業務:教育推進グループでは、感染症学・免疫学研究の融合を推進するために、

1. 研究科横断的な大学院副プログラムの立ち上げ、そのためのカリキュラムやコンテンツの作成、同副プログラムの運営
2. 大学院生募集の広報(説明会の開催等)、入学後のオリエンテーション
3. 感染症学・免疫学教育プログラム、特に本研究所の日本-タイ感染症共同研究センターを用いた大学院生の海外実地研修等の企画及び実施等を行う。これらの業務を通して、微生物病研究所を中心にした体系的かつ魅力的な感染症学・免疫学の研究科横断的な大学院教育の枠組み作りを行う。

研究グループ

准教授 医学博士 村上 良子

免疫不全疾患研究分野を兼任し、paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH)グループのリーダーとして以下の研究をしている。(詳細は上記研究室のページ参照)

1. 後天性 glycosylphosphatidylinositol (GPI) 欠損症(発作性夜間血色素尿症PNH)の発症機序
2. 先天性GPI欠損症の発症機序
3. 以下のマウスを使ったGPIアンカー型蛋白質の機能的意義の解明
脂質のリモデリングの障害でGPIアンカー型蛋白質が細胞膜上のラフトに局在できない変異マウスの免疫細胞の機能解析。
血球特異的なGPI欠損マウスの免疫細胞の機能解析。

最近の代表的な論文

1. Sena CB, Fukuda T, Miyanagi K, Matsumoto S, Kobayashi K, Murakami Y, Maeda Y, Kinoshita T, Morita YS. Controlled expression of branch-forming mannosyltransferase is critical for mycobacterial lipoarabinomannan biosynthesis. J Biol Chem. 2010 Mar 9. doi: 10.1074/jbc.M109.077297
2. Kanzawa N, Maeda Y, Ogiso H, Murakami Y, Taguchi R, Kinoshita T. Peroxisome dependency of alkyl-containing GPI-anchor biosynthesis in the endoplasmic reticulum. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Oct 20;106(42):17711-6.
3. Almeida AM*, Murakami Y*, Baker A, Maeda Y, Roberts IA, Kinoshita T, Layton DM, Karadimitris A. Targeted therapy for inherited GPI deficiency. N Engl J Med. 2007 Apr 19;356(16):1641-7(* equally contributed).
4. Almeida AM*, Murakami Y*, Layton M, Hillmen P, Sellick G, Maeda Y, Richards S, Patterson S, Kotsianidis I, Mollica L, Crawford D, Baker A, Ferguson M, Roberts I, Houlston R, Kinoshita T, Karadimitris A. Hypomorphic promoter mutation in the mannosyltransferase-encoding PIG-M gene causes inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. Nat. Med., 12:846-851. 2006(* equally contributed).
5. Inoue N, Izui-Sarumaru T, Murakami Y, Endo Y, Nishimura J, Kurokawa K, Kuwayama M, Shime H, Machii T, Kanakura Y, Meyers G, Wittwer C, Chen Z, Babcock W, Frei-Lahr D, Parker C, Kinoshita T. Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in two patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). Blood 2006 108:4232-4236.

藤井グループ

研究グループ

准教授 医学博士 藤井 穂高
助教 理学博士 藤田 敏次

当研究グループでは、最先端の遺伝子工学を用いた免疫系の制御機構の解析を進める一方、新しい方法論の開発を通じて生物学研究に新しい地平を切り開くことを目標として研究を進めている。

I. 免疫系の作動原理の解明を目指した新規方法論の開発

(1) シグナル誘導性の核移行を検出するため、リポーター遺伝子を用いた系である inducible translocation trap (ITT) 法を開発した(図 1)。ITT 法は、核移行シグナル分子を同定できる初の一般的な方法であり、ある刺激により核へ移行する或は核から排出される蛋白全体である "nuclear translocatome" の解析が可能である。ITT 法を用いて、(i) シグナル依存性に核移行する蛋白の同定とその機能解析、(ii) シグナル分子の核移行に影響を与える化合物の high-throughput screening、(iii) シグナル分子の核移行を制御している蛋白質の RNAi ライブラリーを用いたスクリーニング、等を行い、シグナル伝達系の制御機構の解明を目指す。

(2) 特定ゲノム領域クロマチン構造の non-bias 解析を目指し、新規解析法として insertional chromatin immunoprecipitation (iChIP) 法の開発を進めている。iChIP 法を用いることで、特定ゲノム領域に結合する未知の分子(蛋白質、DNA、RNA、その他)の網羅的同定が可能となる。iChIP 法を用いて、免疫系制御に関与する重要な分子、特にリンパ球分化を制御する主要制御転写因子の発現調節機構の解析を行い、リンパ球分化、ひいては細胞分化の基本的なロジックを明らかにしたい。

II. 自己免疫疾患の治療を目指した免疫抑制機構の解析

(1) 増殖性サイトカインの新規ターゲット遺伝子として Cyclon と名付けた核内リン酸化蛋白質を同定した。更に、Cyclon は、T 細胞の活性化に伴っても発現が誘導され、細胞死誘導細胞表面 Fas の発現を増加させることにより、T 細胞の activation-induced cell death (AICD) を増強する機能を持つことを見いだした(図 2)。現在、遺伝学的・分子生物学的方法を用いて、Cyclon による Fas 発現制御機構を解析中であり、また、免疫応答制御や自己免疫疾患における Cyclon の役割について、Cyclon トランスジェニックマウス・欠損マウスを用いて解析を進めている。

(2) 活性化された制御性 T 細胞 (T-reg) 特異的に発現誘導される細胞表面蛋白 GARP を同定し、GARP が T-reg による T 細胞機能抑制能の一端を担っていることを明らかにした。GARP の組織特異的遺伝子欠損マウス・トランスジェニックマウスを用いて、GARP が免疫調節に果たす役割を解析する。

最近の代表的な論文

1. Hoshino A, Fujii H. Insertional chromatin immunoprecipitation: a method for isolating specific genomic regions. J Biosci Bioeng. 2009 Nov;108(5):446-9.
2. Saint Fleur S, Hoshino A, Kondo K, Egawa T, Fujii H. Regulation of Fas-mediated immune homeostasis by an activation-induced protein, Cyclon. Blood. 2009 Aug 13;114(7):1355-65.
3. Wang R, Kozhaya L, Khaitan A, Fujii H, Unutmaz D. Expression of GARP selectively identifies activated human Foxp3+ regulatory T cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Aug 11;106(32):13439-44.
4. Singh AP, Buscaglia CA, Wang Q, Levay A, Nussenzweig DR, Walker J, Winzeler EA, Fujii H, Fonouni BMA, Nussenzweig V. Plasmodium circumsporozoite protein promotes the development of the liver stages of the parasite. Cell. 2007 Nov 2;131(3):492-504.
5. Hoshino A, Hirst JA, Fujii H. Regulation of cell proliferation by interleukin-3-induced nuclear translocation of pyruvate kinase. J Biol Chem. 2007 Jun 15;282(24):17706-11.

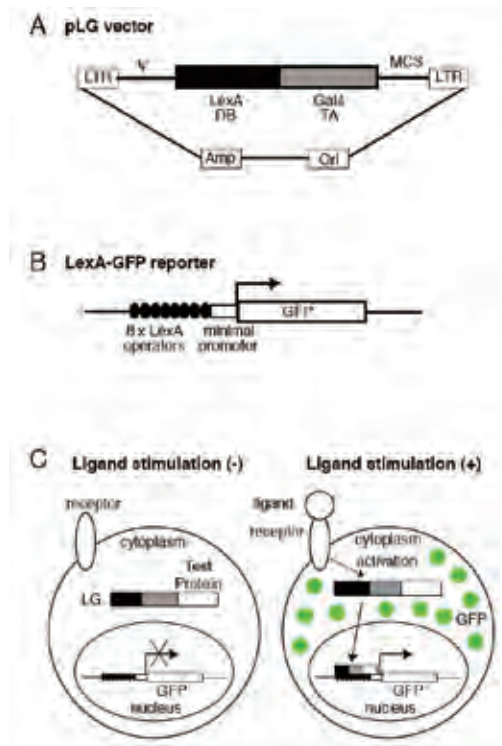


図1. Inducible translocation trap system

図2. Cyclon の強制発現によるインターロイキン 2 受容体 α 鎖欠損マウスの自己免疫症状の正常化

文部科学省「感染症研究国際ネットワーク推進プログラム」
大阪大学感染症国際研究拠点

日本・タイ感染症共同研究センター

／センター長 特任教授 浜田 茂幸

人類はワクチンの開発や抗生物質などの化学療法の発達により感染症を克服できると考えた時期もあった。しかし、近年新たに出現した様々な感染症(新興感染症)や、既に克服したと考えられていたものの再来(再興感染症)を相次いで経験し、感染症に対する社会的不安が世界的に起こっている。また、わが国では感染症研究領域の研究者不足とも相まって、一層危機感が高まっている。更に多くの感染症は国境を越え拡大する事から、一国単独の力だけではその制御は困難であることも明らかである。



このような背景の下、平成17年度に発足した文部科学省の「新興・再興感染症研究拠点形成プログラム」における海外研究拠点の一つとして、大阪大学はタイ王国保健省医科学局の協力により日本・タイ感染症共同研究センター(RCC-ERI: Research Collaboration Center on Emerging and Re-emerging Infections)」を設置した。バンコク近郊のノンタブリーにあるタイ国立予防衛生研究所(NIH)内のRCC-ERIには、約600㎡のフロアにP2・P3レベルのバイオハザード対策を施した実験室に加え、各種実験機器を設置している。従来、海外での研究は長くても数ヶ月の短期滞在によって実施されてきたが、本センターでは多くの研究者が長期的に滞在し恒常的な活動を行っている。

NIHの研究者と密接に連携し、新興・再興感染症制圧を目指した研究を展開すると共に、我が国およびタイの若手感染症研究者の育成に取り組む。

細菌感染症、ウイルス感染症の2部門体制で基礎的・応用的研究を遂行し、感染症研究を目指す人材育成を図る。更に新興・再興感染症の出現時には防疫上必要な情報の発信、治療薬やワクチン開発などのさまざまな対策が迅速に行える体制を確立する。またその輪を近隣諸国及び我が国の大学や研究機関にも広げ、グローバルに伝播する感染症の制御に向けた前線基地としても機敏に対応できる体制を構築している。



P2 レベル実験室



P3 レベル実験室

細菌感染部門

研究グループ

特任教授	歯学博士	浜田 茂幸
特任講師	薬学博士	熊谷 由美
特任研究員	医学博士	岡田 和久
特任研究員	理学博士	岸下 奈津子
派遣研究員	理学修士	Amonrattana Roobthaisong

