

国立大学法人 大阪大学

# 微生物病研究所



2012–2013

## 目次

## Contents

沿革と概要	<i>History &amp; Outline</i>	1
機構	<i>Organization</i>	2
歴代所長／歴代教授	<i>Former Directors &amp; Professors</i>	3
役職員等	<i>Department Heads</i>	4
構成員	<i>Faculty &amp; Students</i>	5
研究活動の概要	<i>Research &amp; Activities</i>	
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	.....	32
遺伝情報実験センター	.....	36
感染症国際研究センター	.....	42
感染症学免疫学融合プログラム推進室 <i>Office of Combined Program on Microbiology and immunology</i>		49
日本・タイ感染症共同研究センター <i>Thailand-Japan Research Collaboration Center on Emerging and Re-emerging Infections</i>		51
大阪・マヒドン感染症センター <i>Mahidol-Osaka Center for Infectious Diseases</i>		54
デングワクチン（阪大微生物病研究会）寄附研究部門 <i>BIKEN Endowed Department of Dengue Vaccine Development</i>		55
グローバルCOEプログラム	<i>Global COE Program</i>	56
附属研究施設／共通研究施設	<i>Research Facilities</i>	59
免疫学フロンティア研究センター	<i>Immunology Frontier Research Center</i>	65
決算／敷地／建物	<i>Accounts &amp; Building Area</i>	68
案内図	<i>Map &amp; Access</i>	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臘二是、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、この要請に応えて 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つた。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つた。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つて來た。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発がんの成功、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单クローニング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つている。



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  
 分子細菌学分野  
 ウィルス感染制御分野  
 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

Division of Infectious Diseases  
 Department of Molecular Bacteriology  
 Department of Viral Infections  
 Department of Molecular Virology  
 Department of Pharmacotherapy  
 Department of Immunoparasitology  
 Division of Host Defense  
 Department of Molecular Immunology  
 Department of Immunoregulation  
 Department of Host Defense  
 Department of Cell Biology  
 Department of Immunochemistry  
 Division of Cellular and Molecular Biology  
 Department of Molecular Microbiology  
 Department of Molecular Genetics  
 Department of Oncogene Research  
 Department of Signal Transduction  
 Department of Cellular Regulation

附属施設 Special Research Facilities

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  
 ウィルス免疫分野  
 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  
 感染制御部門  
 病原微生物資源室  
 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

Research Center for Infectious Disease Control  
 Department of Bacterial Infections  
 Department of Molecular Protozoology  
 Department of Virology  
 Genome Information Research Center  
 Department of Experimental Genome Research  
 Department of Genome Informatics  
 Department of Infection Metagenomics  
 International Research Center for Infectious Diseases  
 Department of Special Pathogens  
 Department of Infectious Disease Control  
 Pathogenic Microbes Repository Unit  
 Animal Resource Center for Infectious Diseases  
 DNA-chip Development Center for Infectious Diseases  
 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  
 教育推進グループ

Research Promotion Group  
 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  
 ウィルス感染部門 Section of Viral Infections  
 大阪マヒドン感染症センター Mahidol-Osaka Center for Infectious Diseases  
 デングワクチン（阪大微生物病研究会）寄附研究部門 BIKEN Endowed Department of Dengue Vaccine Development

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

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)
2代	今村 荒男	(昭和15年8月～昭和18年7月)
3代	谷口 豊二	(昭和18年7月～昭和30年3月)
4代	藤野 恒三郎	(昭和30年4月～昭和33年3月)
5代	釜洞 醇太郎	(昭和33年4月～昭和39年3月)
6代	天野 恒久	(昭和39年4月～昭和43年3月)
7代	奥野 良臣	(昭和43年4月～昭和47年3月)
8代	堀 三津夫	(昭和47年4月～昭和51年3月)
9代	川俣 順一	(昭和51年4月～昭和55年3月)
10代	加藤 四郎	(昭和55年4月～昭和59年3月)
11代	高橋 理明	(昭和59年4月～昭和61年3月)
12代	三輪谷 俊夫	(昭和61年4月～昭和63年3月)
13代	角永 武夫	(昭和63年4月～昭和63年9月)
14代	藤尾 啓	(昭和63年11月～平成2年10月)
15代	豊島 久真男	(平成2年11月～平成5年10月)
16代	羽倉 明	(平成5年10月～平成9年10月)
17代	西宗 義武	(平成9年10月～平成13年10月)
18代	本田 武司	(平成13年10月～平成15年10月)
19代	木下 タロウ	(平成15年10月～平成19年10月)
20代	菊谷 仁	(平成19年10月～平成23年10月)
21代	目加田 英輔	(平成23年10月～ )

Yashiro Kotake, M.D., Professor	1934.9～1940.6
Arao Imamura, M.D., Professor	1940.8～1943.7
Tenji Taniguchi, M.D., Professor	1943.7～1955.3
Tsunesaburo Fujino, M.D., Professor	1955.4～1958.3
Juntaro Kamahora, M.D., Professor	1958.4～1964.3
Tsunehisa Amano, M.D., Professor	1964.4～1968.3
Yoshiomi Okuno, M.D., Professor	1968.4～1972.3
Mitsuo Hori, M.D., Professor	1972.4～1976.3
Junichi Kawamata, M.D., Professor	1976.4～1980.3
Shiro Kato, M.D., Professor	1980.4～1984.3
Michiaki Takahashi, M.D., Professor	1984.4～1986.3
Toshio Miwatani, M.D., Professor	1986.4～1988.3
Takeo Kakunaga, D.Pharm., Professor	1988.4～1988.9
Hajime Fujio, M.D., Professor	1988.11～1990.10
Kumao Toyoshima, M.D., Professor	1990.11～1993.10
Akira Hakura, D.Sc., Professor	1993.10～1997.10
Yoshitake Nishimune, M.D., Professor	1997.10～2001.10
Takeji Honda, M.D., Professor	2001.10～2003.10
Taroh Kinoshita, D.Med.Sc., Professor	2003.10～2007.10
Hitoshi Kikutani, M.D., Professor	2007.10～2011.10
Eisuke Mekada, Ph.D., Professor	2011.10～

歴代教授 Former Professors

医学博士	古武 弥四郎	所長
医学博士	吉田 貞雄	寄生虫学
医学博士	今村 荒男	所長
医学博士	佐谷 有吉	癲治療研究部
医学博士	谷口 豊二	所長
医学博士	世良好太	細菌化学部
医学博士	政山 龍徳	癌治療学部門
医学博士	大谷 象平	細菌化学部
医学博士	関悌四郎	防疫学部
医学博士	須田 正巳	細菌化学部
医学博士	森下 薫	寄生虫原虫学部門
医学博士	山口 寿	臨床部門
医学博士	藤野 恒三郎	細菌血清学部門
医学博士	伊藤 政一	第一結核研究科
医学博士	釜洞 醇太郎	腫瘍ウイルス部門
医学博士	西村 真二	癲部門
医学博士	加藤 允彦	結核病理学部門
医学博士	米田 政彦	抗酸菌生理学部門
医学博士	芝 茂	臨床部門
医学博士	猪木 正三	寄生虫原虫学部門
医学博士	堀 三津夫	結核病理学部門
医学博士	奥野 良臣	麻疹部門
医学博士	石上 重行	臨床部門
医学博士	天野 恒久	免疫化学部門
医学博士	川俣 順一	化学療法部門
医学博士	岡田 善雄	動物ウイルス部門
理学博士	鳥居 光雄	免疫化学部門
医学博士	深井 孝之助	防疫学部門
医学博士	森 龍男	結核病理学部門
医学博士	伊藤 利根太郎	癲部門
薬学博士	角永 武夫	癰癌遺伝子部門
医学博士	加藤 四郎	感染病理学部門
医学博士	中林 敏夫	原虫学部門
医学博士	山之内 孝尚	感染動物実験施設

医学博士	三輪谷 俊夫	細菌血清学部門
医学博士	高橋 理明	麻疹部門
医学博士	藤尾 啓	免疫化学部門
医学博士	田口 鐵男	臨床部門
理学博士	松代 愛三	細菌ウイルス部門
理学博士	中田 篤男	化学療法部門
医学博士	岡山 博人	分子遺伝研究分野
医学博士	豊島 久真男	癰癌遺伝子部門
医学博士	木谷 照夫	臨床部門
医学博士	高井 新一郎	臨床部門
医学博士	松田 守弘	細菌毒素学分野
医学博士	栗村 敬	ウイルス感染制御分野
医学博士	山西 弘一	ウイルス免疫分野
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）
理学博士	秋山 徹	癰癌制御研究分野
医学博士	倉田 育	エマージング感染症研究センター
医学博士	上田 重晴	神経ウイルス分野
医学博士	島田 和典	遺伝子疾患研究分野
医学博士	笹川 千尋	細菌毒素学分野
理学博士	杉野 明雄	遺伝子複製研究分野
医学博士	清野 宏	免疫化学分野
医学士	西宗 義武	感染動物実験施設
医学博士	仲野 徹	遺伝子動態研究分野
理学博士	品川 日出夫	遺伝子生物学分野
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	松田 道行	情報伝達分野
医学博士	本田 武司	細菌感染分野
医学博士	谷口 直之	疾患糖鎖学（生化学工業）寄附研究部門
医学博士	吉森 保	細胞制御分野
医学博士	田邊 和祐	感染症国際研究センター
理学博士	今本 文男	分子生物学寄附研究部門
医学博士	熊ノ郷 淳	感染病態分野
医学博士	大石 和徳	感染症国際研究センター
医学博士	亀岡 正典	日本・タイ感染症共同研究センター

平成24年4月1日現在

所長 副所長	教授 教授	医学博士 獣医学博士	目加田 英輔 松浦 善治
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	教授 教授 教授 准教授	農学博士 医学博士 獣医学博士 医学博士	堀口 安彦 塙田 達雄 松浦 善治 山本 雅裕
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	教授 教授 教授 教授 教授	医学博士 医学博士 医学博士 医学博士 医学博士	菊谷 仁 木下 夕口ウ 審良 静男 目加田 英輔 荒瀬 尚
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	理学博士 理学博士 医学博士 理学博士	野島 博 岡田 雅人 高倉 伸幸 三木 裕明
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	センター長・教授	理学博士	堀井 俊宏
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	教授 教授 センター長・教授 教授 教授	理学博士 医学博士 理学博士 葉学博士 理学博士	堀井 俊宏 生田 和良 安永 照雄 岡部 勝 安永 照雄
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	センター長・教授	理学博士	堀井 俊宏
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	特任教授 特任准教授 特任教授 准教授	医学博士 医学博士 医学博士 理学博士	藤永 由佳子 森田 英嗣 飯田 哲也 永井 宏樹
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	施設長・教授 センター長・教授 センター長・教授	葉学博士 理学博士 葉学博士	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	目加田 英輔 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	医学博士 歯学博士 医学博士	武田 直和 浜田 茂幸 武田 直和
大阪マヒドン感染症センター	センター長・教授 特任准教授	獣医学博士 獣医学博士	松浦 善治 岡林 環樹
デングワクチン(阪大微生物病研究会)寄附研究部門	教授	医学博士	小西英二
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 理学博士	岡田 雅人 岡田 雅人 塙田 達雄 堀井 俊宏
事務部	事務長		上殿 克巳

## 職員 Staff

平成24年4月1日現在

教授	Professor	16
寄附研究部門教授	Endowed Chair Professor	1
特任教授	SA Professor	4
准教授	Associate Professor	14
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	4
助教	Assistant Professor	30
寄附研究部門助教	Endowed Chair Assistant Professor	1
特任助教	SA Assistant Professor	10
教務職員	Educational Support Staff	3
技術職員	Technical Staff	3
事務職員	Administrative Staff	21
特任研究員	SA Researcher	47
事務・技術補佐員	Part-time General & Technical staff	48
計	Total	206

SA : Specially Appointed

## 大学院学生 Graduate Students

平成24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	21	3
理学研究科	Graduate School of Science	3	11
薬学研究科	Graduate School of Pharmaceutical Science	0	1
歯学研究科	Graduate School of Dentistry	0	0
生命機能研究科	Graduate School of Frontier Biosciences	8	4
計	Total	32	19

※微生物病研究所に配属の者を計上

## 研究員・研究生 Research Fellows &amp; Research Students

平成24年4月1日現在

特別研究学生	Special research students	0
研究生	Research Students	7
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	3
計	Total	11

## 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

特任研究員 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

研究内容：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、百日咳菌壞死毒、パストレラ毒素、ウエルシュ菌エンテロトキシン、大腸菌細胞壞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的回答を得るために、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。

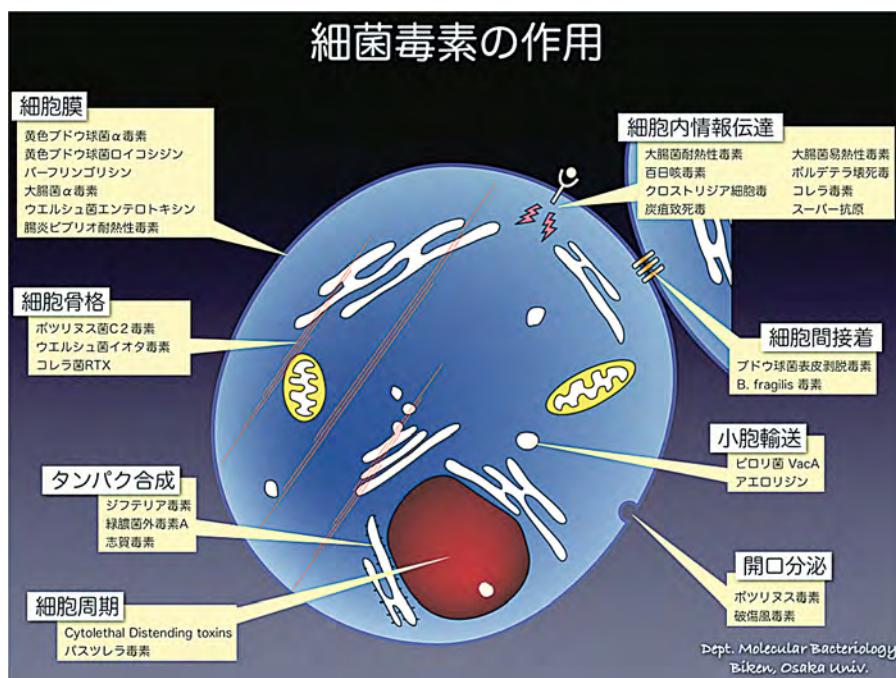


図1：多彩な細胞機能に影響を及ぼす細菌毒素  
細菌毒素の多くは宿主細胞の重要な機能を修飾することによって効率的に作用を発揮する。  
すなわち細菌毒素の作用機構の解析は細菌感染病態のみならず動物細胞機能の理解にも役立つといえる。