タイ王国および我が国を含むアジア諸国でしばしば発生する細菌感染症に重点をおいて、各感染症の分子疫学調査、診断法の開発、医学的・社会的予防方法の開発と実践を、タイ保健省医科学局予防衛生研究所の研究者と協力しつつ、研究活動を推進する。

2005～2009年度にかけて実施された新興・再興感染症研究拠点形成プログラムにおいては、主たる研究対象をコレラ菌、および下痢原性大腸菌にしばって研究を実施して来た。タイでは、熱帯という地政学的理由から、様々な腸管感染症が頻発しており、それらの重要性は増す事はあっても減る事はなく、今後とも発展的に継続する。

タイで、高い死亡率を示す感染症としては古くから肺炎、結核、急性下痢症等が挙げられている。最近では、従来病原性が弱いとされていたブタレンサ球菌のように新たな病型と比較的高い致死率を示す感染症の出現が注目されている。これらの細菌感染症に対する目配りをしつつ、それらの予防に貢献できる研究テーマを設定し、共同研究の実を挙げることを目標とする。

主な研究課題

- 1) 迅速診断LAMP法を駆使したコレラ流行の制御:タイ・ミャンマー国境におけるコレラ好発地帯における試み
- 2) コレラ菌流行株のファージバリエーションに基づく新規流行の網羅的解析に関する研究
- 3) 病原性レンサ球菌の簡易迅速診断法の開発と応用に関する研究
- 4) タイにおける病原性レンサ球菌感染症の分子疫学的研究



最近の代表的な論文

1. Okada K, Chantaroj S, Roobthaisong A, Hamada S, Sawanpanyalert P. A Cholera Outbreak of the *Vibrio cholerae* O1 El Tor Variant Carrying Classical CtxB in Northeastern Thailand in 2007. *Am J Trop Med Hyg*. 2010. May; 82(5):875-8.
2. Puiprom O, Chantaroj S, Gangnonngiw W, Okada K, Honda T, Taniguchi T, Sawanpanyalert P. Identification of colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* with PCR-based technique. *Epidemiol Infect* 2010;Apr;138(4):519-24.
3. Okada K, Chantaroj S, Taniguchi T, Suzuki Y, Roobthaisong A, Puiprom O, Honda T, Sawanpanyalert P. A rapid, simple, and sensitive loop-mediated isothermal amplification method to detect toxigenic *Vibrio cholerae* in rectal swab samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010. Feb;66(2):135-9.
4. Maruyama F, Kobata M, Kurokawa K, Nishida K, Sakurai A, Nakano K, Nomura R, Kawabata S, Ooshima T, Nakai K, Hattori M, Hamada S, Nakagawa I. Comparative genomic analyses of *Streptococcus mutans* provide insights into chromosomal shuffling and species-specific content. *BMC Genomics* 2009. Aug 5;10:358.
5. Kasai S, Okada K, Hoshino A, Iida T, Honda T. Lateral transfer of the *lux* gene cluster. *J Biochem* 2007. Feb;141(2):231-7.

ウイルス感染部門

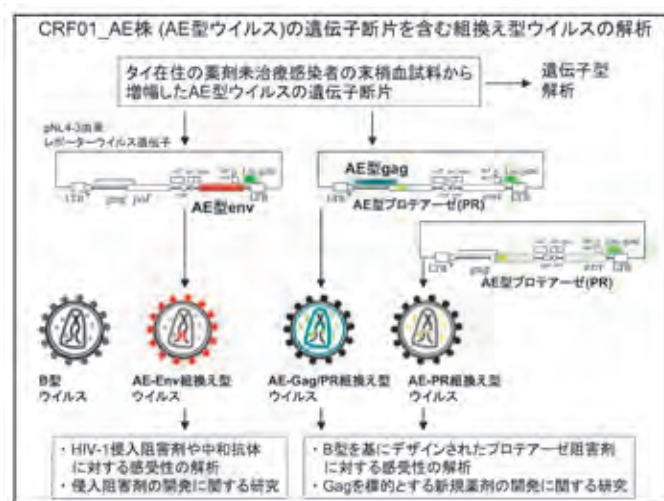
研究グループ

特任教授	医学博士	武田 直和
特任教授	医学博士	亀岡 正典
特任研究員	医学博士	李 永剛
派遣研究員	医学博士	Uamporn Siripanyaphinyo
派遣研究員	医学博士	Sompong Sapsutthipas
派遣研究員	理学修士	Piraporn Utachee
派遣研究員	理学修士	Chris Verathamjamras
派遣研究員	理学修士	Samatchaya Boonchawalit
派遣研究員	理学修士	Chidchanok Khamlert

腸管感染症(エンテロウイルス感染症):近年手足口病患者からのウイルス分離が困難になってきている。主たる原因ウイルスであるエンテロウイルス71とコクサッキーウイルス16以外のエンテロウイルスの関与が示唆されている。タイにおける流行状況を正確に把握するため、分子疫学解析の基盤を整備する。

血液媒介性感染症(HIV感染症/エイズ):タイを初めとする東南アジア諸国に蔓延するHIV-1 CRF01_AE株のウイルス学的特徴、宿主液性免疫応答の特徴、薬剤耐性獲得機構などについての基礎的研究を行う。

蚊媒介性感染症(デング熱):感染性クローンを構築し病原性に関与する遺伝子あるいは遺伝子領域の組み合わせを検索する。



最近の代表的な論文

1. Utachee P, Nakamura S, Isarangkura-na-ayuthaya P, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Ikuta K, Auwanit W, Kameoka M. Two N-linked glycosylation sites in V2 and C2 regions of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE envelope glycoprotein gp120 regulate viral neutralization susceptibility to the human monoclonal antibody specific for CD4 binding domain. J Virol. 2010;84:4311-20.
2. Pongsuwananna Y, Guntapong R, Tacharoenmuang R, Prapanpoj M, Kameoka M, Taniguchi K. A long-term survey on the distribution of the human G type rotavirus in Thailand. J Med Virol. 2010;82:157-63.
3. Bai GR, Chittaganpitch M, Kanai Y, Li YG, Auwanit W, Ikuta K, Sawanpanyalert P. Amantadine- and oseltamivir-resistant variants of influenza A viruses in Thailand. Biochem Biophys Res Commun. 2009;390:897-901.
4. Jinnopat P, Isarangkura-na-ayuthaya P, Utachee P, Kitagawa Y, de Silva UC, Siripanyaphinyo U, Kameoka Y, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Ikuta K, Auwanit W, Kameoka M. Impact of Amino Acid Variations in Gag and Protease of Human Immunodeficiency Virus Type 1 CRF01_AE strains on Drug Susceptibility of Virus to Protease Inhibitors. J Acquir Immune Defic Syndr. 2009;52:320-8.
5. Auwanit W, Isarangkura-na-ayuthaya P, Kasornpikul D, Ikuta K, Sawanpanyalert P, Kameoka M. Detection of drug resistance-associated and background mutations in human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE protease and reverse transcriptase derived from drug treatment-naïve patients residing in central Thailand. AIDS Res Hum Retroviruses. 2009;25:625-31.

分子生物学(ライフテクノロジーズ)寄附研究部門

研究グループ

寄附研究部門教授 理学博士 今本 文男
寄附研究部門助教 農学博士 曾根 岳史

細胞は様々な細胞外シグナルに反応して細胞内の生体分子相互作用のネットワークをダイナミックに変化させることで、多細胞生命体の構築や機能発現の制御を行っている。近年、外界からの刺激や情報によりこの分子システムがどの様に活性化され変化していくかを蛍光イメージング技術によって測定・解析する研究が、大学や研究機関で盛んである。しかし従来は、蛍光標識したタンパク質を細胞内システムに到達させるために、細胞を破壊したり、膜透過性が増した細胞を用いたり、細胞内で産生させる場合でも必要以上の遺伝子を導入して過剰発現させたりする場合が多く、本来の生理的な状態の細胞を観察しているとは言い難かった。本来の細胞内では、それぞれのタンパク質は量的にも位置的(オルガネラ空間的)にも精巧に制御されて機能している。もし、細胞に複数の遺伝子(cDNA)を導入して標的タンパク質因子を産生させ、その本来の作用動態を解析しようとしたら、染色体上の遺伝子と同様の条件で標的因子を産生させる必要があろう。

本研究部門は、Invitrogen社のMultisite Gateway (msGW) DNAクローニング技術の改良・開発により、複数種cDNAの生細胞への同時導入用ベクターの構築と、これらの生理的発現量の制御技術開発を行っている。即ち

- 1) 生細胞へ迅速・確実(ハイスループット)に複数種蛍光標識遺伝子を導入するためのmsGWカセットDNAベクターの構築、
- 2) 生理的発現量に適正なプロモーター・IRES類のシグナル開発、及びバイオイメーjingのための蛍光タンパク質接続の改良・開発、
- 3) 導入遺伝子の細胞内発現量の制御技術開発、及び細胞内の微量蛍光タンパク質の定量技術開発、
- 4) 細胞染色体上の特定部位への遺伝子導入による安定で優れた形質転換細胞の創出、の4課題を柱に研究を進めている。