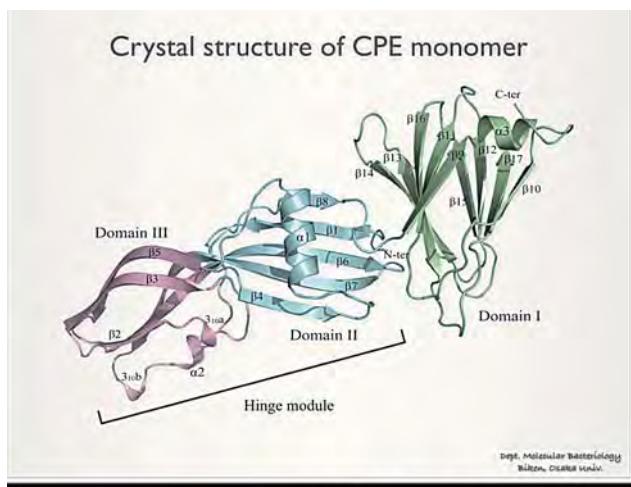


図2：ウエルシュ菌エンテロトキシンの立体構造

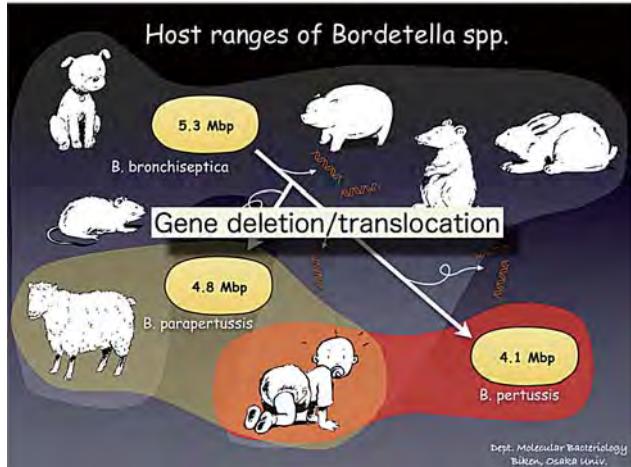


図3：百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) 類縁の気管支敗血症菌 (*B. bronchiseptica*) と類百日咳菌 (*B. parapertussis*) のゲノムサイズと宿主特異性。5.3 Mbp のゲノムサイズを持つ気管支敗血症菌は多種類の動物を宿主に持ち、遺伝子の転位や欠失でゲノムサイズの小さくなった類百日咳菌や気管支敗血症菌は宿主範囲も狭くなる。

## 最近の代表的な論文

1. Horiguchi, Y. "Swine Atrophic Rhinitis Caused by *Pasteurella Multocida* Toxin and *Bordetella* Dermonecrotic Toxin." *Curr Top Microbiol Immunol* (2012).
2. Kitadokoro, K., K. Nishimura, S. Kamitani, A. Fukui-Miyazaki, H. Toshima, H. Abe, Y. Kamata, Y. Sugita-Konishi, S. Yamamoto, H. Karatani, and Y. Horiguchi. "Crystal Structure of *Clostridium Perfringens* Enterotoxin Displays Features of {Beta}-Pore-Forming Toxins." *J Biol Chem* 3;286(22) (2011):19549-55.
3. Kamitani, S., S. Ao, H. Toshima, T. Tachibana, M. Hashimoto, K. Kitadokoro, A. Fukui-Miyazaki, H. Abe, and Y. Horiguchi. "Enzymatic Actions of *Pasteurella Multocida* Toxin Detected by Monoclonal Antibodies Recognizing the Deamidated Alpha Subunit of the Heterotrimeric Gtpase Gq." *Febs J* 278, no. 15 (2011): 2702-12.
4. Kimura, J. , H. Abe, S. Kamitani, H. Toshima, A. Fukui, M. Miyake, Y. Kamata, Y. Sugita-Konishi, S. Yamamoto, and Y. Horiguchi. "Clostridium Perfringens Enterotoxin Interacts with Claudins Via Electrostatic Attraction." *J Biol Chem* 285, no. 1 (2010): 401-08.
5. Kamitani, S., K. Kitadokoro, M. Miyazawa, H. Toshima, A. Fukui, H. Abe, M. Miyake, and Y. Horiguchi. "Characterization of the Membrane-Targeting C1 Domain in *Pasteurella Multocida* Toxin." *J Biol Chem* 285, no. 33 (2010): 25467-75.

## 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

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指している。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 TRIM5 $\alpha$ が存在する。われわれは現在までに TRIM5 $\alpha$ 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 TRIM5 $\alpha$ 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 TRIM5 $\alpha$ による感染抑制から逃避しており、ウイルスと宿主因子 TRIM5 $\alpha$ が進化の過程で闘いあってい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、TRIM5 $\alpha$ 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、TRIM5 $\alpha$ 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。

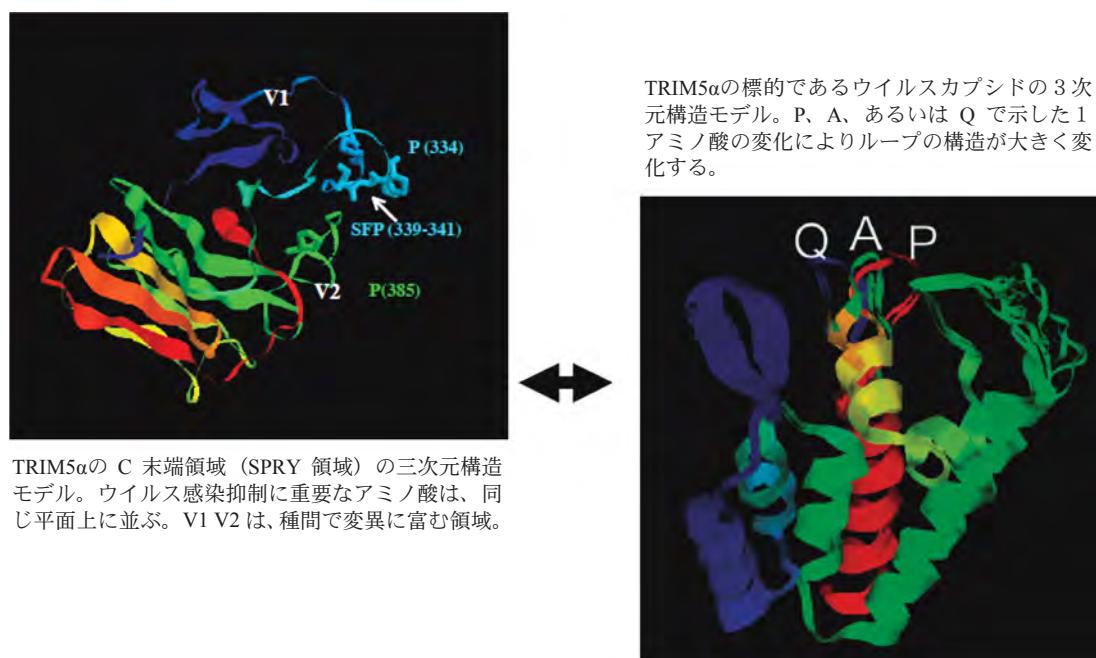


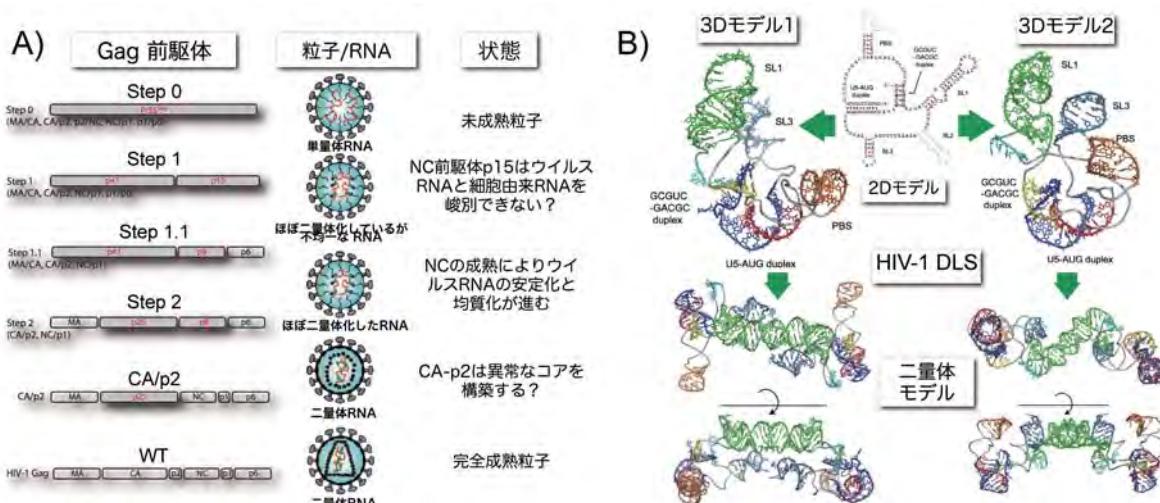
図 1 : TRIM5 $\alpha$ (C 末端) とカプシド(N 末端)の構造

## 2. ゲノム疫学研究

抗 HIV 薬による副作用の出現には個体差が存在する。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（テーラーメード医療）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査している。

## 3. HIV-1 ゲノム RNA 二量体化に関する解析

HIV-1 を含むレトロウイルスのポジティブ一本鎖 RNA ゲノムはウイルス粒子内で非共有的に結合して二量体を形成している。ゲノム二量体化はゲノムパッケージング、逆転写、ゲノム組換えなどウイルス生活環の様々な段階で重要な役割を果たしており、HIV ゲノム二量体化機序の解明は、HIV 制圧の端緒となりうる。我々は HIV 粒子の感染性獲得に必須な粒子成熟の過程をその各段階で停止させ、粒子内 HIV-1 ゲノム二量体化状態を解析した。その結果、粒子成熟進行の各段階毎にゲノム二量体化とその成熟が少しづつ進行して行って被逆転写能の獲得に至ることが明らかになった（図 2A）。また、ゲノム RNA 上の二量体化シグナル（DLS）の必要十分領域内部の塩基対形成について独自の解析系を駆使して詳細な解析を行い、蓄積したデータを元に計算機科学により DLS 領域の RNA 立体構造のモデリングを行った結果、今までとは全く異なる、シュードノット様構造を含んだ新しい構造モデルを得た。このシュードノット様構造は DLS 全体の構造を強く規定し、ステムのベクトルを拘束する役割を果たしているいわば DLS の要であり、これを標的とした新規抗ウイルス療法は大きな可能性を持っていると考えられた（図 2B）。



## 最近の代表的な論文

1. A proposal for a new HIV-1 DLS structural model. Sakuragi JI, Ode H, Sakuragi S, Shioda T, Sato H. *Nucleic Acids Res.* In press.
2. Role of human TRIM5 $\alpha$  in intrinsic immunity. Nakayama EE, Shioda T. *Front Microbiol.* 2012;3:97.
3. TRIM5 $\alpha$  and Species Tropism of HIV/SIV. Nakayama EE, Shioda T. *Front Microbiol.* 2012; 3:13.
4. The relationship between HIV-1 genome RNA dimerization, virion maturation and infectivity. Ohishi M, Nakano T, Sakuragi S, Shioda T, Sano K, Sakuragi JI. *Nucleic Acids Res.* 2011 Apr;39(8):3404-17.
5. HLA-Cw\*04 allele associated with nevirapine-induced rash in HIV-infected Thai patients. Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, Uttayamakul S, Prosthsirikul W, Tunthanathip P, Nakayama EE, Shioda T. *AIDS Res Ther.* 2009 Oct 21;6:22.

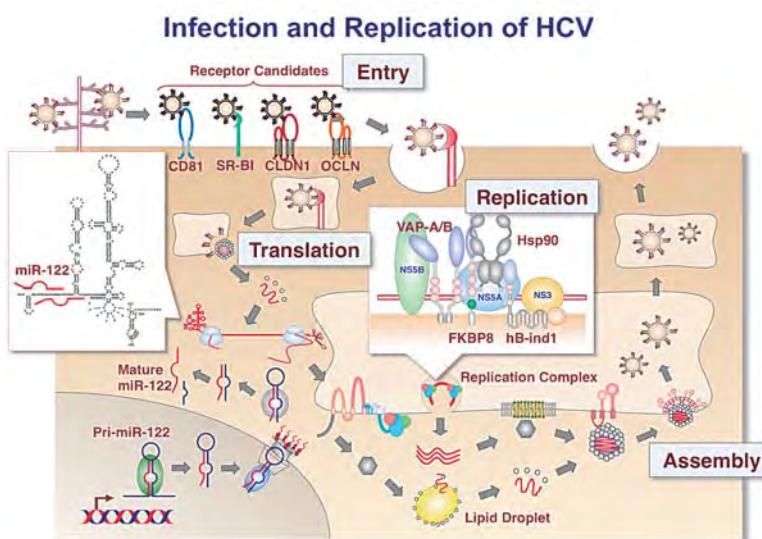
## 分子ウイルス研究分野

### 研究グループ

教授 獣医学博士 松浦 善治  
 助教 医学博士 岡本 徹  
 助教 医学博士 福原 崇介  
 特任助教 医学博士 寒原 裕登

特任研究員 農学博士 小野 慎子  
 特任研究員 医学博士 本村 貴志  
 ポスドク 獣医学博士 加藤 大志

研究内容：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。



れ、エンベロープ蛋白質を介して受容体候補分子と結合し、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 ウィルスで、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。肝臓特異的な microRNA である miR-122 が 5' 非翻訳領域に直接結合し、ウイルスゲノムの翻訳を亢進しすることが、HCV 感染の肝臓特異性に関与している。

HCV 研究は実験室株である JFH1 株 (HCVcc) の構築により飛躍的に進んだが、病原性を保持した野生株の培養系は未だ開発できていない。最近、miR-122 を強制発現させることによって、様々な細胞株で HCVcc を增幅できることが明らかになった。新たに開発された感受性細胞株を用いて、患者血清由来の HCV の増幅を試みている。

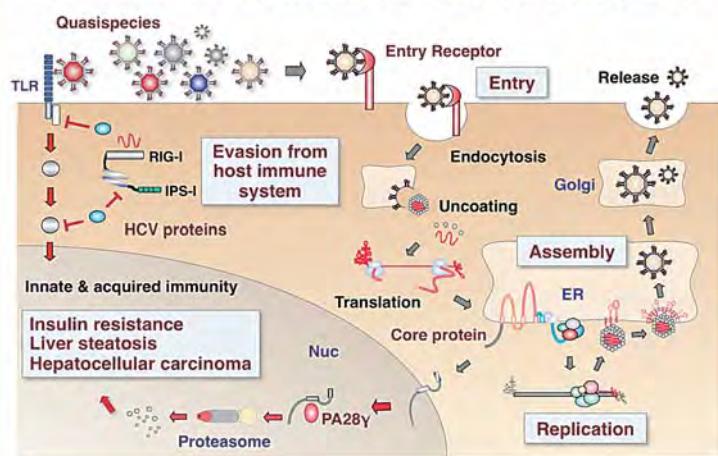
現在、ウイルスのポリメラーゼやプロテアーゼに対する阻害剤の開発が進行しているが、薬剤耐性ウイルスの出現が大きな問題となっている。ウイルス蛋白質を標的にする薬剤に比べて、複製に必須な宿主因子を標的とした薬剤の方が、耐性ウイルスの出現率が低い点で有利である。そこで、HCV の複製や宿主免疫監視機構からの回避に関する宿主因子を同定し、C 型慢性肝炎の新しい創薬ターゲットを検索している。また、HCV 感染による脂肪肝や肝細胞癌の発症機構の解析を、HCV 蛋白質を発現するトランジェニックマウスを用いて進めている。

### 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。インターフェロン (IFN) を中心とした抗ウイルス治療を行うも 30% 程度の患者ではウイルスを消失させることはできない。その治療効果と IL28B の遺伝子多型や IP-10 の発現量が相關することが知られているが、その機構は明らかでない。

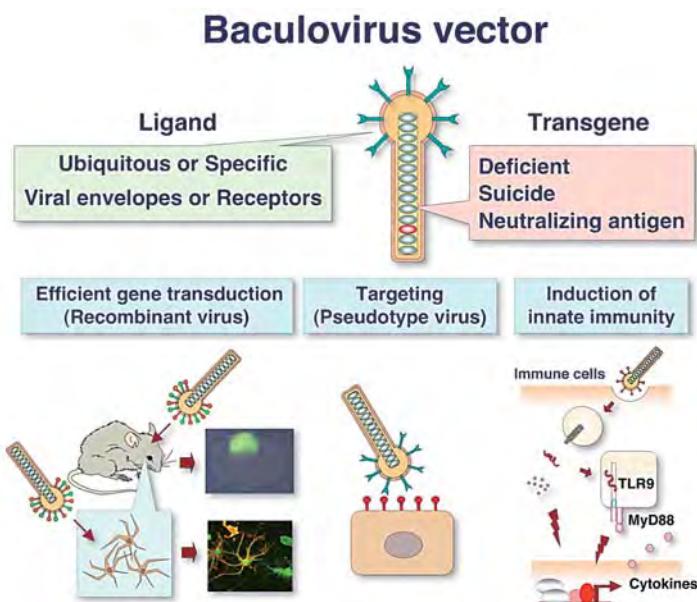
HCV 粒子は細胞表面の硫酸多糖類に捕捉さ

### Innate immune response and core induced pathogenesis



## 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产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. Abe T, Fukuhara T, Wen X, Ninomiya A, Moriishi K, Maehara Y, Takeuchi O, Kawai T, Akira S, Matsuura Y. CD44 participates in the IP-10 induction in cells replicating HCV RNA through an interaction with TLR2 and hyaluronan. *J Virol*. 2012.
2. Kataoka C, Kaname Y, Taguwa S, Abe T, Fukuhara T, Tani H, Moriishi K, Matsuura Y. Baculovirus GP64-mediated entry into mammalian cells. *J Virol*. 2012 Mar;86(5):2610-20.
3. Kambara H, Fukuhara T, Shiokawa M, Ono C, Ohara Y, Kamitani W, Matsuura Y. Establishment of a novel permissive cell line for the propagation of hepatitis C virus by expression of microRNA miR122. *J Virol*. 2012 Feb;86(3):1382-93.
4. Taguwa S, Kambara H, Fujita N, Noda T, Yoshimori T, Koike K, Moriishi K, Matsuura Y. Dysfunction of autophagy participates in vacuole formation and cell death in cells replicating hepatitis C virus. *J Virol*. 2011 Dec;85(24):13185-94.
5. Katoh H, Mori Y, Kambara H, Abe T, Fukuhara T, Morita E, Moriishi K, Matsuura Y. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2 participates in the replication of Japanese encephalitis through an interaction with viral proteins and RNA. *J Virol*. 2011 Nov;85(21):10976-88.

## 感染病態分野

### 研究グループ

准教授 医学博士 山本 雅裕  
助教 理学博士 笹井 美和

当研究室では、胞子虫類病原性寄生虫であるトキソプラズマをモデルとして寄生虫の宿主免疫抑制機構に着目した寄生虫免疫学研究に取り組んでいる。

### 1) トキソプラズマとは何か？

トキソプラズマ症はトキソプラズマ原虫 (*Toxoplasma gondii*) の感染により引き起こされる原虫病である。その生活環はネコを終宿主としてヒト・ネズミなどを含む全ての恒温（温血）動物が中間宿主となることから非常に広い宿主域を持ち、感染したネコの糞便が存在しうる環境でのガーデニングや感染している家畜の生肉を加熱処理せず摂取することによる、いずれも経口感染によってヒトに感染する。トキソプラズマ原虫は健常人ではほとんどの場合感染初期に感冒様症状やリンパ節の軽い腫脹程度の症状を示し不顕性感染となる日和見病原体であり、全世界的には世界人口の3分の1が不顕性感染しているとされる。宿主免疫系が正常に作動している場合では全く問題とはならないが、近年のエイズ（後天性不全免疫症候群）を発症した患者などにおいてカリニ肺炎とならんでトキソプラズマ脳症が死因の主要なものを占める。また妊娠時母体は異物である胎児を拒絶しないために一種の免疫不全状態となっているが、その際に妊婦が初感染であった場合胎児にトキソプラズマ原虫が感染し流産、あるいは感染したまま新生児が水頭症・小脳症を先天的に抱えた状態で誕生しその後の精神発育、聴覚機能低下を伴う先天性疾病を引き起こすヒト重要病原体である<sup>2)</sup>。このように、ウイルス感染症・細菌感染症・真菌感染症に加えて原虫（寄生虫）感染症も我々の身近に存在する感染症である（図1）。

### 2) トキソプラズマは宿主の免疫系を抑制する

トキソプラズマ原虫は遺伝子型の違いから、主としてI型、II型そしてIII型原虫という3つの遺伝子型に分けられる。「生きた」トキソプラズマ原虫を感染させるとマクロファージや樹状細胞において炎症性サイトカインの産生などの自然免疫応答が惹起されるが、この「生きた」原虫による自然免疫応答に株特異性が存在することが示唆された。その内、II型原虫ではI型とIII型原虫と異なり宿主自然免疫応答を抑制できないことが以前から知られていたが、我々はトキソプラズマが感染時に標的細胞内に放出するエフェクター分子の一つであるROP16という分子が宿主の抗炎症性の内在性プログラムを活性化することで免疫応答を抑制することを示し、さらにROP16の一アミノ酸の変異によりII型原虫ではその活性が著しく低いことを見出した（図2）。さらにIII型原虫はI型とII型原虫と比べてマウスにおいては著しく低い病原性を有することが報告されていたが、その分子的機序について我々はROP16のファミリー分子の一つであるROP18が宿主の免疫応答に関与する転写因子であるATF6βを標的としてその分解を誘導することで宿主免疫応答を抑制することを見出している（図3）。

トキソプラズマが放出するエフェクター分子はROP16／ROP18の他に数十種類存在することがゲノムワイドな解析から示唆されているが、その宿主細胞内中でのエフェクター機能には不明な点が多く、その標的分子はもっと不明である。従って我々はその一つ一つのエフェクター候補分子の遺伝子欠損原虫を作成し、マウスにおける病原性の評価を元にエフェクター分子の絞込みとそのエフェクター機構の解明から新しい宿主免疫系を探索しようとしている。

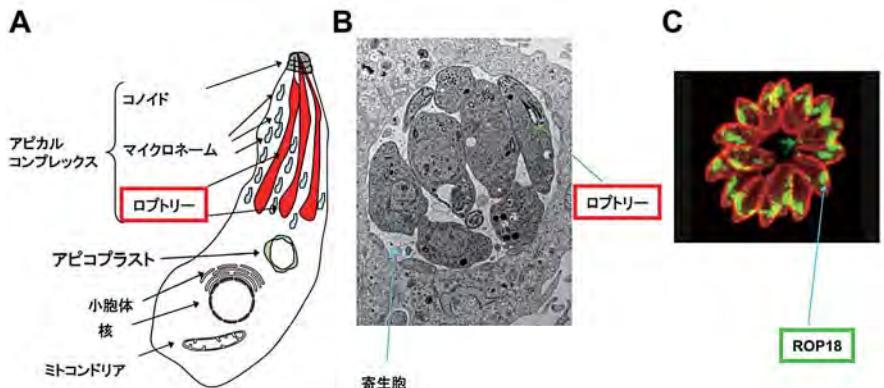


図1 トキソプラズマとは？

(A) トキソプラズマ原虫の模式図。先端部に分泌小器官であるロプトリー（赤い部分）が存在する。(B) 寄生細胞に感染したトキソプラズマ原虫の電子顕微鏡図。感染細胞中では寄生胞内（水色矢印）に存在する。また、先端部に明らかなロプトリー像が認められる（緑矢印）。(C) 感染細胞中のトキソプラズマ原虫の免疫染色図。トキソプラズマ原虫の細胞膜蛋白質 GAP45 を赤色で、ROP18 を緑色で染色した。尚、ROP16 も同様にロプトリーに存在するエフェクター分子である。



図2 ROP16の中の一アミノ酸変異が免疫抑制能を決定している。

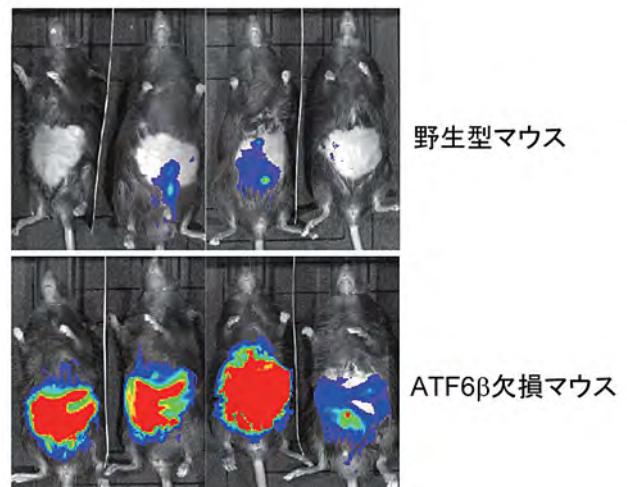


図3 ATF6β欠損マウスは ROP18 欠損トキソプラズマ原虫に対する高感受性となる

基質依存的発光蛋白質ルシフェラーゼを発現する ROP18 欠損原虫を、野生型マウス及び ATF6β欠損マウスに感染させた後 8 日後に生体イメージング装置を使ってルシフェラーゼ活性を測定した。ATF6β欠損マウスではルシフェラーゼ発光強度が強いことから、ROP18 欠損原虫が広く拡散していることが示唆される。

## 最近の代表的な論文

- Yamamoto M, Takeda K. Inhibition of ATF6 $\beta$ -dependent host adaptive immune response by a Toxoplasma virulence factor ROP18. *Virulence*. (2012) In press.
- Yamamoto M, Ma JS, Mueller C, Kamiyama N, Saiga H, Kubo E, Kimura T, Okamoto T, Okuyama M, Kayama H, Nagamune K, Takashima S, Matsuura Y, Soldati-Favre D, Takeda K. ATF6 $\beta$  is a host cellular target of the Toxoplasma gondii virulence factor ROP18. *J Exp Med*. (2011) 208:1533-1546.
- Sayama K\*, Yamamoto M\* (\* Equal contribution), Shirakata Y, Hanakawa Y, Hirakawa S, Dai X, Tohyama M, Tokumaru S, Shin MS, Sakurai H, Akira S, Hashimoto K. E2 polyubiquitin-conjugating enzyme Ubc13 in keratinocytes is essential for epidermal integrity. *J Biol Chem*. (2010) 285:30042-9.
- Yamamoto M, Standley DM, Takashima S, Saiga H, Okuyama M, Kayama H, Kubo E, Ito H, Takaura M, Matsuda T, Soldati-Favre D, Takeda K. A single polymorphic amino acid on Toxoplasma gondii kinase ROP16 determines the direct and strain-specific activation of Stat3. *J Exp Med*. (2009) 206: 2747-2760.
- Yamamoto M, Uematsu S, Okamoto T, Matsuura Y, Sato S, Kumar H, Satoh T, Saitoh T, Takeda K, Ishii KJ, Takeuchi O, Kawai T, Akira S. Enhanced TLR-mediated NF-IL6 dependent gene expression by Trib1 deficiency. *J Exp Med*. (2007) 204:2233-9.

## 分子免疫制御分野

### 研究グループ

教授 医学博士 菊谷 仁  
准教授 医学博士 安居 輝人  
助教 医学博士 榎原 修平

特任研究員 理学博士 森田 健太郎  
特任研究員 薬学博士 南谷 武春  
特任研究員 医学博士 Olivia A. Simma  
特任研究員 理学博士 Chaiu-Yuang Tsai

### 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 細胞に働き、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）。

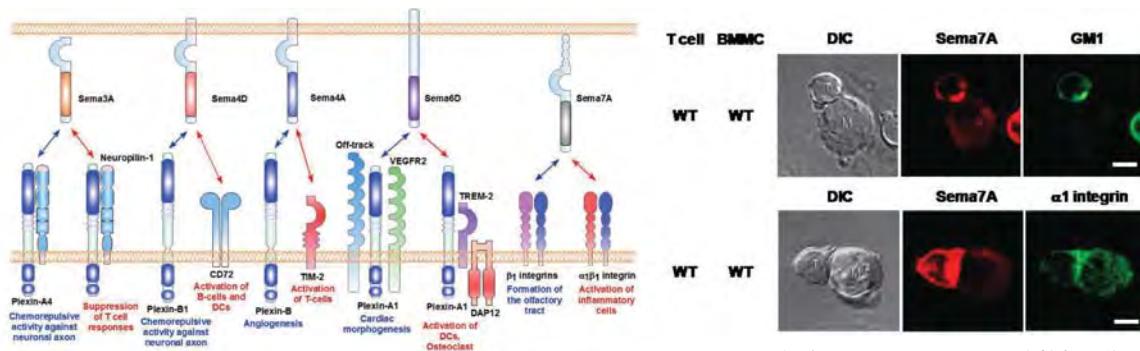


図 1. 代表的な免疫セマフォリン

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してきた。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

Epstein-Barr ウィルス (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ィルスである。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。我々は EBV の潜伏感染機構や宿主免疫系との相互作用を主に遺伝子変換動物を用いて解析している。また、ガンマヘルペスウィルスのマウス感染モデルとして、Murine γ-herpesvirus 68 (MHV68) を用いたがん・免疫病発症機構の解明を試みている。最終的にこれらの研究を通じて、ウイルス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明することによって、宿主免疫の脆弱性を理解するとともに、EBV とがん化や自己免疫疾患との関連を解明することによって、効果的な EBV 関連疾患の治療薬開発を目指す（図 3）。

#### 1) EBV Latent membrane protein による細胞増殖・分化機構と EBV 病態への関与の解明

EBV 感染はヒト B 細胞や上皮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。近年、EBV は B 細胞や上皮細胞のみならず、T 細胞や NK 細胞に感染し、慢性活動性 EBV 症候群や血球貪食症候群を伴った鼻性リンパ腫の発症に関与することが示唆されている。EBV 感染による潜伏感染遺伝子産物の中で LMP1 と

LMP2a といった膜タンパクはこれらの腫瘍に強い発現を示しており、その腫瘍発生過程において何らか役割を果たしている可能性が示唆される。B 細胞において LMP1 は CD40 シグナルを一部模倣し、一方 LMP2a は B 細胞抗原レセプター シグナルを恒常的活性化させることで B 細胞腫瘍形成、B 細胞分化障害を誘導することが知られている。しかし、その他細胞種における腫瘍形成能、細胞増殖・分化障害による免疫システム破綻機構にどのように関与しているかは明らかにされていない。したがって、当研究分野では LMP1, LMP2a に着目し、細胞種または細胞分化段階特異的に LMP を発現するマウスを作成し、その免疫学的解析を試みている。(図 4)。

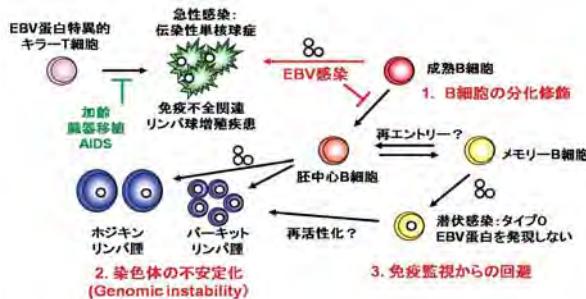


図 3. EBV と宿主免疫システム

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)