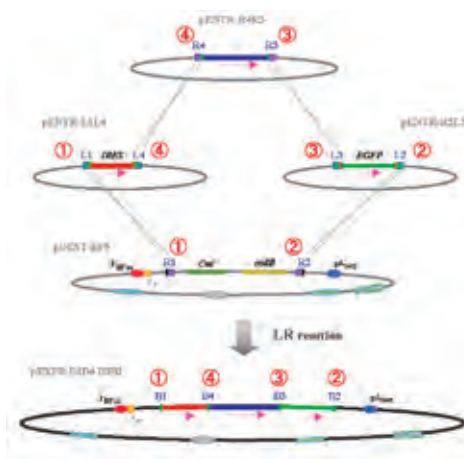


図1: Multisite Gateway DNAクローニング法の概要

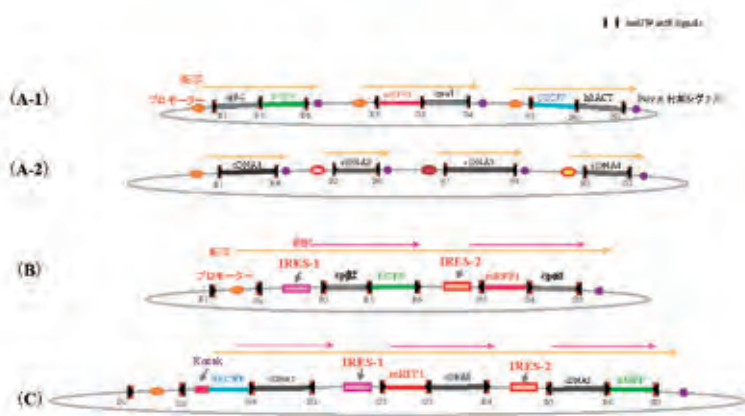


図2: 多目的に利用できるMultisite Gateway 発現クローン

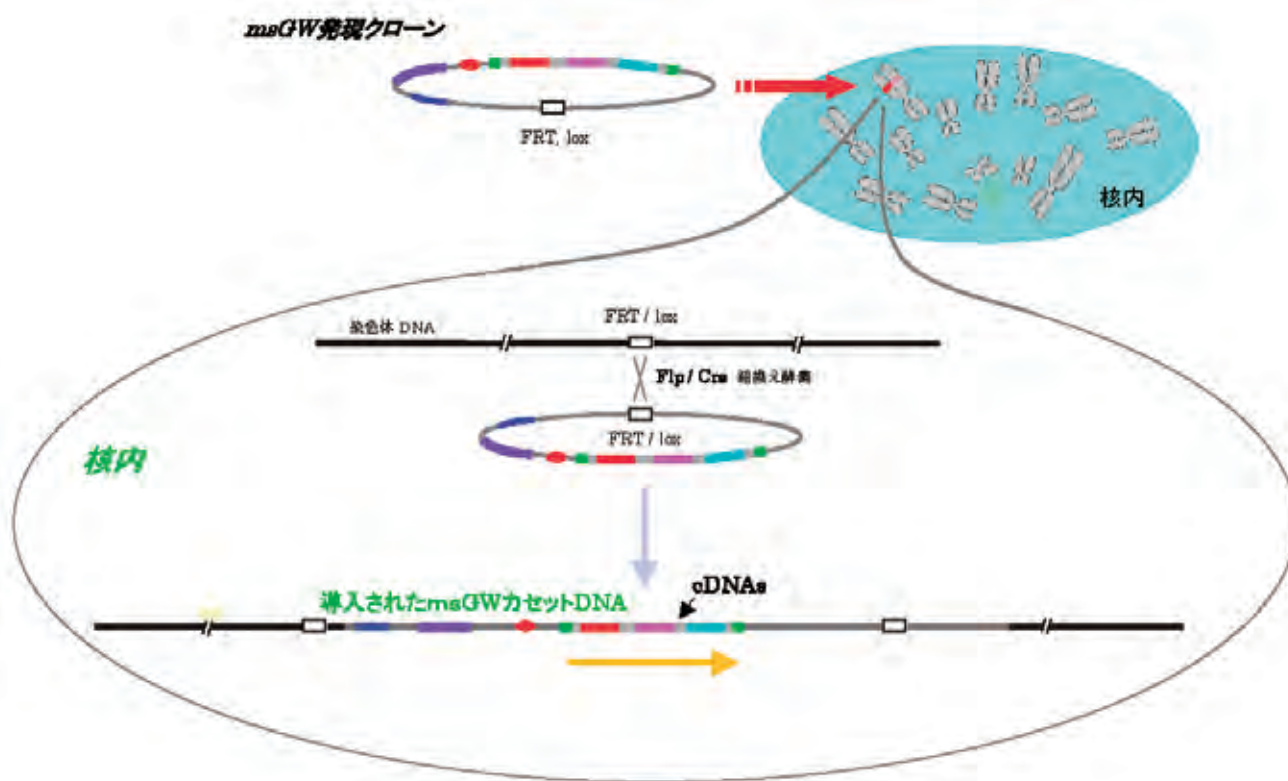


図3：核内染色体の指定特定部位への 発現クローンの導入

最近の代表的な論文

1. Inoue K., Sone T., Oneyama C., Nishiumi F., Kishine H., Sasaki Y., Andoh T., Okada M., Chesnut J.D. and Imamoto F. A versatile nonviral vector system for tetracycline-dependent one-step conditional induction of transgene expression. *Gene Therapy* 2009 Dec ; 16(12) :1383-1394
2. Nishiumi F., Sone T., Kishine H., Thyagarajan B., Kogure T., Miyawaki A., Chesnut J. D. and Imamoto F. Simultaneous single cell stable expression of 2-4 cDNAs in HeLaS3 using ϕ C31 integrase system. *Cell Structure and Function* 2009 Mar 20 ; 34:47-59(online)
3. Sone T., Yahata K., Sasaki Y., Hotta J., Kishine H., Chesnut J.D. and Imamoto F. Multi-gene gateway clone design for expression of multiple heterologous genes in living cells: Modular construction of multiple cDNA expression elements using recombinant cloning. *J. Biotechnol.* 2008 Sep 10 ; 136(3-4):113-121
4. Sasaki Y., Sone T., Yahata K., Kishine H., Hotta J., Chesnut J.D., Honda T. and Imamoto F. (2008) Multi-gene gateway clone design for expression of multiple heterologous genes in living cells: Eukaryotic clones containing two and three ORF multi-gene cassettes expressed from a single promoter. *J. Biotechnol.* 2008 Sep 10 ; 136(3-4):103-112
5. Tahara K., Takagi M., Ohsugi M., Sone T., Nishiumi F., Maeshima K., Horiuchi Y., Tokai-Nishizumi, Imamoto F., Yamamoto T., Kose S., Imamoto N. Importin- β and the small guanosine triphosphatase Ran mediate chromosome loading of the human chromokinesin Kid. *J. Cell Biology*, 2008 Feb 11 ; 180(3):493-506

オルガネラネットワーク医学創成プログラム

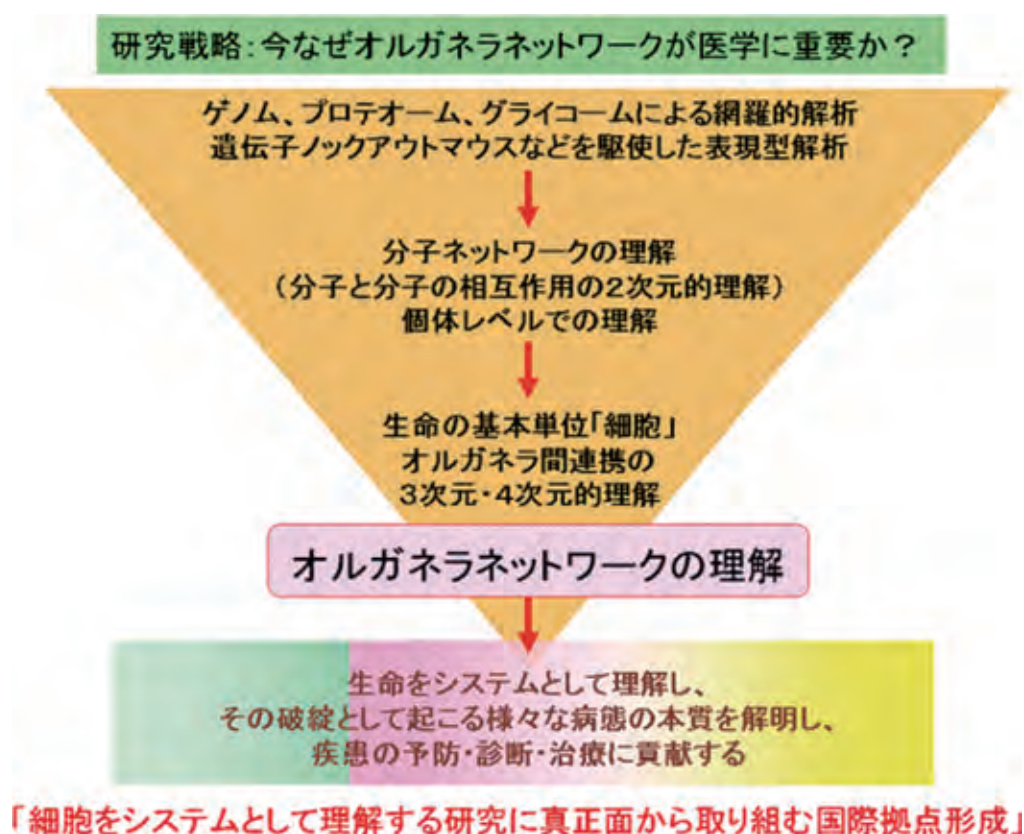
現在の医学、生命科学の最も重要な課題のひとつは、生命をシステムとして理解し、その理解に基づく疾患の予防や新たな治療法をどのように開拓していくことができるかということです。これは、単一遺伝子病などのように、1つの遺伝子変異で誘導される単因子疾患のみならず、多くの遺伝子や環境要因が複雑に絡み合って発症する、いわゆる多因子疾患や、病原体が細胞内の様々な因子との相互作用を活用して宿主細胞への感染を成立させる感染症などの、複雑な疾患の病態解明、治療、予防へ新たな道を拓くためには極めて重要な挑戦であり、社会的にも必要性の高いテーマです。このような認識に基づき、本拠点では、これまで分子ネットワークの理解に留まっている生命科学・医学研究を発展させ、細胞を構成する機能分子集合体として最も重要なオルガネラに着目し、様々なオルガネラ間の機能的ネットワーク(オルガネラネットワーク)の解明を目指すとともに、さらには、その理解に基づいて、感染症、神経変性疾患などの病態の本質を解明し、新たな治療戦略への突破口を拓くこと(オルガネラネットワーク医学の創成)を目的としています。この目的を達成するために本拠点が描く研究構想は以下の通りです。

1. オルガネラネットワーク解明への分野融合的研究の推進

病原体が細胞のオルガネラシステムを巧に利用して宿主細胞に感染するという感染症の本態に着目し、感染機構を標的として細胞生物学的視点から解析すること、また、様々なオルガネラ機能に密接に関わる糖鎖サイクルを対象にして解析することを通して、オルガネラネットワーク解明を目指します。

2. オルガネラネットワークの理解に基づく感染症、神経変性疾患などの病態の統合的理解と治療戦略

これまでの視点から脱却し、システムバイオロジーなどの方法論を積極的に取り入れ、オルガネラネットワークの観点から、感染症や神経変性疾患などの複雑な疾患を真に理解すること、さらに、オルガネラネットワークの理解に基づき、疾患の病態の本質に関わるタンパク質や糖鎖修飾を見極め、それらを標的にした診断法や新規治療を開発することを目指します。また、高度な融合研究基盤を持つ拠点を形成するためには、国際的に活躍できる、優れた若手研究者の人材育成が必須です。本拠点では、大学院生や若手研究者がリーダーシップ力、国際感覚を培える人材育成プログラムを実施するとともに、世界トップレベル研究拠点「免疫学フロンティア研究センター」、微生物病研究所感染症国際研究センター、タイ国感染症共同研究センターを有機的に結びつける国際ネットワーク拠点としての役割を果たすため、海外からの学生や若手研究者を受け入れ、より国際的な教育システムを構築していきます。