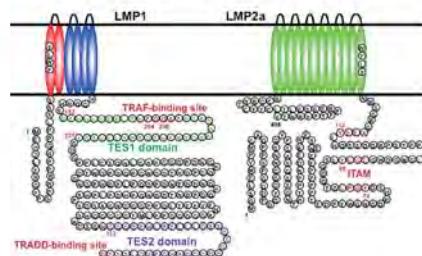


図 4. EBV LMP1, LMP2a の構造—LMP1 は 6 回膜貫通型タンパクで細胞内領域に CD40 と同様に TRAF 結合領域を有し、NF- $\kappa$ B を活性化する。一方、LMP2a は 12 回膜貫通型タンパクで、N-末端細胞内領域に Src ファミリー及び Syk チロシンキナーゼとの会合活性を有し、Akt を活性化する。

## 2) Murine γ-herpesvirus 68 (MHV68) を用いたウイルスー宿主間相互作用

EBV の近縁のウイルスである MHV68 をマウスに経鼻感染させると、咽頭や呼吸器での増殖後、B 細胞において娘ウイルスの産生を伴わない潜伏感染状態に移行する。その後、MHV68 は、宿主の体内にその生涯にわたって持続感染する。これは、EBV のヒトへの感染と類似した動態であり、マウスに感染しない EBV のモデルとして、MHV68 は有用であると考えられる。当研究分野では、MHV68 感染に応答する宿主の様々な免疫反応や免疫病態発症を分子レベルで理解することを目的として研究を進めている。その一つに、我々は全身性エリテマトーデス (SLE) に着目している。SLE は EBV との関連が古くから示唆されているが、その発症機序は不明である。興味深いことに、近交系マウスにおいて MHV68 感染で自己抗体が誘導されるが、これは、B 細胞指向性ウイルスが自己反応性 B 細胞の出現を誘発する可能性を示唆している。現在、当研究分野では、MHV68 感染マウス由来 B 細胞における自己反応性とウイルス感染との相関を検討している。その他、組換えウイルスの作製を行い、トリ卵白アルブミンや蛍光タンパク質を組込んだウイルスなどを既に作製している。これらのウイルスを用いることによってウイルスー宿主相互作用、特に、免疫システムに異常を有するノックマウス等での感染実験による免疫応答、MHV 感染動態の可視化、さらに抗原特異的なリンパ球の増殖・分化における評価システム等、*in vivo* における宿主免疫応答制御機構の理解に貢献すると考えている(図 5)。

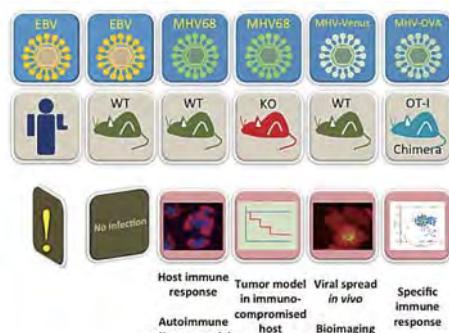


図 5. MHV68 を用いた免疫制御機構の解明—遺伝子変換マウスやリコンビナント MHV68 を用いることによって、宿主免疫応答、感染動態可視化及び個体レベルにおける抗原特異的リンパ球増殖・分化の検討が可能となる。

## 最近の代表的な論文

1. Takamatsu H, Takegahara N, Nakagawa Y, Tomura M, Taniguchi M, Friedel RH, Rayburn H, Tessier-Lavigne M, Yoshida Y, Okuno T, Mizui M, Kang S, Nojima S, Tsujimura T, Nakatsujii Y, Katayama I, Toyofuku T, Kikutani H, Kumanogoh A. Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II. *Nat Immunol.* 2010 Jul;11(7):594-600.
2. Mizui M, Kumanogoh A, Kikutani H. Immune semaphorins: novel features of neural guidance molecules. *J Clin Immunol.* 2009 Jan;29(1):1-11.
3. 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 Immunopharmacol.* 2008 May;20(5):695-708.
4. 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.
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, Nakatsujii 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	助教	博士（理学）藤田 盛久
准教授	医学博士 前田 裕輔	特任助教	博士（医学）神澤 範行
准教授（兼）	医学博士 村上 良子	ポスドク（兼）	医学博士 王 治陶

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、医学的问题を取り扱っている。とくに、GPI アンカー型タンパク質の生合成・輸送経路や切断・遊離機構の研究、それらの異常による疾患の病態・発症機序に関する研究、細胞内オルガネラの pH 調節とその生理的意義に関する研究を行っている。

### 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、ウィ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 PGAP (Post GPI-Attachment to Proteins) 遺伝子群の同定・機能解析を行なっている(図 1)。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。

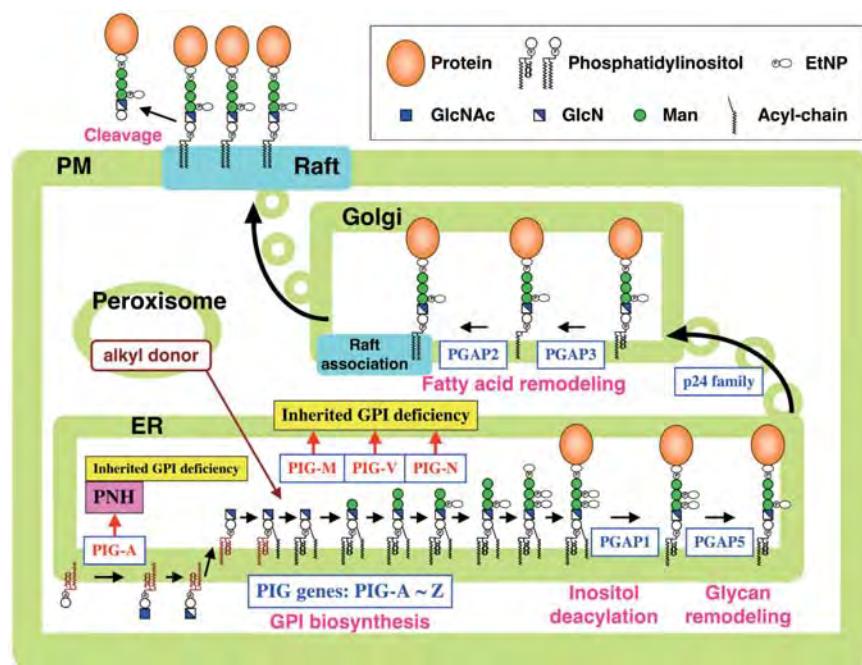


図 1 : GPI アンカー型タンパク質の生合成・輸送経路

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。合成過程でペルオキシソーム由来のアルキル型脂質が GPI に取り込まれる。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 アンカー型タンパク質の物理特性を変え 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る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)と考えておらず、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。

また我々は英国のグループとの共同研究により GPI 生合成に必須の遺伝子、PIGM の異常による先天性 GPI 欠損症を世界で始めて報告したが、その後次世代シークエンサーを使った解析等により、PIGV、PIGN、PIGA を責任

遺伝子とする先天性 GPI 欠損症が見つかっている。PIGV 欠損症は、高アルカリホスファターゼ血症、てんかん、運動精神発達の遅滞、顔貌、手指の異常を主症状とし、従来 Mabry syndrome と言われている疾患の責任遺伝子の一つであることが判明した。GPI アンカー型タンパク質の生合成と輸送に関わる遺伝子は 25 個以上クローニングされており(図 1)、今後これらの遺伝子を責任遺伝子とし、同様の症状をもつ先天性 GPI 欠損症が発見される可能性は大きく、患者の解析を進めることにより新たな疾患単位を確立したいと考えている。

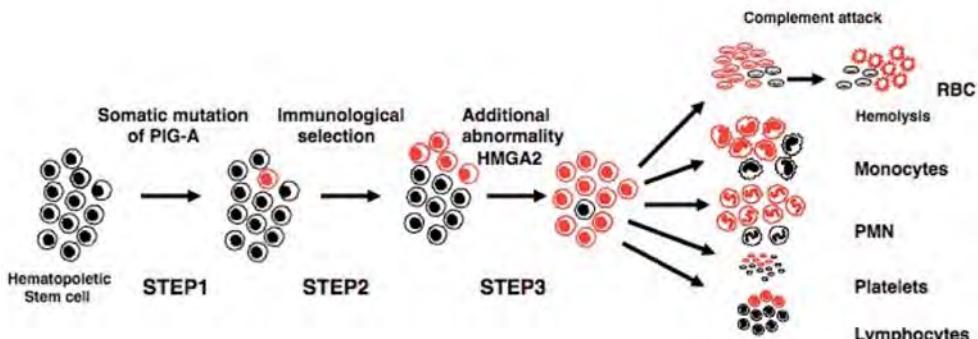


図 2 : PNH 発症のメカニズム (モデル)

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 (STEP 1)。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 (STEP 2)。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 (STEP 3)。

### 3) 細胞内酸性オルガネラの pH 調節とその生理的意義の解明

細胞内オルガネラは脂質二重膜によってお互いに隔離されている画分であり、その機能を最大限に発揮するために固有の環境やタンパク質・脂質成分を保持している。その重要な環境因子の一つが pH である。分泌経路やエンドサイトーシス経路のオルガネラの内腔は固有の酸性 pH に保たれていって(図 3)、その異常で細胞レベルでは、タンパク質・脂質の輸送・プロセッシング・糖鎖修飾障害やオルガネラの形態異常が、また個体レベルでは様々な疾患が発症することが知られている。その重要性にも拘らずそれらの異常フェノタイプの起こるメカニズムについてはほとんど判っていない。当グループは、ゴルジ装置の pH 異常を示す変異細胞株を初めて樹立し、その責任タンパク質の同定・機能解析を報告した(文献 5)。今後、これらの変異細胞・遺伝子の利用並びに新たな pH 異常を示す変異細胞株の樹立解析を通じて、細胞内オルガネラの pH の調節機構やその生理的意義についてより理解を深め、pH 異常が病因である疾患に対する新たな創薬の開発への突破口となることを目的としている。

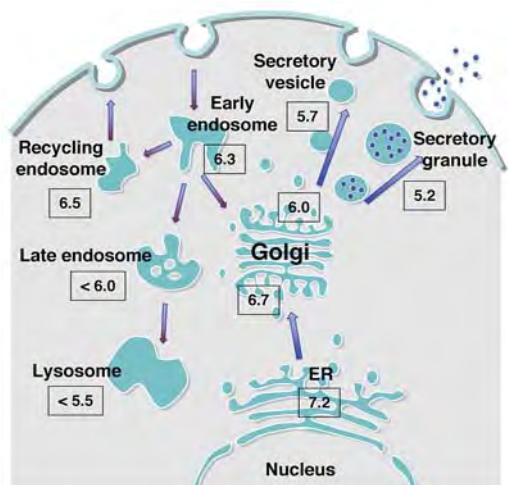


図 3 : 細胞内オルガネラの pH 調節

分泌経路やエンドサイトーシス経路のオルガネラ内腔はそれぞれ固有の酸性 pH に調節されている。数字はおおよその pH を示す。

### 最近の代表的な論文

- Murakami Y, Kanzawa N, Saito K, Krawitz PM, Mundlos S, Robinson PN, Karadimitris A, Maeda Y, Kinoshita T. Mechanism for release of alkaline phosphatase caused by glycosylphosphatidylinositol deficiency in patients with hyperphosphatasia mental retardation syndrome. *J Biol Chem*. 2012 Feb 24;287(9):6318-25.
- Fujita M, Watanabe R, Jaensch N, Romanova-Michaelides M, Satoh T, Kato M, Riezman H, Yamaguchi Y, Maeda Y, Kinoshita T. Sorting of GPI-anchored proteins into ER exit sites by p24 proteins is dependent on remodeled GPI. *J Cell Biol*. 2011 Jul 11;194(1):61-75.
- 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.
- 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.
- 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.

## 自然免疫学分野

### 研究グループ

教授（兼）	医学博士 審良 静男	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
特任准教授（兼）	医学博士 植松 智	特任助教（兼）	医学博士 佐藤 莘

自然免疫は細菌やウイルス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。その一方、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) を発現している。PRRs が PAMPs を認識すると活性化シグナルが伝達され、一連の自然免疫応答が誘導される。当研究分野では、自然免疫による生体防御制御メカニズムについての研究を行っている。

### 1) PRRs を介する情報伝達経路に関わる新規分子の探索と役割の解析

PRRs として、Toll-like receptors (TLRs), RIG-I-like receptors (RLRs), Nod-like receptors (NLRs) が知られている。我々は、分子生物学的手法やバイオインフォマティックスを用いて PRRs や下流情報伝達に位置する分子の探索を行うとともに、ノックアウトマウスを作製し、免疫応答における役割を明らかにしようとしている。中でも、ウイルスや細菌のもつ核酸に注目し、自然免疫による核酸認識メカニズムを明らかにしようとしている (図 1)。

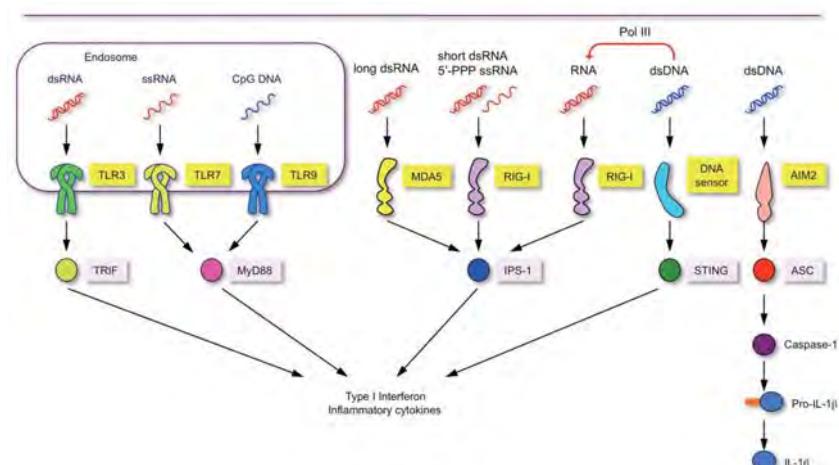


図 1 核酸認識に関わる受容体と情報伝達経路

核酸認識に関わる TLR3, TLR7, TLR9 は主にエンドソームに局在している。TLR3, TLR7, TLR9 はそれぞれウイルス由来二重鎖 RNA、RNA ウィルスの一本鎖 RNA、DNA ウィルスや細菌のもつ DNA を認識する。TLR3 は TRIF, TLR7 や TLR9 は MyD88 をアダプターとして介し I 型インターフェロンや炎症性サイトカイン産生を誘導する。一方、細胞質内では RLR (RIG-I, MDA5) が RNA ウィルス由來の RNA を認識し、アダプター IPS-1 を介して情報伝達を開始する。また、DNA 認識に関わる細胞内センサーとして AIM2 が知られている。AIM2 はアダプター ASC を介して主に IL-1 $\beta$  の産生に関与する。まだはっきりしていないが、STING と呼ばれる分子の上流には I 型インターフェロン産生に関与する何らかの細胞内 DNA センサーが存在していることが示唆されている。

### 2) メンブレントラフィック制御分子による自然免疫応答制御機構の解析

メンブレントラフィックは PRRs を介した自然免疫応答に深く関わっていることが多く報告されている。我々は、オートファジー関連分子 ATG16L1, ATG9a やインターフェロン誘導分子 Viperin に着目し、これら分子が PRRs による炎症性サイトカインや I 型インターフェロン産生を制御していることを明らかにしてきた。これらを足がかりとして、免疫応答におけるメンブレントラフィックの役割についての詳細を明らかにしようとしている。

### 3) 自然免疫細胞における転写制御や遺伝子発現ネットワークの解析

様々なノックアウトマウスの樹状細胞における遺伝子発現を網羅的に比較・解析し、プロモーターの構造を調べることで転写因子ネットワークがどのようにして標的遺伝子の発現制御を行っているかを理解することを目指している。ヒストン修飾等の解析も行い、自然免疫応答や自然免疫細胞分化 (特に M1, M2 マクロファージ分化) におけるエピジェネティックな制御の役割も明らかにしようとしている (図 2)。

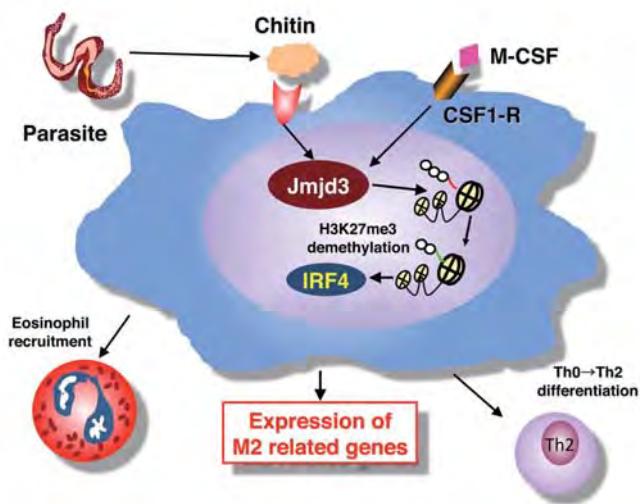


図2 Jmjd3によるM2型マクロファージの活性化経路  
マクロファージは機能的に異なるM1とM2型に分けることができる。M1型マクロファージは主に細菌、ウイルスや真菌類の感染時に活性化する一方、M2型マクロファージは寄生虫感染、アレルギー応答、脂肪代謝、創傷治癒、がん転移などに関与している。Jmjd3はヒストンH3のトリメチル化された27番目のリジン残基の脱メチル化酵素であり、マクロファージにおいてTLR刺激で発現誘導される。Jmjd3が欠損した状態では、M-CSF刺激、キチン投与、寄生虫感染の際のM2型マクロファージへの分化が起こらない。また、Jmjd3による脱メチル化の直接のターゲットの一つはIRF4遺伝子である。これらのことから、Jmjd3-IRF4経路は寄生虫感染に対する生体防御応答に重要な役割を果たしていると考えられる。

#### 4) 炎症性サイトカインなどをコードするmRNAの安定性制御に関する分子ファミリーの機能解析

炎症性サイトカインや炎症関連分子は転写に加え mRNA 安定性の制御により発現レベルが適切に調節されている。我々はTLRにより発現が誘導されるCCCH型Zinc finger蛋白質Regnase-1(Zc3h12a)がIL-6やIL-12p40といった炎症性サイトカインのmRNAを分解するRNaseとして機能していることを明らかにしてきた。この分子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(図3)。現在、Zc3h12aやそのファミリーフィーによる炎症関連遺伝子の転写後調節メカニズムに関する研究を行っている。

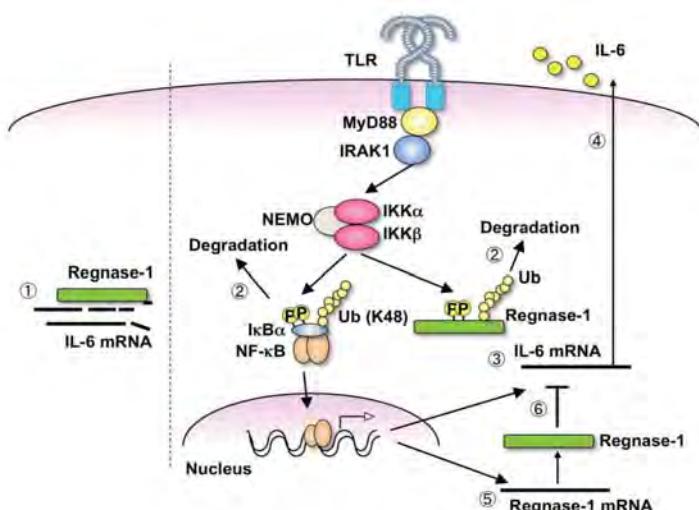


図3 Regnase-1による炎症応答制御

Regnase-1はRNaseであり、IL-6などの炎症性サイトカインの遺伝子mRNAの不安定化を制御して炎症性疾患発症を抑制している。①恒常に発現しているRegnase-1は無刺激状態ではIL-6 mRNAを分解している。②IKK複合体がTLR刺激により活性化すると、IκBαとRegnase-1はリン酸化を受け分解される。③NF-κB活性化によりIL-6 mRNAは転写され、④安定化しているIL-6 mRNAによってIL-6が産生される。⑤Regnase-1 mRNAが転写され、Regnase-1タンパク質が発現する。⑥Regnase-1タンパク質は細胞内のIL-6 mRNAを分解し、IL-6の産生を抑制する。

#### 最近の代表的な論文

- Iwasaki H, Takeuchi O, Teraguchi S, Matsushita K, Uehata T, Kuniyoshi K, Satoh T, Saitoh T, Matsushita M, Standley DM, Akira S. The IκB kinase complex regulates the stability of cytokine-encoding mRNA induced by TLR-IL-1R by controlling degradation of regnase-1. *Nat Immunol.* 2011 Oct 30;12(12):1167-75.
- Saitoh T, Satoh T, Yamamoto N, Uematsu S, Takeuchi O, Kawai T, Akira S. Antiviral protein Viperin promotes Toll-like Receptor 7- and Toll-like Receptor 9-mediated type I interferon production in plasmacytoid dendritic cells. *Immunity.* 2011 Mar 25;34(3):352-63.
- Kawai T, Akira S. Toll-like Receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity.* 2011 May 27;34(5):637-50.
- Tsuchida T, Zou J, Saitoh T, Kumar H, Abe T, Matsuura Y, Kawai T, Akira S. The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA. *Immunity.* 2010 Nov 24;33(5):765-76.
- Satoh T, Takeuchi O, Vandenberg A, Yasuda K, Tanaka Y, Kumagai Y, Miyake T, Matsushita K, Okazaki T, Saitoh T, Honma K, Matsuyama T, Yui K, Tsujimura T, Standley DM, Nakanishi K, Nakai K, Akira S. The Jmjd3-Irf4 axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection. *Nat Immunol.* 2010 Oct;11(10):936-44.

## 細胞機能分野

### 研究グループ

教授 医学博士 目加田 英輔  
准教授 医学博士 岩本 亮  
助教 理学博士 水島 寛人

特任研究員 バイオサイエンス博士 中村 尚志  
特任研究員 医学博士 足田 智也  
特任研究員 バイオサイエンス博士 佐藤 みづほ

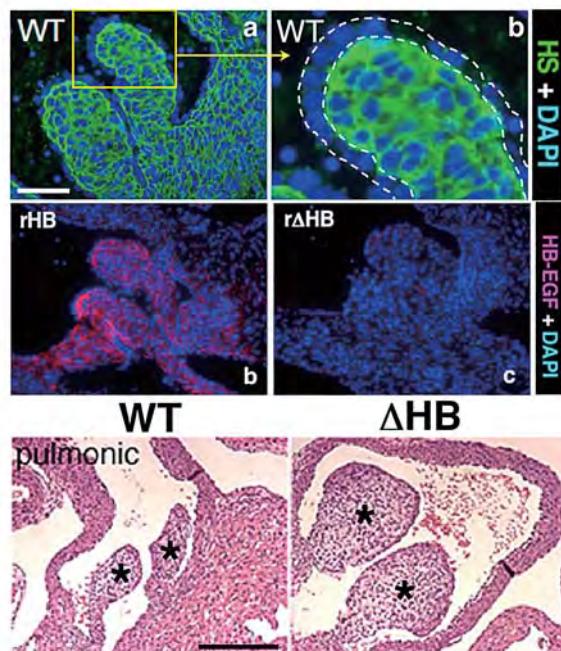
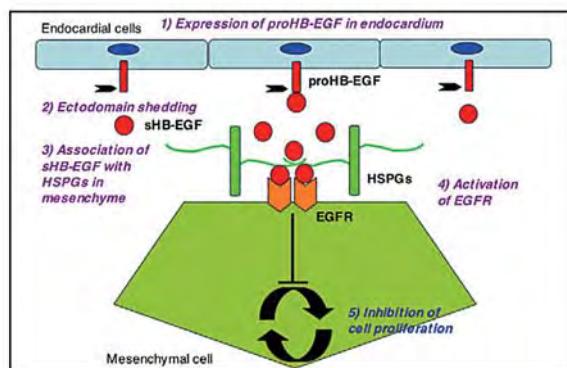
当研究分野では、細胞間に存在する細胞増殖因子や細胞接着因子を介した細胞の機能制御機構について研究を行っている。研究の主役となる分子は、HB-EGF という EGF ファミリーの膜結合型細胞増殖因子とテトラスパニンと呼ばれる膜4回貫通型タンパク質である。これらのタンパク質は、細胞外マトリックス分子やその他膜タンパク質、あるいは細胞内シグナル分子と複合体を形成して、細胞増殖の調節、形態形成や組織の維持・修復に働いていると同時に、がん細胞の増殖・浸潤・転移にも深く関わっている。

### 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、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 HB-EGF が機能している。しかし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ことから、膜結合型の働く生理過程も存在する可能性がある。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。

図1 心臓弁形成における HB-EGF の役割

心臓弁の形成過程で HB-EGF は心内膜上皮より分泌され、弁間質細胞に対してその増殖を抑制する働きをする（左下図）。また弁間質にはヘパラン硫酸プロテオグリカン（HSPGs）が豊富に存在し（右上図）、弁間質細胞に対して HB-EGF が正常に作用するためには、HB-EGF は HSPGs と結合する必要がある。したがって HB-EGF 欠損マウス (KO) だけでなく、HB-EGF のヘパリン結合ドメインを欠く変異型 HB-EGF を発現するノックインマウス ( $\Delta$ HB) では、弁間質細胞の過増殖が起り、心臓弁が異常に肥厚した形態になる（右下図）。（Iwamoto et al, 2010）



## 2) がんの悪性化における HB-EGF の役割

HB-EGF は癌細胞や癌周囲の間質で強く発現し、がんの悪性化に深く関わっている。がん細胞の増殖、浸潤、転移における HB-EGF の果たす役割を詳しく解析し、新たな癌治療法の開発を目指している。

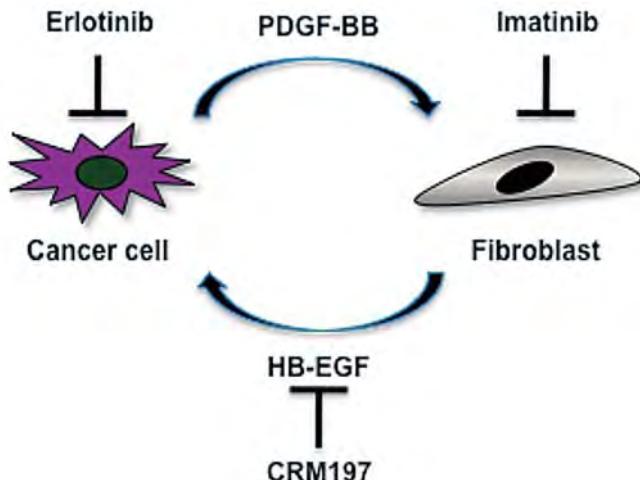


図2 子宮頸癌における癌細胞と間質線維芽細胞の相互作用

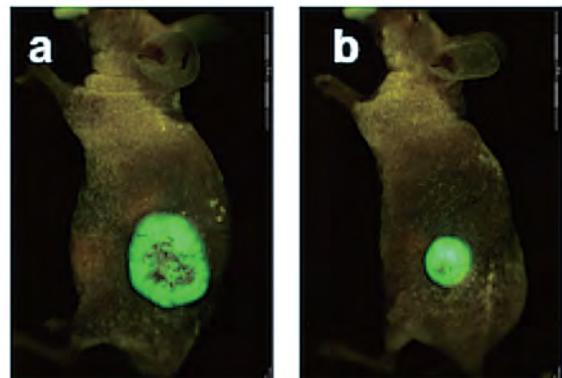


図3 生体イメージングによる癌細胞の増殖に対する線維芽細胞の効果解析。(a) 癌細胞と線維芽細胞を同時移植した場合、(b) 癌細胞を単独で移植した場合 (Murata et al, 2011)

## 3) 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。

### 4) テトラスパニン分子の解析

テトラスパニンは、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。線虫を用いてテトラスパニンの分子機能を遺伝学的に解析している。

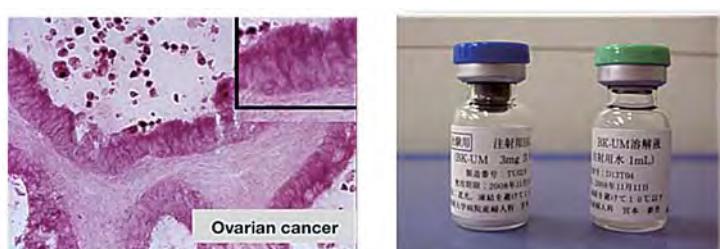


図4 卵巣癌で高発現する HB-EGF(左)と開発中の卵巣癌治療薬 BK-UM(右)

### 最近の代表的な論文

- Miyamoto S, Iwamoto R, Furuya A, Takahashi K, Sasaki Y, Ando H, Yotsumoto F, Yoneda T, Hamaoka M, Yagi H, Murakami T, Hori S, Shitara K, Mekada E. A novel anti-human HB-EGF monoclonal antibody with multiple anti-tumor mechanisms against ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res.* 2011 Nov 1;17(21):6733-41.
- Murata T, Mizushima H, Chinen I, Moribe H, Yagi S, Hoffman RM, Kimura T, Yoshino K, Ueda Y, Enomoto T, Mekada E. HB-EGF and PDGF mediate reciprocal interactions of carcinoma cells with cancer-associated fibroblasts to support progression of uterine cervical cancers. *Cancer Res.* 2011 Nov 1;71(21):6633-42.
- 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 Jul;137(13):2205-14.
- Ichise T, Adachi S, Ohishi M, Ikawa M, Okabe M, Iwamoto R, Mekada E. Humanized gene replacement in mice reveals the contribution of cancer stroma-derived HB-EGF to tumor growth. *Cell Struct Funct.* 2010;35(1):3-13.
- 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.