事業推進担当者

氏 名	現在の専門・学位	役割分担(初年度の拠点形成計画における分担事項)
所属部局(専攻等)・職名		
米 田 悦 啓	細胞生物学・医学博士	拠点形成の統括とオルガネラネットワーク解明
生命機能研究科(生命機能専攻)(兼)医学系研究科(生体生理医学専攻)・教授		
戸 田 達 史	遺伝医学・医学博士	筋ジストロフィーの糖鎖修飾および神経変性疾患
医学系研究科(予防環境医学専攻)・招へい教授		
辻 本 賀 英	遺伝医学・理学博士	細胞死の機構とオルガネラ
医学系研究科(予防環境医学専攻)・教授		
竹 田 潔	免疫学・医学博士	自然免疫系の活性制御機構の解析
医学系研究科(予防環境医学専攻)・教授		
朝 野 和 典	感染症学・医学博士	抗菌活性標的の解析と新規抗菌薬の開発
医学系研究科(予防環境医学専攻)・教授		
遠 山 正 彌	神経細胞学・医学博士	神経機能異常とオルガネラ
小児発達学研究科(小児発達学専攻)・教授		
中 村 敏 一	生化学・理学博士	HGFによる神経変性疾患や腎疾患などの治療戦略
先端科学イノベーションセンター(再生創薬共同研究部門)・特任教授		
竹 原 徹 郎	内科学・医学博士	肝炎の発症機構と治療戦略
医学系研究科(内科系臨床医学専攻)・准教授		
三 善 英 知	臨床検査学・医学博士	糖鎖技術を用いたバイオマーカーの開発とその機能解析
医学系研究科(保健学専攻)・教授		
和 田 芳 直	分子病態学・医学博士	糖鎖解析法の開発と先天性糖鎖不全の解析
医学系研究科(内科系臨床医学専攻)・招へい教授		
藤 本 ゆ か り	有機化学・理学博士	細菌由来複合糖質認識による細菌侵入検知機構
理学研究科(化学専攻)・准教授		
谷 口 直 之	生化学・医学博士	糖鎖・タンパク質の機能解析
産業科学研究所(寄附研究部門)・寄附研究部門教授		
吉 森 保	細胞生物学・医学博士	感染・免疫におけるメンブレントラフィックの役割の解析
生命機能研究科(生命機能専攻)(兼)医学系研究科(予防環境医学専攻)・教授		
菊 谷 仁	免疫学・医学博士	獲得免疫の動態に関する研究
微生物病研究所(生体防御研究部門)・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
目 加 田 英 輔	細胞生物学・医学博士	ジフテリア毒素の毒性発現に関わる細胞側因子の解析
微生物病研究所(生体防御研究部門)・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
松 浦 善 治	ウイルス学・獣医学博士	C型肝炎ウイルスの感染機構とその制御法に関する研究
微生物病研究所(感染機構研究部門)・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
塩 田 達 雄	ウイルス学・医学博士	HIV感染症に関わる宿主因子の研究
微生物病研究所(感染機構研究部門)・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
堀 口 安 彦	細菌学・農学博士	細菌性病原因子の機能と構造の解析
微生物病研究所(感染機構研究部門)・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
生 田 和 良	ウイルス学・医学博士	新興ウイルスの感染とその病態機序に関する研究
微生物病研究所(難治感染症対策研究センター)・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
堀 井 俊 宏	寄生虫学・理学博士	マラリアワクチンの開発と宿主-寄生虫相互作用の解析
微生物病研究所(難治感染症対策研究センター)・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
審 良 静 男	免疫学・医学博士	自然免疫の研究
免疫学フロンティア研究センター・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
木 下 タ ロ ウ	免疫学・医学博士	宿主病原体相互作用におけるGPIアンカーの意義の解析
免疫学フロンティア研究センター・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
荒 瀬 尚	免疫学・医学博士	病原体による免疫制御機構の研究
免疫学フロンティア研究センター・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
熊 ノ 郷 淳	免疫学・医学博士	免疫調節・細胞動態制御分子の研究
免疫学フロンティア研究センター・教授(協力講座:医学系研究科予防環境医学専攻)		
鈴 木 匡	生化学・理学博士	遊離糖鎖および糖タンパク質の品質管理
理化学研究所(システム糖鎖生物学研究グループ)・チームリーダー		
山 口 芳 樹	構造生物学・薬学博士	NMRによる複合糖質の構造解析
理化学研究所(システム糖鎖生物学研究グループ)・チームリーダー		

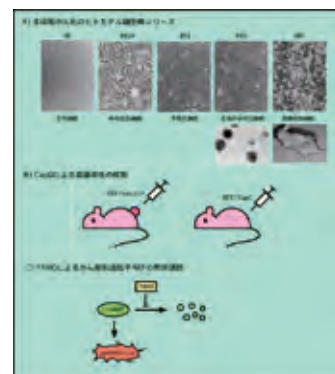
がん細胞研究グループ

研究グループ

准教授 理学博士 湯通堂 満寿男
助 教 薬学博士 東山 真二

(1) がん抑制遺伝子CapGの解析

我々は、1種類の正常細胞を出発材料として、異なった段階にまで悪性化した多段階がん化のヒトモデル細胞株シリーズを分離した(図)。このヒトモデル細胞株における各種遺伝子の発現変化を解析し、造腫瘍性を獲得する段階でCapG蛋白が消失することを明らかにした。この変化は胃がんや肺がんなど他のヒトがん細胞株でも見られる。CapG発現ベクターをヒトがん細胞株に導入すると、足場非依存性には影響を与えずに、造腫瘍性だけを抑制した。さらに、CapG蛋白はある種のがん遺伝子蛋白と相互作用することも明らかにした。このがん蛋白は別のがん抑制遺伝子蛋白と複合体を形成していることが分かっているため、CapG はこれらのがん蛋白・がん抑制蛋白複合体に作用することによりがん化を抑制していることが推測できる。



(2) 多段階がん化における細胞分化状態の変化とその役割

以前から、がん化した細胞はより未分化な細胞に特有の遺伝子が発現していることが知られていた。我々のモデル細胞株でも、正常細胞で発現していた遺伝子のがん化の途中の段階で消失したり、未分化な細胞に特有な遺伝子が新たに発現することが明らかになった。現在、これらの遺伝子のがん化に果たす役割を解析している。

(3) がん抑制蛋白p14ARFの活性を調節する遺伝子PANOの解析

低血清培地中で細胞にアポトーシスを誘導する核小体蛋白の遺伝子PANOを分離した。PANO蛋白は、同じ核小体蛋白であるARFの分解を抑制することによって発現量を増加させ、その結果、ARF依存的なアポトーシスを引き起こすことが分かった。ARFが発現していない細胞にはアポトーシスを起こさない。現在、実際のがんへの関与について検討している。

最近の代表的な論文

Watari, A., Takaki, K., Higashiyama, S., Li, Y., Satomi, Y., Takao, T., Tanemura, A., Yamaguchi, Y., Katayama, I., Shimakage, M., Miyashiro, I., Takami, K., Kodama, K., and Yutsudo, M. (2006). Suppression of tumorigenicity, but not anchorage-independence, of human cancer cells by new candidate tumor suppressor gene CapG. *Oncogene* 25, 7373-7380.

生殖細胞グループ

研究グループ

准教授 医学博士 野崎正美

1. 生殖細胞のエピジェネティクス

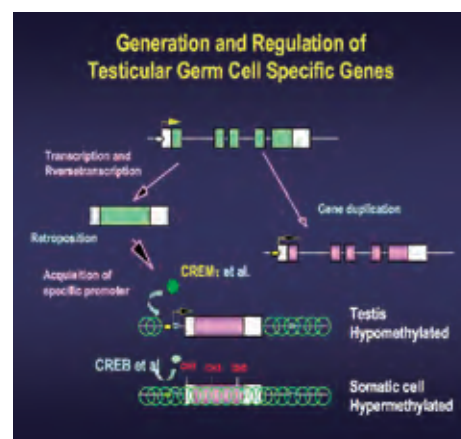
精巣生殖細胞特異的遺伝子の多くはレトロポゾンで、遺伝子内部にCpG-rich領域を持つ。これらは遺伝子内部のメチル化により体細胞では発現が抑えられ、生殖細胞では脱メチル化が発現に必要であることを明らかにした。現在、メチル化制御だけでなく、ヒストンメチル化修飾も含め、生殖細胞分化におけるエピジェネティカル制御機構の解析を行っている。

2. 精子核のユニークな構造

哺乳動物精子核は、半数体ゲノムがプロタミンによって高度に凝縮しており、一部にヒストンが残る。精子クロマチンの中で、体細胞型のヒストンを持つ領域の重要性を解析している。

3. In vitroにおける生殖細胞分化システムの確立

生殖細胞は培養系が確立していないために、細胞分化の分子機構の解析が遅れている。そこで、培養下におけるES細胞を用いた生殖細胞分化システムを確立し、分化メカニズムの解明を目指している。



図：精巣生殖細胞特異的遺伝子の成立と制御。精巣型アイソフォーム遺伝子は二つの方法で出来た。一つは通常の遺伝子重複で、もう一つはレトロポジョンだ。レトロポゾンの場合、mRNAから逆転写でできたcDNAが挿入されたものなので、5'上流にプロモーターを持たず、普通は発現しない、偽遺伝子となる。精巣生殖細胞で発現するという事はプロモーターとしての活性が弱い配列でも転写可能な特別な環境を生殖細胞が持つことを意味する。

最近の代表的な論文

Kato Y, Kaneda M, Hata K, Kumaki K, Hisano M, Kohara Y, Okano M, Li E, Nozaki M, Sasaki H. Role of the Dnmt3 family in de novo methylation of imprinted and repetitive sequences during male germ cell development in the mouse. *Hum Mol Genet.* 2007 Oct1; 16(19): 2272-80.