## 免疫化学分野

### 研究グループ

教授 医学博士（兼） 荒瀬 尚  
助教 医学博士 末永 忠広  
助教 農学博士 香山 雅子

特任助教 保健学博士 平安 恒幸  
特任研究員 医学博士 斎藤 史路  
特任研究員 医学博士 王 静

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、多くの免疫細胞の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イルスのウイ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、ウイルスをはじめ、原虫や細菌等の様々な病原体を標的にして、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。

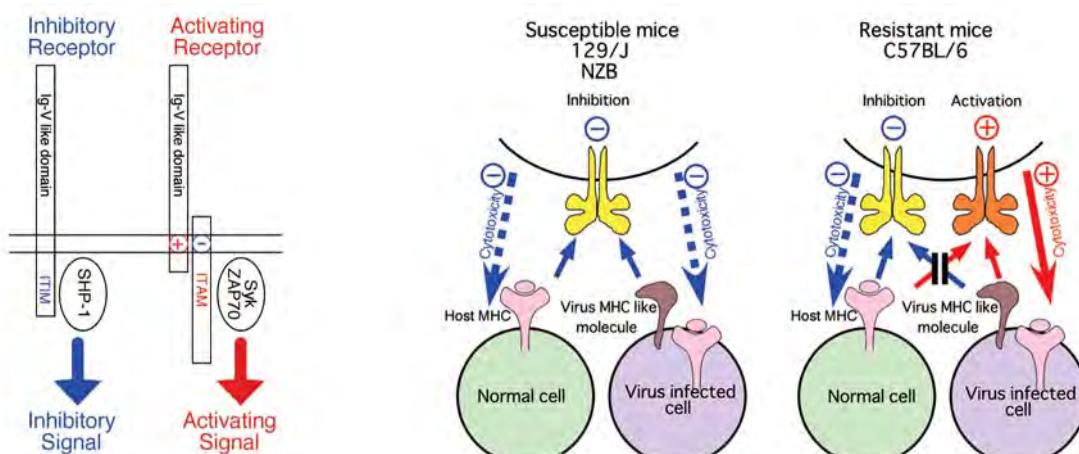


図1 ペア型レセプター

ペア型レセプターは、非常に相同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。

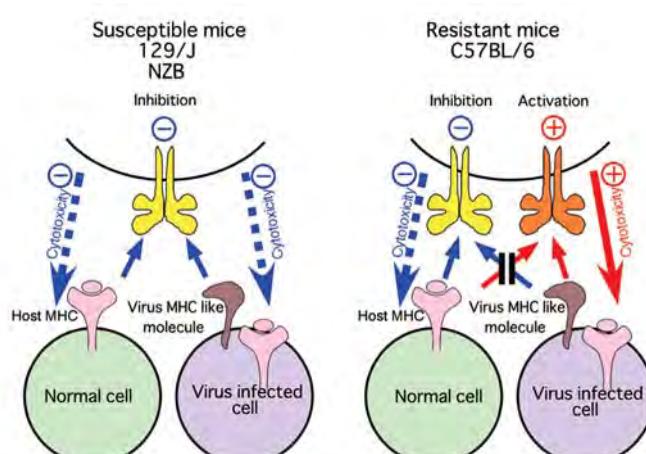


図2 抑制化および活性化レセプターによるサイトメガロウイルス感染細胞の認識機構

ウイルスは、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の発現したウイルス感染細胞を異常細胞として認識できる。さらに、ウイルスの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、ウイルス感染細胞を積極的に障害する（右図）（Arase et al. Science 2002）。

## (2) ウィルスの細胞内侵入機構の解明

上記のように、種々のウィルス、特に、持続感染をするウィルスは、抑制化レセプターのリガンドを発現し免疫応答を抑制する。興味深いことに、ウィルスの中には抑制化レセプターとの相互作用を用いて宿主細胞の侵入にも関与していることが明らかになってきた（図3）。特に、ウィルス側からの解析では解明されなかった分子メカニズムが免疫レセプターとウィルス分子との解析によって判明した。そこで、当分野では、種々の病原体の宿主細胞への侵入機構について、宿主分子およびウィルス分子双方の側面からの解明を目指す。

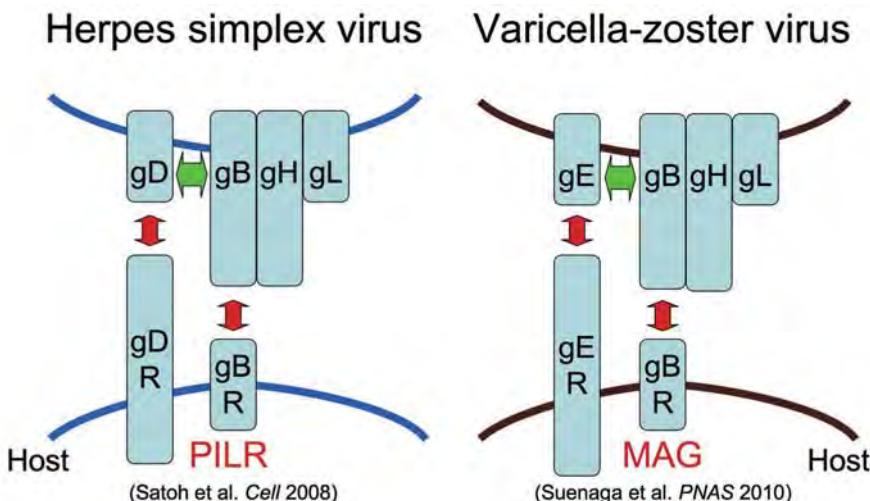


図3 ウィルスの細胞内エントリーの分子機構の解明  
ウィルスは抑制化レセプターのリガンドを発現することにより免疫応答を抑制する。我々は、抑制化ペア型レセプターの一つ PILR $\alpha$ が単純ヘルペスウイルス (Herpes simplex virus) 感染細胞に発現する Glycoprotein B を認識することを見出した。さらに、Glycoprotein B は HSV の感染に必須なエンベロープ分子であることから、PILR $\alpha$ の HSV1 感染における機能を解析すると、PILR $\alpha$ は単純ヘルペスウイルスの細胞内エントリーに関与していることが判明した。また、水痘帯状疱疹ウイルス (Varicella-zoster virus) についても Glycoprotein B がペア型レセプターの一つである Myelin associated glycoprotein (MAG, Sialic-4) と会合し、ウィルスのエントリーに関与していることを明らかにした。この様に、ペア型レセプターは免疫応答の制御に深く関与するばかりでなく、ウィルスの細胞内侵入にも関与していることが明らかになった。

## 最近の代表的な論文

1. Kogure A, Shiratori I, Wang J, L Lanier L, Arase H. PANP is a novel O-glycosylated PILR $\alpha$  ligand expressed in neural tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 2011 Feb 18; 405(3): 428-433.
2. Suenaga T, Satoh T, Somboonthum P, Kawaguchi Y, Mori Y, and Arase H. Myelin-associated glycoprotein mediates membrane fusion and entry of neurotropic herpesviruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010 Jan 12; 107(2): 866-71.
3. Wang J, Fan Q, Satoh T, Arii J, Lanier LL, Spear PG, Kawaguchi Y, Arase H. Binding of herpes simplex virus glycoprotein B (gB) to PILR $\alpha$  depends on specific sialylated O-linked glycans on gB. *J Virol*. 2009 Dec ; 83(24): 13042-5.
4. Satoh T, Arii J, Suenaga T, Wang J, Kogure A, Uehori J, Arase N, Shiratori I, Tanaka S, Kawaguchi Y, Spear PG, Lanier LL, Arase H. PILR $\alpha$  is a herpes simplex virus-1 entry co-receptor that associates with glycoprotein B. *Cell*. 2008 Mar 21; 132(6): 935-44
5. Wang J, Shiratori I, Satoh T, Lanier LL, Arase H. An essential role of sialylated O-linked sugar chains in the recognition of mouse CD99 by paired immunoglobulin-like type 2 receptor (PILR). *J Immunol*. 2008 Feb 1; 180(3): 1686-93

## 分子遺伝研究分野

### 研究グループ

教授 理学博士 野島 博  
准教授 医学博士 藤田 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

研究内容：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的に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繋している（図 1）。

### (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)。Lats1/2 は器官サイズを制御する Hippo pathway において中枢的な役割を果たす一方で、細胞周期チェックポイント制御においても重要な機能を担っている。とくに Lats2 は癌抑制因子 p53 の直接的な転写標的であるとともに p53 の分解を抑制することにより分裂 (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。**①** Lats2 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。**②** *Lats2 KO* の胚由来線維芽細胞株 (*Lats2<sup>-/-</sup>* MEF) では中心体の断片化、染色体の不整列、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 2 ; Yabuta *et al.*, J. Biol. Chem., 2007)。**③** 我々は Lats2 が制御する 2 つの新たなリン酸化シグナル経路 (CLP 経路、ALB 経路) を見出した。CLP 経路において Lats2 は紫外線照射による DNA 損傷チェックポイントに応答し、14-3-3 を介して翻訳抑制に関わる P-body (processing body) の形成を制御する (図 3 ; GW182 は P-body の構成因子)。

一方、**④** ALB 経路では M 期進行において Lats2 は Aurora-A キナーゼによりリン酸化されて染色体およびセントラルスピンドル (CS) 上に局在し Lats1 と Aurora-B キナーゼを制御して正確な染色体分配を実行する (図 4)。さらに、**⑤** Lats2 は ASPP1-p53 を制御することにより多倍体・異数体の悪性癌細胞において細胞死を誘導し (論文 5)、Snail をリン酸化することにより EMT (上皮間葉転換) を制御している (論文 2)。

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

我々が発見した GAK は脳神経細胞以外の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) に必須であるが、この現象にはキナーゼ領域は不要である。

我々は以下の現象を見出すことで GAK キナーゼの役割を解明してきた (図 5)。**①** GAK は PP2A B'  $\gamma$  および

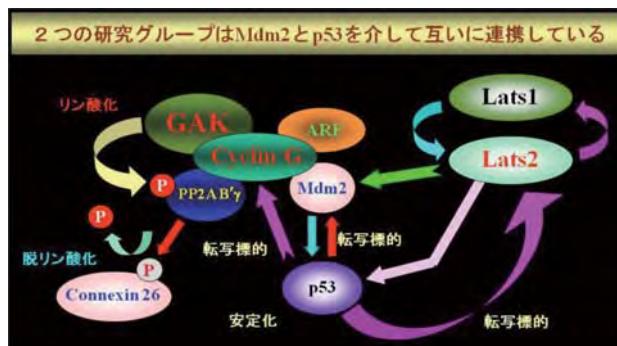


図 1 ; Lats グループと GAK グループは互いに連繋している。

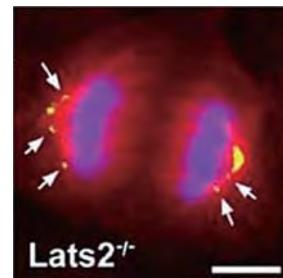


図 2 ; Lats2 欠損による中心体の断片化。

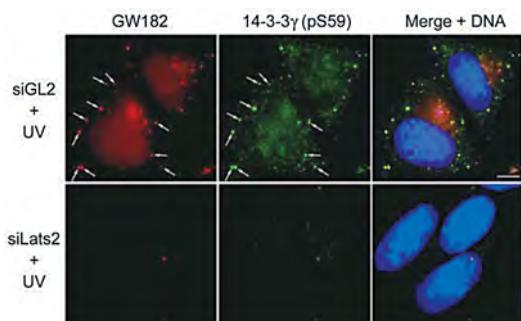


図 3 ; Lats2 は UV 照射後の P-body の形成に必要である。

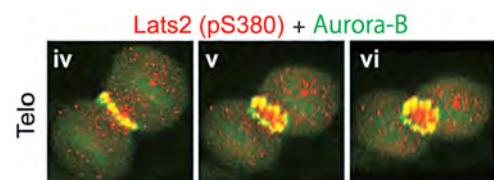


図 4 ; Lats2 は Aurora-B と CS で共局在する。

cyclin G (cyclin G1、cyclin G2) と複合体を形成する。GAK は PP2A B'γ の T104 をリン酸化し PP2A の脱リン酸化酵素活性を制御している (Naito *et al.*, *Cell Cycle*, 2012; 図 6)。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、中心体成熟と染色体凝縮・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周期が M 期で停止する (図 7)。④GAK のキナーゼ活性を欠損させた KO マウス (GAK-kd) を作製し解析したところ、肺の発生に異常を来し出生直後に衰弱して死亡に至った (図 8)。分子標的薬のゲフィチニブ (gefitinib) は GAK も EGFR と同程度に阻害することから、この結果は GAK の阻害が間質性肺炎という重篤な副作用を生じていることを示唆する。

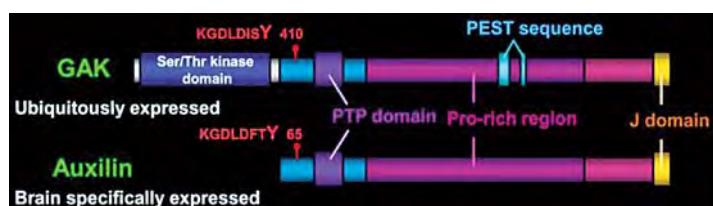


図 5 ; GAK と auxilin の構造は GAK のキナーゼ領域以外は類似している。

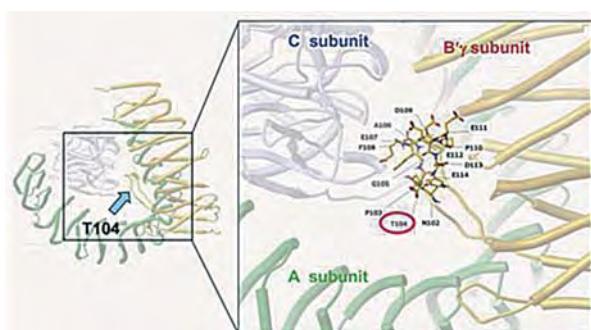


図 6 ; GAK によるリン酸化部位 T104 は B'γ のループ 2 に位置し、活性制御に重要であることが示唆される。

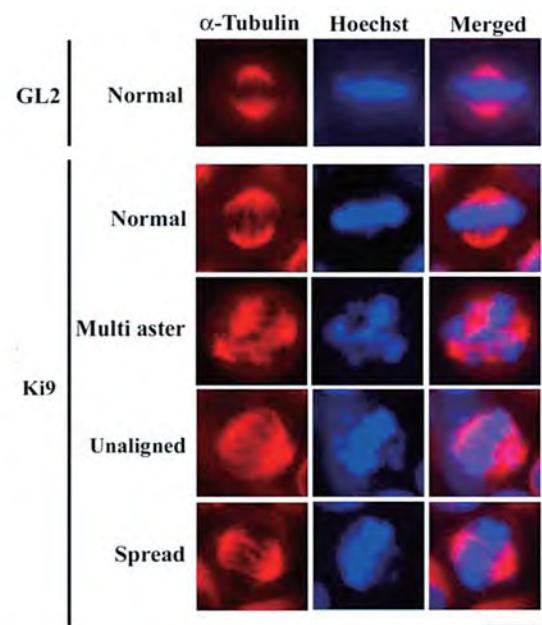


図 7 ; GAK を siRNA (Ki9) でノックダウンすると染色体異常を起こす。(Shimizu *et al.*, *J. Cell Sci.*, 2009)

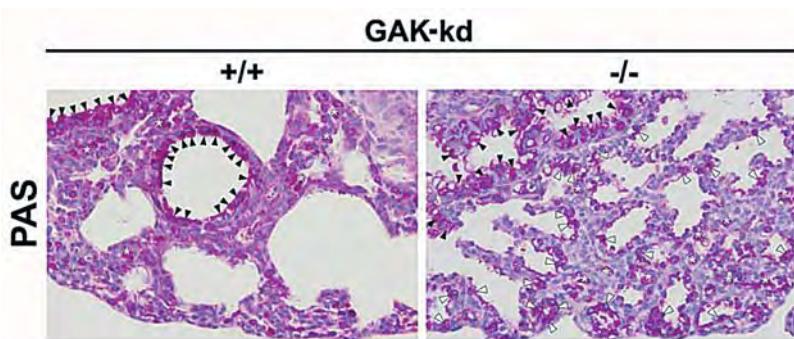


図 8 ; GAK のキナーゼ欠損はマウス胎仔期の肺機能の成熟に異常を来す。(論文 1 より)

### 最近の代表的な論文

1. Tabara H, Naito Y, Ito A, Katsuma A, Sakurai MA, Ohno S, Shimizu H, Yabuta N, Nojima H. Neonatal lethality in knockout mice expressing the kinase-dead form of the gefitinib target GAK is caused by pulmonary dysfunction. *PLoS ONE*. 2011, 6(10): e26034.
2. Zhang K, Rodriguez-Aznar E, Yabuta N, Owen RJ, Mingot JM, Nojima H, Nieto MA, Longmore GD. Lats2 kinase potentiates Snail1 activity by promoting nuclear retention upon phosphorylation. *EMBO J*. 2011 Sep 27;31(1):29-43.
3. Yabuta N, Mukai S, Okada N, Aylon Y, Nojima H. The tumor suppressor Lats2 is pivotal in Aurora A and Aurora B signaling during mitosis. *Cell Cycle*. 2011, 10(16):2724-36.
4. Okada N, Yabuta N, Suzuki H, Aylon Y, Oren M, Nojima H. A novel Chk1/2-Lats2-14-3-3 signaling pathway regulates P-body formation in response to UV damage. *J. Cell Sci.* 2011 Jan 1;124(Pt 1):57-67.
5. Aylon Y, Ofir-Rosenfeld, Y., Yabuta N, Lap, E. Nojima H, Lu, X. and Oren M. The Lats2 tumor suppressor augments p53-mediated apoptosis by promoting the nuclear proapoptotic function of ASPP1. *Genes Dev.* 2010 Nov 1;24(21):2420-9.

## 発癌制御研究分野

### 研究グループ

教授 岡田 雅人  
准教授 名田 茂之  
准教授 小根山 千歳

特任研究員 梶原 健太郎  
特任研究員 角元 恭子

「がん」は、ゲノム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」の機能欠損変異による細胞の不死化や、「がん原遺伝子」の活性化変異（「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、その活性化変異によるがん形質発現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、ヒトのがんとも深く関わる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とその制御機構の全容解明を目指した研究を進めている。

### I. c-Src の機能と制御機構

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、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た時に活性化する。その下流で、MAPK 経路などの活性化を介して遺伝子の発現を誘導したり、Rho GTPase を活性化して細胞骨格の再編を誘導する。その結果、細胞接着・運動能の活性化、分化、増殖、生存、さらには形質転換の誘導など多様な生理機能を発揮する（図1）。ヒトのがんでは c-Src 遺伝子自体には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 の多様な機能が増幅されてがん悪性化形質が誘導されると考えられている。近年我々は、c-Src のがん化能が、細胞膜ミクロドメインに存在する膜アダプタータンパク質 Cbp によって制御されることを見出し、その制御システムの破綻とがん化との関連性について解析を進めている。

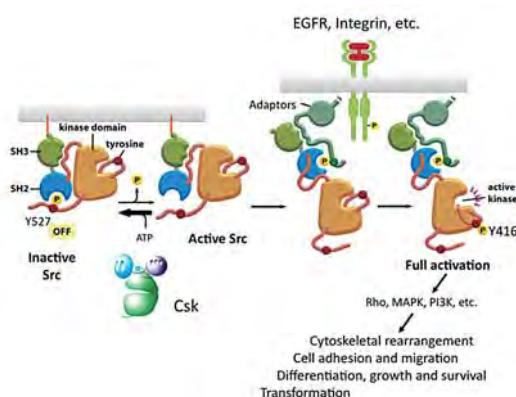


図1. c-Src の機能と活性制御機構

### II. c-Src によるがん形質発現機構の解析

c-Src によるがん形質発現に至る細胞内経路を特定するために、独自に開発した c-Src によるがん化誘導系を用いて網羅的な解析を進めている。プロテオミクス解析から、新たなSrc 下流因子として Rho の活性化を誘導する Arhgef5 を同定し、そのKOマウス作製等により機能解析を進めている。また、miRNA のアレイ解析からは、c-Src によるがん化形質の発現に伴って比較的限られた種類の miRNA の発現が変動することを見だし、それらの標的遺伝子を複数種同定することに成功している。それら主要な標的遺伝子が c-Src の上流および下流のシグナル分子（FGFR3, mTOR, ILK など）であることから、c-Src が miRNA を介して自らのシグナル伝達経路をチューニングすることによって、がん化形質の発現をポジ

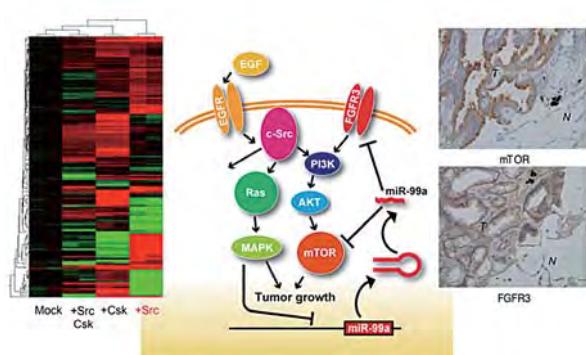


図2. miRNA を介する Src によるがん形質発現制御機構



ティブにコントロールするという新しい制御システムの存在を明らかにした（図2）。

### III. 後期エンドソーム／リソソームを介する増殖シグナルの解析

c-Src の標的分子探索の過程で、後期エンドソーム／リソソームに特異的に局在する新たな膜アダプター蛋白質 p18 を同定し、その機能解析を進めている。これまでに、p18 が p14/MP1 と複合体を形成することによって、mTORC1 が後期エンドソーム／リソソーム上で活性化するために必須となる足場として機能することを明らかにした。また、p18 KO マウスがリソソームの成熟に重篤な異常を示して胎生致死となることから、リソソーム成熟過程における p18 の役割が注目され、その際に機能する p18-mTORC1 経路の標的分子の同定と機能解析を進めている（図3）。さらに、p18-mTORC1 経路が、細胞の増殖や成長、及び Src などのがん遺伝子を介するがん化においても必須の役割を担うことから、その増殖シグナル経路における機能についても分子レベルでの解析を進めている。

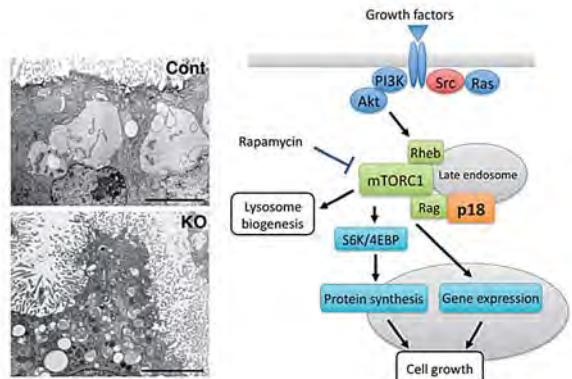


図3. 新たな後期エンドソーム膜アダプター蛋白質 p18 の機能

### 最近の代表的な論文

- 1 : Takahashi Y, Nada S, Mori S, Soma-Nagae T, Oneyama C, Okada M. The late endosome/lysosome-anchored p18-mTORC1 pathway controls terminal maturation of lysosomes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Jan 27;417(4):1151-7.
- 2 : Oneyama C, Morii E, Okuzaki D, Takahashi Y, Ikeda J, Wakabayashi N, Akamatsu H, Tsujimoto M, Nishida T, Aozasa K, Okada M. MicroRNA-mediated upregulation of integrin-linked kinase promotes Src-induced tumor progression. *Oncogene.* 2012 Mar 29;31(13):1623-35.
- 3 : Kuroiwa M, Oneyama C, Nada S, Okada M. The guanine nucleotide exchange factor Arhgef5 plays crucial roles in Src-induced podosome formation. *J Cell Sci.* 2011 May 15;124(Pt 10):1726-38.
- 4 : Oneyama C, Ikeda J, Okuzaki D, Suzuki K, Kanou T, Shintani Y, Morii E, Okumura M, Aozasa K, Okada M. MicroRNA-mediated downregulation of mTOR/FGFR3 controls tumor growth induced by Src-related oncogenic pathways. *Oncogene.* 2011 Aug 11;30(32):3489-501.
- 5 : 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.

## 情報伝達分野

### 研究グループ

教授 医学博士 高倉 伸幸  
助教 医学博士 木戸屋 浩康  
助教 医学博士 内藤 尚道

特任研究員 医学博士 韓 瑛璐  
特任研究員 医学博士 山川 大史  
ポスドク 医学博士 衣笠 由美  
ポスドク 薬学博士 毛利 友美

研究内容：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產生が必須であるが、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) 発芽的血管新生の分子メカニズム (Tie1, Tie2 受容体の活性化、不活性化の分子機構)
- 2) 成体血管幹細胞の発生と生理的／病的血管形成との関連
- 3) 血管成熟化および動脈バターニングの解明 (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 GINS および Galectin-3 の機能制御
- 3) 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

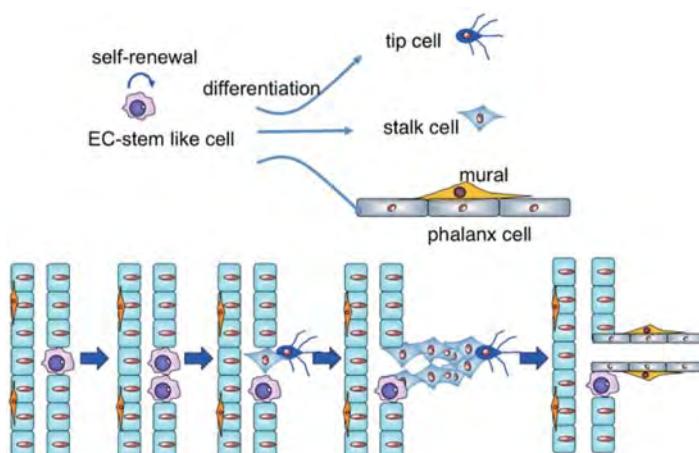


図1 血管新生と血管内皮幹細胞

血管新生の過程では、発芽した血管の先頭を移動してガイドンスとして機能する tip 細胞、その背後から増殖して血管伸長に関わる stalk 細胞、そして最後に壁細胞化を伴う成熟した血管に分化させる phalanx 細胞という、少なくとも 3 種の内皮細胞が存在することが明らかにされてきた。我々は内皮細胞の中に幹細胞様細胞 (spEC) を発見したことに立脚し、このような内皮細胞の異種性細胞分化における幹細胞システムの生理的および病的意義を解明している。

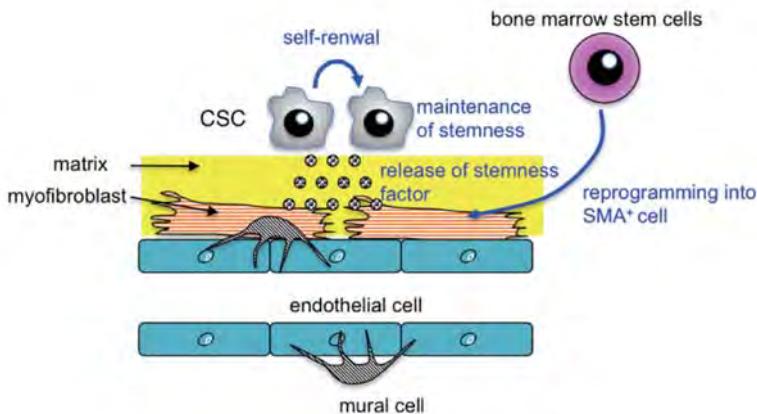


図2 がん幹細胞の血管ニッチ

我々は、自己複製中の幹細胞に共通して発現する DNA 複製因子、PSF1 の発現を利用してがん幹細胞 (CSC) を捉え、CSC が腫瘍内成熟血管を生態学的適所 (ニッチ) としていることを見いだした。今後、血管ニッチにおける、がん幹細胞の幹細胞性維持機構の解明が重要である。

VEGF-A/VEGFR2 system

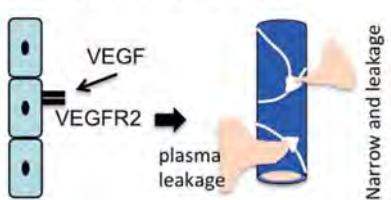
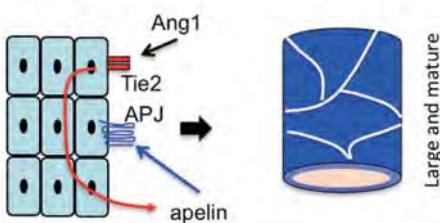


図3 血管の成熟化機構

種々の血管病の治療において血管成熟化のインパクトは大きい。造血幹細胞や壁細胞が分泌する angiopoietin-1 (Ang1) は内皮細胞上の Tie2 の活性化で 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。VEGF/VEGFR2 システムで形成される血管とは異なり、血管透過性も制御されており、血流の増大が病態改善にプラスとなる治療に apelin は有効である。

Angiopoietin-1/Tie2 system → Apelin / APJ system



## 最近の代表的な論文

1. Naito H, Kidoya H, Sakimoto S, Wakabayashi T, Takakura N. Identification and characterization of a resident vascular stem/progenitor cell population in preexisting blood vessels. *EMBO J*. 2011 Dec 16;31(4):842-55.
2. Kidoya H, Naito H, Takakura N. Apelin induces enlarged and non-leaky blood vessels for functional recovery from ischemia. *Blood*. 2010 Apr 15;115(15):3166-74.
3. 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.
4. 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.
5. 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.