ゲノム動態研究グループ

研究グループ

准教授 医学博士 菱田 卓
 ポスドク 理学博士 春田 奈美

ゲノムDNAは、放射線や細胞の代謝産物などの外的・内的要因によって頻繁に損傷を受けており、これらの損傷によって引き起こされるDNA複製阻害は、ゲノム不安定性を引き起こす主要な要因であることが明らかになってきている。生物は、このようなDNA複製ストレスに対して働く複数の修復／トレランス経路や損傷チェックポイント機構を進化の過程で獲得、そして発展し、高度に制御された複雑なネットワーク(DNAトランスアクションネットワーク)を形成している。私たちは、出芽酵母及び大腸菌をモデル生物として用い、DNA損傷トレランスと呼ばれる、直接的な損傷の修復をすることなく損傷部位のバイパス機能によって複製阻害の回避を行うメカニズムの解析を行っています(図1)。また、これらDNAトランスアクションネットワークの破綻が引き起こすゲノム不安定性を詳細に解析し、ヒトにおける様々なゲノム不安定性に起因する疾患の分子レベルでのメカニズムを明らかにすることで、それらの生物学的・医学的意義を、統合的に理解することを目指しています。

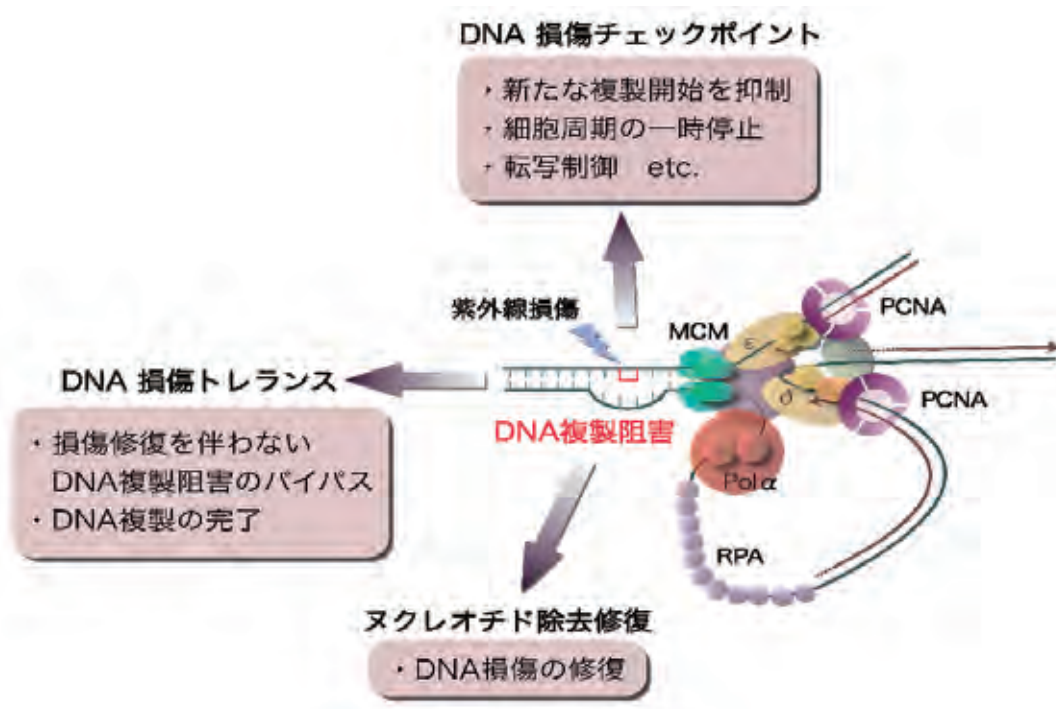


図1：紫外線によるDNA損傷が引き起こす複製阻害に対して働く3つの損傷応答機構。

最近の代表的な論文

1. Hishida, T., Kubota, Y., Carr, A. M. and Iwasaki, H. (2009) RAD6-RAD18-RAD5 pathway-dependent tolerance to chronic low-dose UV light. *Nature* 457, 612-615.
2. Ohya T., Arai, H., Kubota, Y., Shinagawa, H. and Hishida, T. (2008) A SUMO-like domain protein, Esc2, is required for genome integrity and sister chromatid cohesion in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 180, 41-50
3. Hishida, T., Ohya, T., Kubota, Y., Kamada, Y. and Shinagawa, H. (2006). Functional and physical interaction of yeast Mgs1 with PCNA: impact on RAD6-dependent DNA damage tolerance. *Mol. Cell. Biol.* 26, 5509-5517.
4. Hishida, T., Han, Y-W., Fujimoto, S., Iwasaki, H. and Shinagawa, H. (2004). Direct evidence that a conserved arginine in RuvB AAA+ ATPase acts as an allosteric effector for the ATPase activity of the adjacent subunit in a hexamer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101, 9573-9577.
5. Hishida, T., Han, Y-W., Shibata, T., Kubota, Y., Ishino, Y., Iwasaki, H. and Shinagawa, H. (2004). Role of the *Escherichia coli* RecQ DNA helicase in SOS signaling and genome stabilization at stalled replication forks. *Genes Dev.* 18, 1886-1897.

感染動物実験施設

研究グループ	施設長(兼)	薬学博士	岡部 勝	助教(兼)	医学博士	蓮輪 英毅
	准教授	薬学博士	伊川 正人	助教(兼)	薬学博士	井上 直和
	助教	薬学博士	磯谷 綾子	特任助教(兼)	生命科学博士	佐藤 裕公

感染症は、病原体とその感染対象である宿主との相互関係により成立する。したがって、感染症の発症のメカニズムと病態およびその治療法を研究するためには、病原体自体の解析と宿主側の防御機構の解析が重要なことは自明であるが、さらに踏み込んで病原体と宿主個体との相互作用を解析することが必要とされる。このためには臨床でのデータの蓄積とともに、動物実験による解析と検証は適当な代替実験方法がなく不可避のものである。当研究所では、設立当初より感染症研究の中での動物実験の重要性を認識するとともに、それらの実験が安全で正確にしかも適正に行われることが必要であると考えている。本施設は、国内で唯一の感染動物実験施設として昭和42年に設立され、時代に即応した運営を目指しつつ、感染症研究において大きな役割を担い続け、今日に至っている。

施設は大きく3つの区域、①感染飼育実験区域(バイオセーフティレベル2および3)、②SPF飼育実験区域、③一般飼育実験区域、に分けることができる。感染飼育実験区域への物質の出し入れは、pass-throughタイプの高圧蒸気滅菌器を通してしか行えないシステムになっている。また感染飼育実験区域は、空調完備とともに陰圧に保つことで汚染のリスクを最小限に抑え、さらに排気はHEPAフィルター濾過されることで、外部への病原体の離散は防がれている。上記のシステムにより、感染動物の飼育と実験が安全に行える施設となっている。実際の施設使用にあたっては、①オリエンテーション、②動物実験計画書の提出と審査、③施設職員による定期検査等により、適正な動物の飼育と実験が行われるよう努めている。

施設構成

A棟:高度安全飼育実験区域(図1)、感染飼育実験区域、ウサギ飼育室、SPF飼育実験区域

B棟:SPF飼育実験区域

研究概要

感染症に限らず生命科学研究において、分子レベルでの研究成果を動物個体レベルで実験・検証するための遺伝子組換え動物の重要性が大きな比重を占めるようになってきている。当施設では遺伝情報実験センターと共同して、生殖工学・発生工学を基盤とした遺伝子組換え動物の作製技術の研究・開発を行うとともに、①トランスジェニック動物の作製、②ノックアウト・ノックイン動物の作製、③顕微授精による系統維持、④動物系統の凍結保存など、最先端の技術を用いた動物実験のための研究支援を行っている(表1)。



図1) 高度安全動物飼育実験室(A棟1階)

バイオセーフティレベル3の感染実験が行える高度危険病原体動物実験室である。本実験室の利用により、腎症候性出血熱の病原体単離に成功し、クロイツフェルトヤコブ病、ATL、AIDSなどの病原因子に関する動物実験が安全かつ円滑に行えるようになった。

表1) 施設において作製・保存されたマウスの系統数

期間	TGマウス	KOマウス	凍結保存
1995-1997	92	14	83
1998-2000	116	23	178
2001-2003	101	49	443
2004-2006	43	76	331
2007-2009	21	69	216

TG, トランスジェニック; KO, ノックアウト

感染症DNAチップ開発センター

研究グループ	センター長(兼)教授	理学博士	野島 博
	助教	医学博士	奥崎 大介
	助教(兼)	医学博士	藪田 紀一

病原体の持つ病原性遺伝子が感染対象の宿主細胞において発現されることによって感染症は成立する。感染症の発症機構と病態の理解は、感染症の防御法と治療法の開発に重要である。そのためには、病原体の遺伝子が宿主の細胞中で発現されて病原性を発揮する仕組みだけでなく、宿主側の防御機構についても遺伝子レベルで解析することが必要となる。すなわち、病原体自体の遺伝子(ゲノム)のみでなく、宿主遺伝子(ゲノム)の感染に応答した遺伝子発現パターンの変動を詳細に解析することが求められる。本センターは、この目的を達成するために国内で唯一の感染症を対象としたDNAチップセンターとして平成16年度に発足した施設である。本施設での研究開発は以下の2つの方向から推進している。

(1) DNAチップ(DNA マイクロアレイ)を用いた遺伝子発現の包括的・網羅的な解析:

本センターに設置した高密度超小型DNAアレイ解析システムを駆使してヒト、マウス、感染体などの遺伝子の発現パターンを数万個の遺伝子の発現変動を同時に観察しながら解析する。一色型DNAマイクロアレイ(アフィメトリックス社)および二色型DNA マイクロアレイ(アジラント社)、ジェノパール選抜アレイ(三菱レイヨン社)のいずれについても解析が推進できるような体制を敷いている。トランスクリプトーム解析によって研究対象として絞り込まれた遺伝子については、リアルタイムPCR解析によって個々の試料における遺伝子発現量の変動を詳細に解析できるシステムも備えている。一方、感染・免疫システムの選択的トランスクリプトーム解析法の開発も本センターの研究テーマのひとつとして推進している。一例として、DNAマイクロアレイ解析を応用して、新たな血液RNA診断システムを構築し、それを自己免疫疾患に応用するという実用的な研究も展開している。

(2) 質量分析器を用いたタンパク質発現の包括的・網羅的な解析:

遺伝子発現により産生されるタンパク質の包括的な解析も重要な課題である。本センターに設置したMS/MS型質量分析装置を駆使してヒト、マウス、感染体などが産生するタンパク質間の相互作用や修飾動態などの解析を推進する。最近では、質量分析装置を用いた感染症の診断技術などが進んでいる現状を鑑み、最先端の研究に対応できるシステムも備えることで、独自の感染体検知システムの開発も視野に入れて研究を進めている。



図1：高密度超小型DNAアレイ解析システム

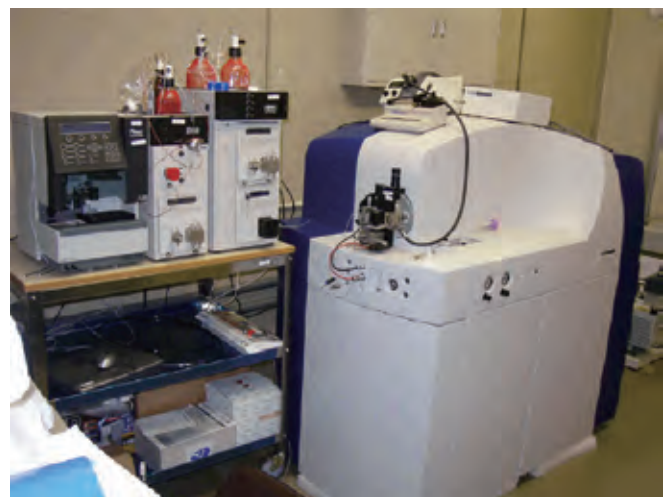


図2：MS/MS型質量分析装置

最近の代表的な論文

1. Tougan T, Okuzaki D, Nojima H. Chum-RNA allows preparation of a high-quality cDNA library from a single-cell quantity of mRNA without PCR amplification. *Nucleic Acids Res.* 2008 Sep;36(15):e92.
2. Kobayashi S, Ito A, Okuzaki D, Onda H, Yabuta N, Nagamori I, Suzuki K, Hashimoto H, Nojima H. Expression profiling of PBMC-based diagnostic gene markers isolated from vasculitis patients. *DNA Res.* 2008 Aug;15(4):253-65.
3. Tougan T, Onda H, Okuzaki D, Kobayashi S, Hashimoto H, Nojima H. Focused microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells from Churg-Strauss syndrome patients. *DNA Res.* 2008 Apr 30;15(2):103-14.

生体応答遺伝子解析センター

研究グループ

＜遺伝子改変動物作成部門＞

教授 薬学博士 岡部 勝
助教(兼) 医学博士 蓮輪 英毅

＜動物維持・管理部門＞

客員教授 医学博士 山村 研一
准教授(兼) 薬学博士 伊川 正人
助教(兼) 薬学博士 磯谷 綾子

＜共同研究推進部門＞

客員教授 理学博士 岩倉 洋一郎
助教(兼) 理学博士 後藤 直久
特任助教(兼) 生命科学博士 佐藤 裕公

＜生体応答解析部門＞

教授(兼) 医学博士 審良 静男
教授(兼) 医学博士 木下 タロウ
教授(兼) 医学博士 熊ノ郷 淳
教授(兼) 医学博士 荒瀬 尚
教授(兼) 医学博士 菊谷 仁
教授(兼) 理学博士 岡田 雅人
教授(兼) 医学博士 高倉 伸幸
教授(兼) 理学博士 野島 博
助教(兼) 薬学博士 井上 直和

生体は多くの遺伝子の働きによって恒常性が保たれている一つのシステムであり、遺伝子の機能異常が多くの疾病に関与している。従って、新たな治療法の開発のためには疾病に関連する遺伝子の機能とそれらの相互関係を知ることが重要である。しかし、未だ多くの遺伝子の機能は不明であり、疾病に関与する遺伝子の役割が体系的に解析された例は少ない。

遺伝子機能の解析には遺伝子改変動物が極めて有用であり、疾病の発症機構を明らかにして有効な治療法を確立するためには、組織的に遺伝子改変動物を作製するとともに、我が国独自の生物資源を確保することが急務である。すでに諸外国では創薬に関する知的財産権の確保を念頭に大量の遺伝子改変マウスの作製プロジェクトが始まっており、我が国においても早急に体系的な体制を整備しなければならない。

そこで、これまでに多くの遺伝子改変マウスを作製した実績の豊富な大阪大学微生物病研究所(微研)、東京大学医科学研究所(医科研)、熊本大学生命資源研究・支援センター(生命資源センター)が独自に開発した優れた技術を相互に提供し合うとともに、対象を絞りこみながら効率的かつ系統的に遺伝子改変マウスを作製する。さらに、それぞれのもつ優れた病態解析システムを相互利用することで、我が国の生命科学の研究の発展に資する礎を築く。医科研ではがん免疫に関する遺伝子群について、そして生命資源センターでは難治疾患に関する遺伝子群について、そして微研では生殖異常・感染・アレルギー免疫に関する遺伝子群についてフォーカスをあてて研究を行う(図1)。また各機関のもつ長所をお互いに利用しながら、それぞれが特化した分野の遺伝子改変マウスの作製を行う。得られた遺伝子改変マウスは各機関が連携した効率的な解析システムにかけることにより疾病との連関を明らかにする。このような研究を通して、新たな治療法の開発に資する基礎的な知見を蓄積し、さらに応用にむけたトランスレーショナル研究を行う。また、結果として多くの遺伝子改変動物を作製することにより、我が国独自の遺伝子資源を確保するとともに、疾病の新規治療法や新薬の開発に向けた基礎研究を行なう。

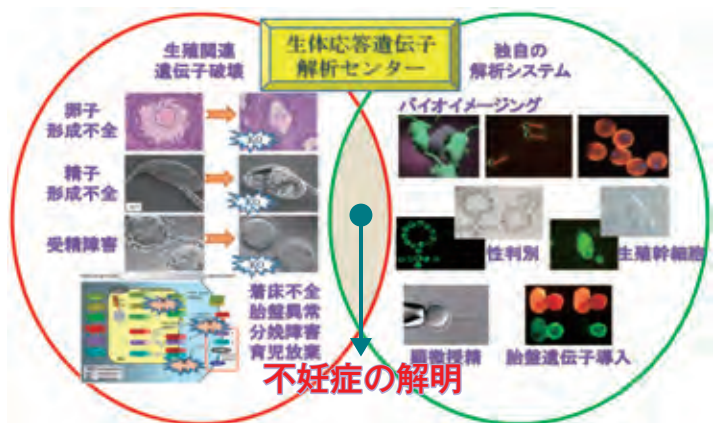


図1 不妊症の解明に向けた戦略

最近の代表的な論文

1. Inoue N, Kasahara T, Ikawa M, Okabe M. Identification and disruption of sperm-specific angiotensin converting enzyme-3 (ACE3) in mouse. PLoS ONE. 2010. 5, e10301.
2. Fujihara Y, Murakami M, Inoue N, Satouh Y, Kaseda K, Ikawa M, Okabe M. Sperm equatorial segment protein 1, SPESPI, is required for fully fertile sperm in mouse. J Cell Sci. 2010. 123, 1531-1536.
3. Yamaguchi R, Muro Y, Isotani A, Tokuhiko K, Takumi K, Adham I, Ikawa M, Okabe M. Disruption of ADAM3 impairs the migration of sperm into oviduct in mouse. Bio Reprod. 2009. 81, 142-146.
4. Yamaguchi R, Yamagata K, Hasuwa H, Inano E, Ikawa M, Okabe M. Cd52, known as a major maturation-associated sperm membrane antigen secreted from the epididymis, is not required for fertilization in the mouse. Genes Cells. 2008. 13, 851-861.
5. Okada Y, Ueshin Y, Isotani A, Saito-Fujita T, Nakashima H, Kimura K, Mizoguchi A, Oh-hora M, Mori Y, Oagata M, Oshima RG, Okabe M, Ikawa M. Complementation of placental defects and embryonic lethality by trophoblast-specific lentiviral gene transfer. Nat Biotechnol. 2007. 25, 233-237.

微研ミュージアム

研究グループ 微研ミュージアム設置準備小委員会委員長(兼)教授 理学博士 野島 博

微研の歴史をパネル展示や資料の開示などを通じてミュージアム形式で公開する。平成22年12月オープンを目指して現在、準備中である。

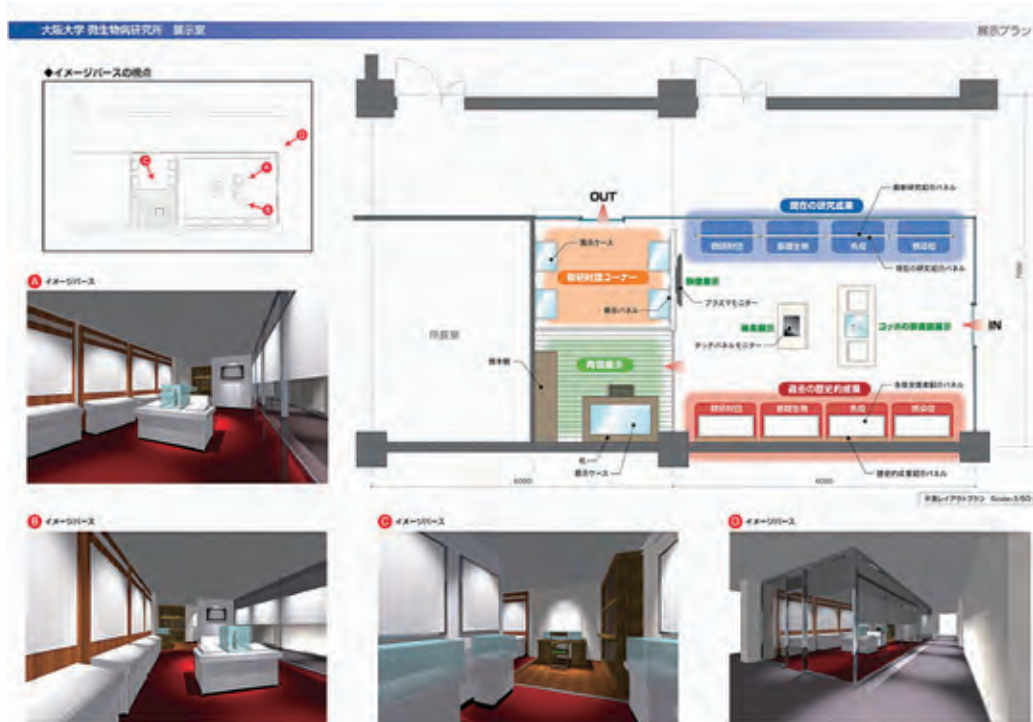


図1:微研ミュージアムのイメージパス。

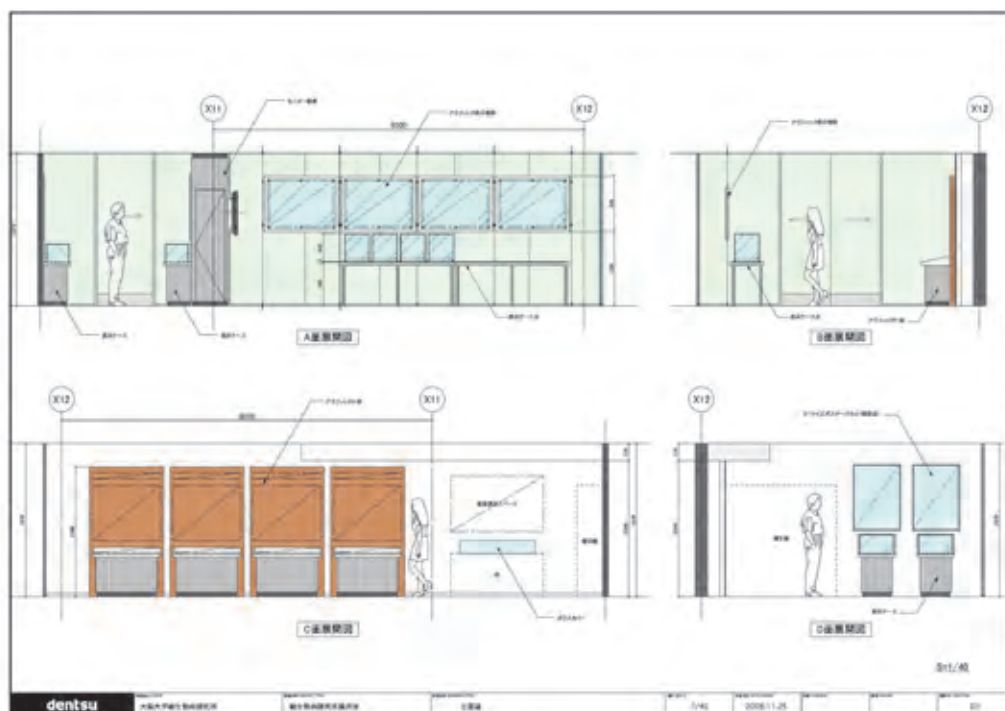


図2:微研ミュージアムの立体設計図。

中央実験室

室長

教授 理学博士 岡田 雅人
准教授 理学博士 湯通堂 満寿男
助教 薬学博士 東山 真二

中央実験室は昭和34年前後、実験機器が不足していた時期に、共通で利用できる機器を各研究室から持ち寄り、相互の便宜を図る目的で設立された。現在では、様々な精密・高性能な研究機器が設置され、いつでも使用可能な状態になっている。主要な研究機器としては、分離用超遠心機、透過型および走査型電子顕微鏡、マイクロダイセクションレーザー顕微鏡、セルソーター、プラスミド自動分離装置、DNAシーケンサー、質量分析装置などが設置されている。それに加えて、液体窒素の供給を自動化した大型細胞保存タンク室、特定化学物質を取り扱うための実験室なども完備している。担当の技術者は機器の保守・管理だけでなく、新入研究者に対しての教育・訓練を分担している。また、セルソーターによる細胞の分画、質量分析装置による蛋白質の同定、電子顕微鏡による観察、および、DNAシーケンサーによる塩基配列決定については、受託業務として、所内の研究者から依頼されたサンプルの解析を代行している。今後、実験機器は益々複雑化し、研究者個人では多種類の実験機器を操作できなくなってくるため、上記のような受託業務をより多くの機器を対象としたものへと広げる計画が進んでいる。



放射性同位元素実験室

室長

教授 理学博士 岡田 雅人
助教 薬学博士 東山 真二



当実験室は医学的研究において放射性同位元素を用いる実験を行うための施設として、研究所の吹田キャンパス移転に伴い、昭和42年に研究所本館に近接しRI共同実験室(403 m²)として設置された。また、昭和54年に北館1階共同無菌RI実験室、昭和58年に感染症共同実験棟RI実験室、平成10年には南館地下1階137Csガンマ線照射室、さらに平成19年には遺伝情報実験センターRI実験室が加わり、放射線管理区域の総面積は約1700m²を有するまでとなった。放射線管理区域内には放射性同位元素貯蔵室、廃棄物保管室、浄化設備及び使用する場所である実験室と各種研究目的にあわせた放射線測定機器室、培養室等が設けられている。放射線管理区域への入退室はIDカードにより集中管理されており、放射性同位元素の使用の記録等もコンピュータ管理され、安全性を保持している。平成21年度の登録された放射線業務従事者は220名ののぼり、当研究所において重要な役割を果たしている。

感染症共同実験室

室長

教授 医学博士 塩田 達雄



当実験室は1983年に腎症候性出血熱(HFRS)ウイルスを取扱う施設として建築された。ヒト免疫不全ウイルス(HIV)を含めて、危険度の高い(クラス3)病原微生物を取扱う本研究所での研究はすべて当実験室で行われている。当実験室は平面積550㎡を有する3階建て、生物学的災害(バイオハザード)を防止するように設計されている。各実験室はエアロックにより外部と隔離され、実験室内では外→内の気流を確保している。感染症実験操作は安全キャビネット内で行い、排気は高性能フィルターによって濾過滅菌される。各室にオートクレーブを設置し、実験使用物は完全滅菌を施した後に廃棄している。多様な病原体を同時に取り扱えるよう平成17年度から3年かけて全面的な改修を行い、部屋数を1.5倍に増やした。

感染症共同実験室の使用申請書を提出しバイオセーフティー委員会で承認された実験室使用者の数は平成20年度66名、21年度64名であった。使用病原体はHIV、インフルエンザウイルス、SARSウイルスなどのウイルスの他、スクレイピー病原体まで多岐に渡る。

図書室

室長

教授 医学博士 荒瀬 尚

微研図書室は微生物学・免疫学を中心に、関連する細胞学、遺伝学、組織学、発生学、生化学、薬理学、病理学、細菌学、腫瘍学等の図書・学術雑誌を主に収集している。中でも寄生虫学関係の蔵書は、他機関であまり所蔵されていないものも多く、学内外の多方面から利用されている。

融合型生命科学総合研究棟新営に伴い、2007年12月から南館1Fに仮図書室を開室していたが、2010年6月、耐震改修工事が終了した本館1Fに新設された図書室へ移転した。

仮図書室は非常に手狭だったため、断腸の思いで資料の大量廃棄処分を行い、当研究所で発行された以外の学術雑誌については、1991年以降発行分からの所蔵となった。現在の蔵書数は約1万3千冊、定期的に受入している雑誌は、欧文誌約70タイトル、和文誌約20タイトルである。新着以外の雑誌は、南館1Fの書庫に配架している。

図書室で所蔵している資料は、附属図書館のオンライン目録システムに登録されており、国立情報学研究所のILL(Inter Library Loan)システムによって全国の大学図書館との相互利用が可能になっている。図書室運営委員として、教授2名、准教授2名、助教1名が運営の任に当たり、実際の職務は3名の職員により行われている。

当研究所の出版物 "Annual Reports of the Research Institute for Microbial Diseases Osaka University" (2003年より電子化)の編集、アップロード等の作業も図書室で行い、図書室職員がその任に当たっている。

世界トップレベル研究拠点

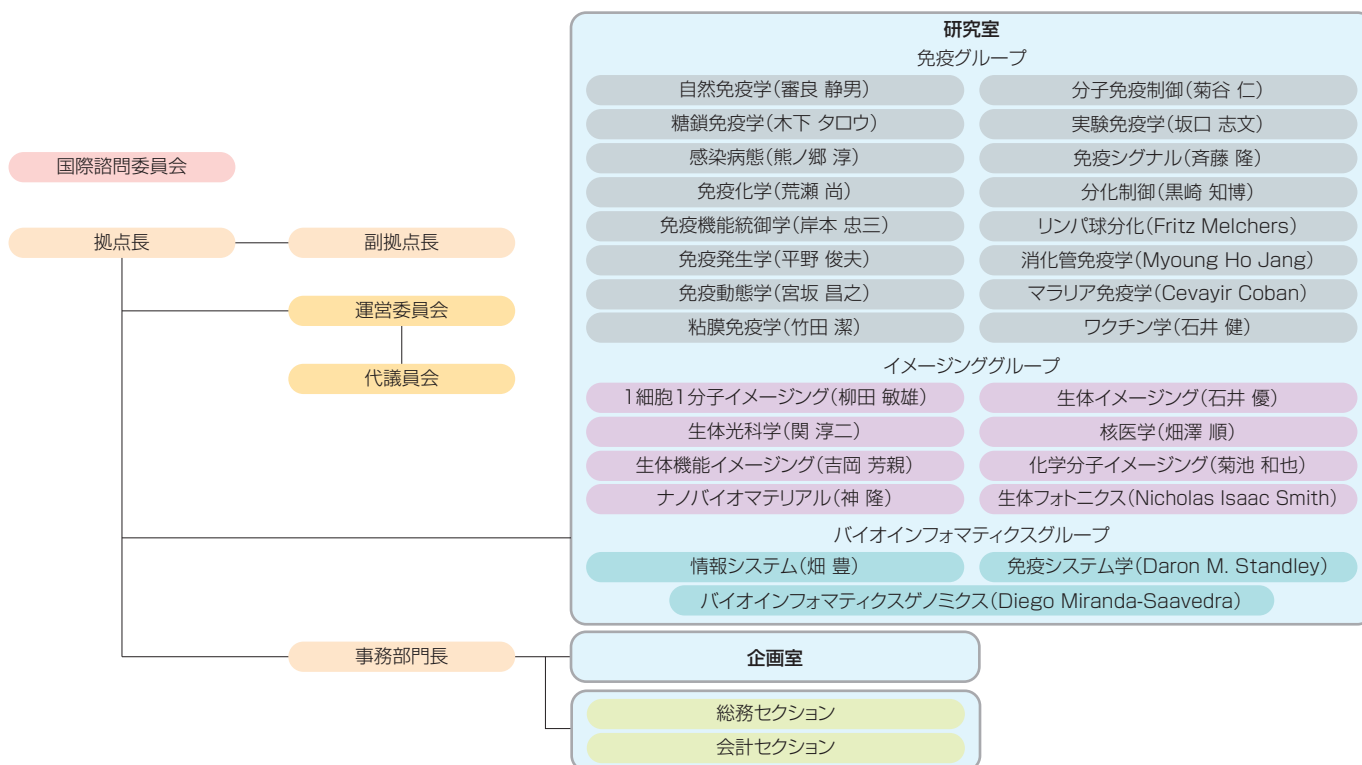
免疫学フロンティア研究センター

● 本拠点の特色と意義

免疫学フロンティア研究センター(Immunology Frontier Research Center: IFRc)は、世界トップレベルの「目に見える拠点形成」を目的とした、文部科学省の「世界トップレベル国際研究拠点プログラム」に採択され平成19年10月1日に発足し、免疫学研究の第一人者である審良静男教授が拠点長に就任しました。

免疫学とは微生物感染から我々の体を守る生体防御のメカニズムを研究する学問体系です。免疫システムは感染した病原体を宿主から排除する上で必須であり、免疫システムの異常は、自己免疫疾患、移植片拒絶、アレルギー反応といった様々な疾患の原因となります。

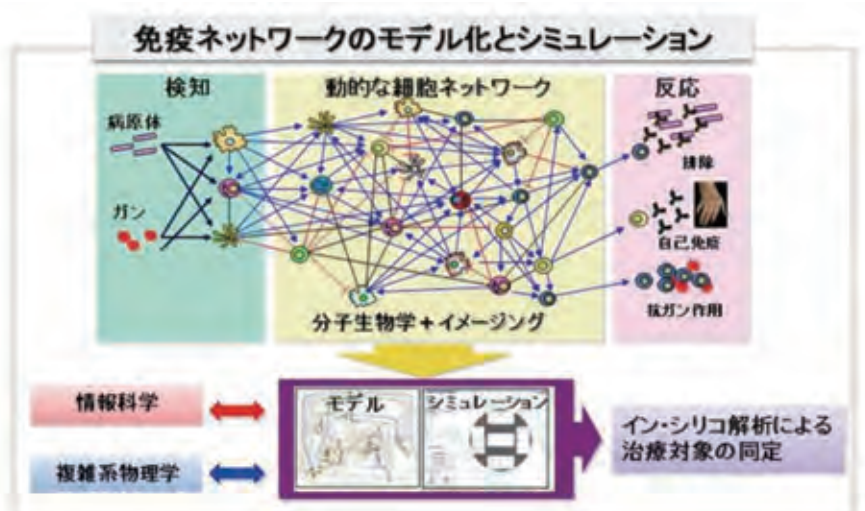
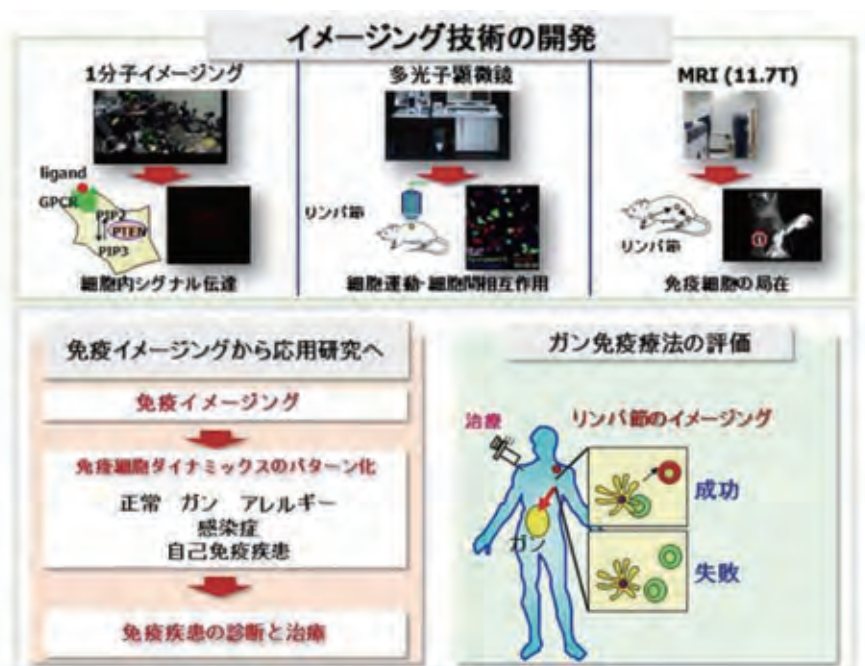
免疫学は、日本がリードしてきた領域の一つであり、その多くを山村雄一元総長や岸本忠三元総長をはじめとする大阪大学の研究者が成し遂げてきました。IFReCは、こうした免疫学研究をより発展させるため、免疫学とイメージング(画像化)技術、さらにバイオインフォマティクス(生体情報学)との融合研究を通して、動物生体内(in vivo)における免疫反応を可視化、あるいは予測することによる免疫系の動的な全貌を明らかにすることを目的としています。IFReCでは、20名以上の世界トップレベルの主任研究者を中心に、世界に類のない研究拠点の構築を目指しています。



●研究内容・期待される成果

これまで免疫学の研究は主に、体内より取り出した細胞や培養した細胞を用いて行われてきました。このような研究方法は、免疫学に様々な知見をもたらしましたが、病原体感染に対する免疫応答の結果を予測し、免疫応答の全体像を描写する段階にまでには達していません。こうした課題を克服するためには、免疫細胞のイメージングや分子イメージングの開発と生体情報学（バイオインフォマティクス）の導入は必要不可欠です。

さらに、生体内(in vivo)での免疫システムの機能理解を研究するためには、イメージング技術の向上だけでなく、物理学・コンピュータサイエンスなどとの免疫学の融合研究が求められます。IFReCでは世界トップクラスの研究者を中核とし、免疫学とイメージング技術・バイオインフォマティクスとの共同研究を通して、免疫の相互作用、免疫細胞活性化のダイナミズムを理解し、新しい戦略に基づいた感染症ワクチンの開発や、様々な感染症や癌に対する免疫療法のコンセプト創出、自己免疫疾患の治療法の開発を目指しています。



運営費交付金収入

(単位:千円)

区 分	平成17年度	平成18年度	平成19年度	平成20年度	平成21年度
人 件 費	926,795	943,574	917,415	905,437	859,673
物 件 費	754,260	643,140	495,488	513,073	548,947
計	1,681,055	1,586,714	1,412,903	1,418,510	1,408,620

その他収入

(単位:千円)

区 分	平成17年度	平成18年度	平成19年度	平成20年度	平成21年度
受託研究費等	946,305	997,753	1,175,396	1,022,353	1,040,180
奨学寄附金	194,528	252,863	1,215,677	187,969	343,772
そ の 他	6,408	7,499	4,591	3,406	2,090
計	1,147,241	1,258,115	2,395,664	1,213,728	1,386,042

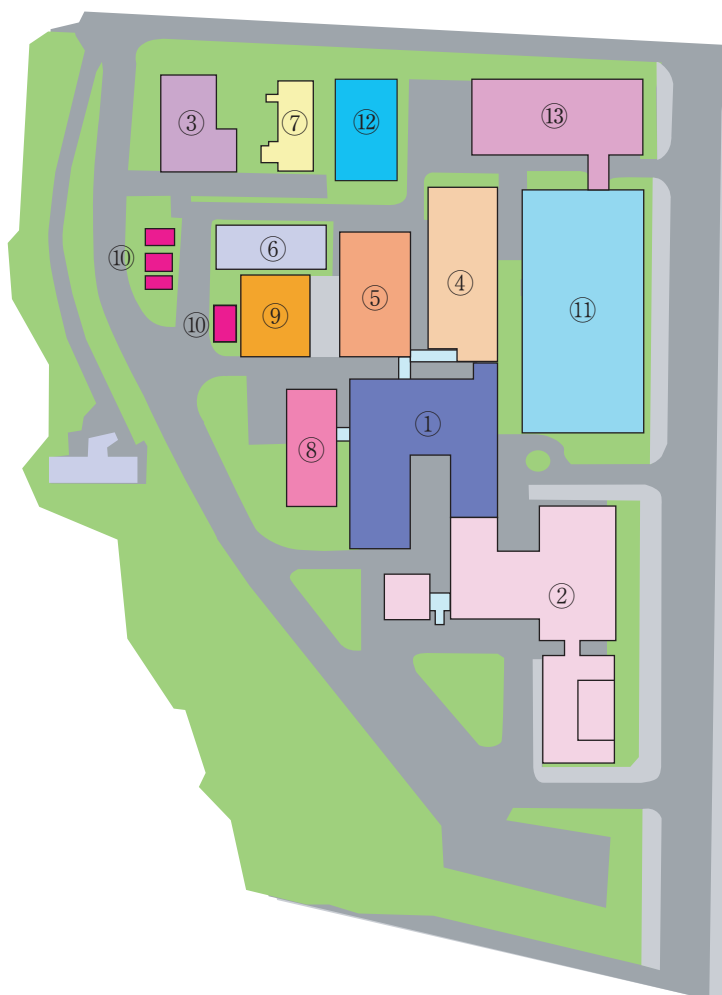
補助金等収入(間接経費を含む)

(単位:千円)

区 分	平成17年度	平成18年度	平成19年度	平成20年度	平成21年度
文部科学省 科学研究費補助金	604,530	578,559	613,870	863,592	688,999
厚生労働省 科学研究費補助金	136,220	156,049	237,575	163,278	118,789
厚生労働省老人保健事業 推進費等補助金	-	-	-	18,000	13,988
21世紀COEプログラム (研究拠点形成費等補助金)	174,700	192,500	196,900	-	-
グローバルCOEプログラム (研究拠点形成費等補助金)	-	-	-	149,599	120,037
計	915,450	927,108	1,048,345	1,194,469	941,813

敷地 …… 36,197㎡

建物 …… 建面積 7,752㎡ 延面積 27,408㎡



①⑪本館(左)融合型生命総合研究棟(右)



②南館



⑦感染症共同実験室・⑤⑥感染動物実験施設

建物名称	階数	建面積(㎡)	延面積(㎡)
①本館	7	1,518	6,059
②南館	3(地下1)	1,712	4,941
感染症DNAチップ開発センター[1F]および遺伝情報実験センター[2F]を含む			
③北館	3	499	1,259
④別館	2	771	1,548
⑤感染動物実験施設A棟	2	640	1,293
⑥感染動物実験施設B棟	4	354	1,430
⑦感染症共同実験室	3	242	550
⑧RI実験棟	1	403	403
⑨機械棟	2	378	504
⑩危険薬品庫等	1	163	163
⑪融合型生命科学総合研究棟	10	1,072	9,258
⑫感染動物実験施設C棟	3(地下1)	600	2,400
(免疫学フロンティア研究センター管理)			
⑬免疫学フロンティア研究センター棟	(平成23年3月竣工予定)		

所在地



交通案内



- 電 車 阪急電車千里線 北千里駅下車 徒歩12分
- モノレール 大阪モノレール彩都線 阪大病院前駅下車 徒歩20分
- バ ス 阪急バス 千里中央発 「小野原東行」、「豊川駅行」又は「富士火災行」 阪大口下車 徒歩5分
- 阪急バス 千里中央発 「阪大本部前行」又は「茨木美穂ヶ丘行」
- 近鉄バス 阪急茨木市駅発「阪大本部前行」(JR茨木駅経由) 阪大本部前下車 徒歩12分

吹田キャンパス

微生物病研究所



キャンパスマップ



バイオ関連多目的研究施設
TEL : 06-6872-8200
住所 : 〒565-0874
吹田市古江台6-2-3

① 本部事務機構	吹田市山田丘	1-1	①7 留学生センター	吹田市山田丘	1-1
② 人間科学研究科・人間科学部	//	1-2	①8 生物工学国際交流センター	//	2-1
③ 医学系研究科・医学部(医学科)	//	2-2	①9 先端科学イノベーションセンター	//	2-1
④ 医学系研究科・// (保健学科)	//	1-7	②0 臨床医工学融合研究教育センター	//	2-2
⑤ 医学部附属病院	//	2-15	②1 グローバルコラボレーションセンター	//	2-7
⑥ 歯学研究科・歯学部・同附属病院	//	1-8	②2 サステナビリティ・デザイン・センター	//	2-1
⑦ 薬学研究科・薬学部	//	1-6	②3 レーザーエネルギー学研究センター	//	2-6
⑧ 工学研究科・工学部	//	2-1	②4 免疫学フロンティア研究センター	//	3-1
⑨ 生命機能研究科	//	1-3	②5 産業科学研究所	茨木市美穂ヶ丘	8-1
⑩ 情報科学研究科	//	1-5	②6 社会経済研究所	//	6-1
⑪ 大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究所	//	2-2	②7 接合科学研究所	//	11-1
⑫ 微生物病研究所	//	3-1	②8 超高圧電子顕微鏡センター	//	7-1
⑬ 蛋白質研究所	//	3-2	②9 サイバーメディアセンター	//	5-1
⑭ 低温センター	//	2-1	③0 核物理研究センター	//	10-1
⑮ ラジオアイソトープ総合センター	//	2-4			
⑯ 環境安全研究管理センター	//	2-4			