## 細胞制御分野

### 研究グループ

教授 博士（理学） 三木 裕明  
 助教 博士（医学） 山崎 大輔  
 助教 博士（薬学） 船戸 洋佑

特任研究員 博士（生命科学） 上杉 加奈美  
 特任研究員 博士（薬学） 平田 祐介

多細胞生物を構成する一つ一つの細胞は、置かれた環境（ホルモン・増殖因子などの刺激物質、周囲の細胞や間質との相互作用など）に適切に応答するためのシグナル伝達システムを有している。その破綻は、がん細胞に典型的に観察されるような周囲との調和を逸脱した無秩序な細胞増殖など、さまざまな疾患の原因となる。私たちの研究室では、細胞の増殖、分化、運動など、さまざまな細胞現象を制御するシグナル伝達の仕組みについて、分子・細胞レベルから線虫やマウスを用いた生物個体レベルで包括的な解析を進めている。特に現在は、(1) 蛋白質の可逆的な酸化修飾による酸化ストレス応答シグナル伝達、(2) レドックス応答因子によるがん転移の促進および細胞内マグネシウム制御、の二点を主要な研究課題として取り組んでいる。

### （1）蛋白質の可逆的な酸化修飾による酸化ストレス応答シグナル伝達

多細胞生物の初期発生や発がんなどに重要な Wnt シグナル伝達の新規制御因子として、チオレドキシン類縁蛋白質のヌクレオレドキシン (NRX: nucleoredoxin) を見つけた。NRX は Wnt シグナル伝達に必須の Dishevelled (Dvl) に結合して、その機能を抑制する働きをもつ。その一方で、この NRX-Dvl の結合は、NRX の分子内 S-S 結合の形成による可逆的な酸化によって制御されていることも明らかとなった。つまり、NRX はレドックス状態応答性に Wnt シグナル伝達を調節する機能を担っている (Fig. 1)。また、チオレドキシンを利用して、細胞内で S-S 結合を形成する蛋白質を網羅的に探索する実験系を開発した。それを用いて、新規 S-S 蛋白質としてセマフォリンシグナル伝達に働く CRMP2 などを見つけている。セマフォリン刺激応答性に過酸化水素が産生され、それが CRMP2 を酸化して S-S 結合で結ばれたホモ二量体を作らせることを明らかにした。この可逆的な CRMP2 酸化がセマフォリン刺激による軸索反発応答を仲介していることを発見した (Fig. 2)。

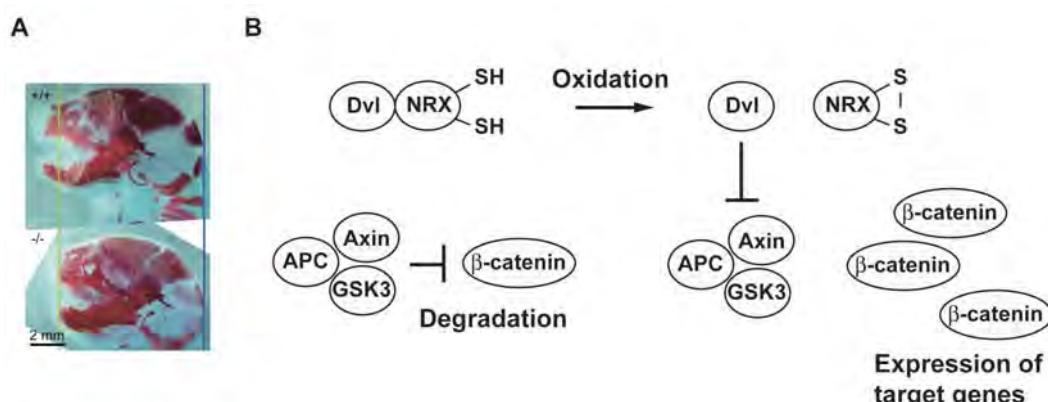


Fig. 1: Redox regulation of Wnt signaling by reversible oxidation of Nrx  
 (A) Developmental abnormality of bones in *Nrx*<sup>-/-</sup> mice. (B) Schematic illustration of the mechanism of redox regulation of Wnt signaling by Nrx. Nrx inhibits the function of Dvl. The protein complex composed of APC, Axin, and GSK3 induces degradation of β-catenin. When Nrx is oxidized, Dvl becomes free from Nrx and inhibits the degradation of β-catenin, which induces the expression of its target genes.

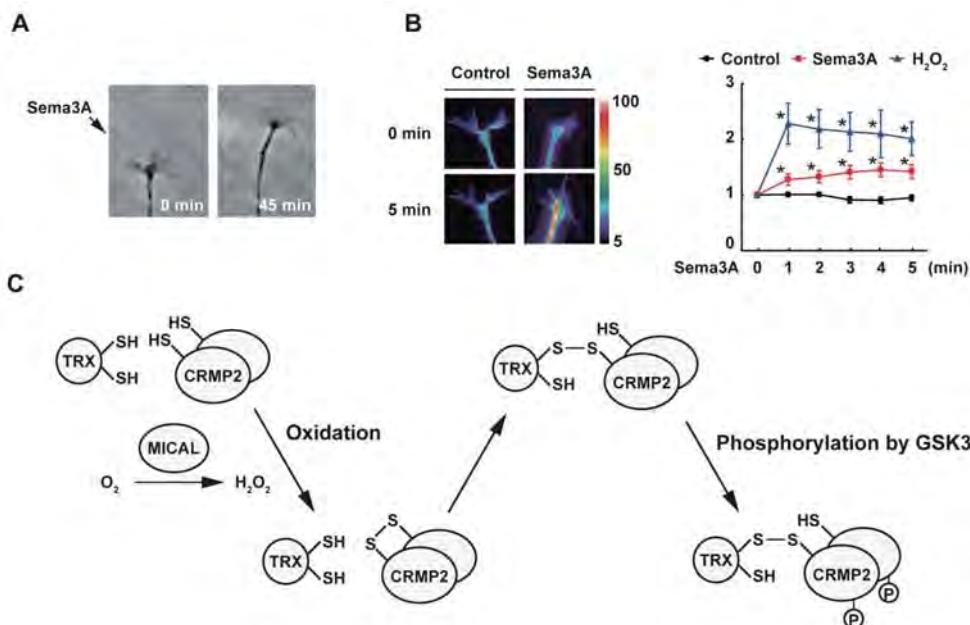


Fig. 2: CRMP2 oxidation in Semaphorin signaling

(A) Repulsive guidance of axons by Semaphorin 3A (Sema3A). (B) Increase of  $H_2O_2$  in growth cones of neurons by Sema3A. (C) Schematic illustration of the mechanism of Semaphorin signaling via CRMP2 oxidation. Sema3A stimulation generates  $H_2O_2$  and oxidizes CRMP2. Oxidized CRMP2 transiently forms protein complexes with TRX, which induces CRMP2 phosphorylation by GSK3.

## (2) レドックス応答因子によるがん転移の促進および細胞内マグネシウム制御

S-S 結合を作る蛋白質の探索から、チロシンホスファターゼドメインを持つ機能未知の蛋白質 PRL を見つけた。PRL は転移性大腸がんなど悪性度の高いがんでの高発現が認められており、がん転移を促す因子として知られている。私たちは PRL の結合蛋白質の探索を行い、Magnesium-Exporting protein (MagEx) と呼ぶ膜蛋白質を同定した。MagEx は細胞内の  $Mg^{2+}$  を排出することで細胞内  $Mg^{2+}$  の制御を行っており、PRL との結合によってその機能が抑制されることを見つけている。

## 最近の代表的な論文

1. Morinaka A, Funato Y, Uesugi K, Miki H. Oligomeric peroxiredoxin-I is an essential intermediate for p53 to activate MST1 kinase and apoptosis. *Oncogene*. 2011 Oct 6;30(40):4208-18.
2. Morinaka A, Yamada M, Itofusa R, Funato Y, Yoshimura Y, Nakamura F, Yoshimura T, Kaibuchi K, Goshima Y, Hoshino M, Kamiguchi H, Miki H. Thioredoxin mediates oxidation-dependent phosphorylation of CRMP2 and growth cone collapse. *Sci Signal*. 2011 Apr 26;4(170):ra26.
3. Funato Y, Terabayashi T, Sakamoto R, Okuzaki D, Ichise H, Nojima H, Yoshida N, Miki H. Nucleoredoxin sustains Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by retaining a pool of inactive dishevelled protein. *Curr Biol*. 2010 Nov 9;20(21):1945-52.
4. Hayashi T, Funato Y, Terabayashi T, Morinaka A, Sakamoto R, Ichise H, Fukuda H, Yoshida N, Miki H. Nucleoredoxin negatively regulates Toll-like receptor 4 signaling via recruitment of flightless-I to myeloid differentiation primary response gene (88). *J Biol Chem*. 2010 Jun 11;285(24):18586-93.
5. Yoshimura Y, Terabayashi T, Miki H. Par1b/MARK2 phosphorylates kinesin-like motor protein GAKIN/KIF13B to regulate axon formation. *Mol Cell Biol*. 2010 May;30(9):2206-19.

## 分子原虫学分野

### 研究グループ

教授	理学博士	堀井 俊宏	特任助教 博士(工学)
招へい教授	理学博士・医学博士	田邊 和祐	ニリアン・マリー・パラックパック Q
助教	博士(理学)	有末 伸子	特任研究員 博士(理学) 八木 正典
助教	博士(医学)	東岸 任弘	

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の動物を 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I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 に対する宿主の免疫応答などの基礎研究にも精力を注いでいる。また、三日熱マラリア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：ウガンダ北部アッチャ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。

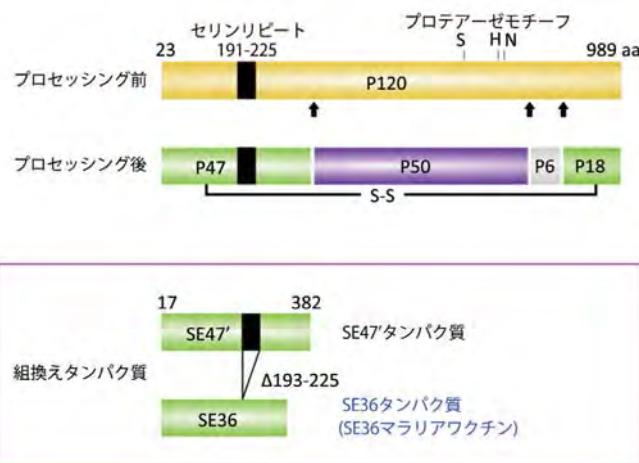


図2：熱帯熱マラリア SERA のプロセッシング断片と SE36 タンパク質の構造

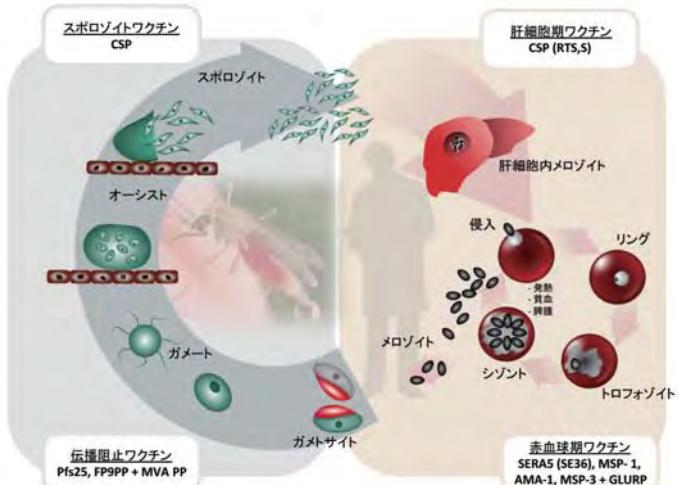


図3：熱帯熱マラリア原虫の生活環とワクチン候補抗原

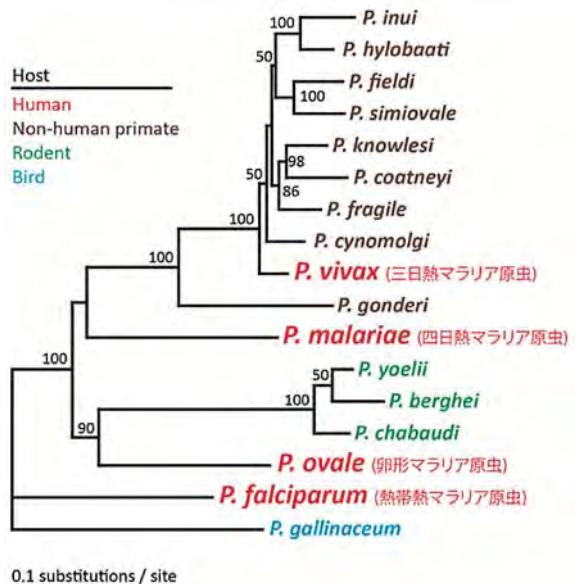
## (2) マラリア原虫の進化過程の解明

マラリア原虫は、高い宿主特異性、複雑な生活環、宿主免疫応答の回避機構など、高度に進化したユニークな特徴を数多く有する。これらの基盤となる分子機構を明らかにするために、核ゲノム、オルガネラゲノムの解読や抗原分子の多型解析など、遺伝子配列情報からのアプローチを行っている。これらの研究からの成果はワクチン開発の現場でも有効に利用されている。

図5：アピコプラストゲノムにコードされている30遺伝子による系統樹：ヒトを宿主とする4種のマラリア原虫は単系統群を形成しない。宿主転換が進化の過程において何度も生じている。



図4：SE36 マラリアワクチン治験薬剤：  
(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。



## 最近の代表的な論文

1. Arisue N, Hashimoto T, Mitsui H, Palacpac NM, Kaneko A, Kawai S, Hasegawa M, Tanabe K, Horii T. The *Plasmodium* apicoplast genome: conserved structure and close relationship of *P. ovale* to rodent malaria parasites. *Mol Biol Evol*. 2012 Mar 6. (in press)
2. Tanabe K, Arisue N, Palacpac NM, Yagi M, Tougan T, Honma H, Ferreira MU, Färnert A, Björkman A, Kaneko A, Nakamura M, Hirayama K, Mita T, Horii T. Geographic differentiation of polymorphism in the *Plasmodium falciparum* malaria vaccine candidate gene SERA5. *Vaccine*. 2012 Feb 21;30(9):1583-93.
3. Palacpac NM, Arisue N, Tougan T, Ishii KJ, Horii T. *Plasmodium falciparum* serine repeat antigen 5 (SE36) as a malaria vaccine candidate. *Vaccine*. 2011 Aug 11;29(35):5837-45.
4. Arisue N, Kawai S, Hirai M, Palacpac NM, Jia M, Kaneko A, Tanabe K, Horii T. Clues to evolution of the SERA multigene family in 18 *Plasmodium* species. *PLoS One*. 2011 Mar 15;6(3):e17775.
5. Horii T, Shirai H, Li J, Ishii KJ, Palacpac NM, 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*. 2010 Sep;59(3):380-6.

## ウイルス免疫分野

### 研究グループ

教授	医学博士	生田 和良	特任助教	保健学博士	佐々木 正大
助教	医学博士	黒須 剛	特任助教	医学博士	浅井 あづさ
助教	医学博士	渡邊 洋平	特任研究員	理学博士	井上 雄嗣

特任研究員	獣医学博士	金井 祐太
特任研究員	薬学博士	西村 光広

当分野では、免疫系、呼吸器系に感染するウイルスや神経系を異常化するプリオンについて、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

デング疾患は熱帯・亜熱帯地域の最も重要なウイルス感染症で、蚊媒介性に、免疫系の細胞に感染する。デングウイルスは1型～4型の血清型に分かれ、2回目に1回目とは異なる血清型ウイルスで感染した場合にはデング出血熱やデングショック症候群など重症化を招くことが多い。感染者は強い中和抗体を産生するが、この抗体の中には、次に感染した、血清型の異なるウイルスに対しては感染増強性に働く抗体も存在すると言われている。この仮説により、ワクチン開発が困難視されている。私たちは、デングウイルスの感染により引き起こされる病態機序の解明、さらにウイルス複製抑制に働く、有効な治療薬の開発を進めている。その評価のために、デングウイルスに感受性の動物モデルの開発も進めている。また、デング患者由来免疫細胞を用いたヒト型中和性单クローナル抗体を作製し、これらを用いた病態機序解明と共に抗体医薬の開発も目指している。

### (2) 呼吸器系に感染するウイルス

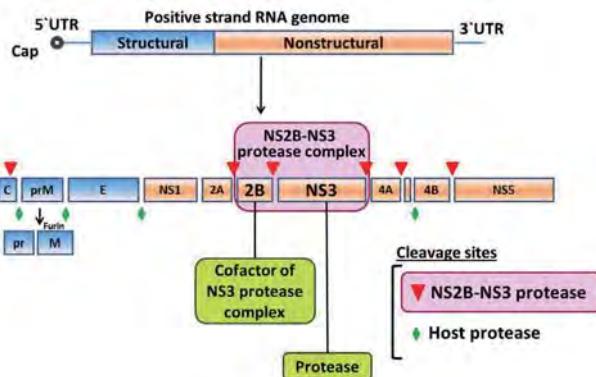
インフルエンザウイルスは、典型的な急性の呼吸器感染症を引き起こす。季節性インフルエンザウイルスに加え、2009年にブタに由来する新型インフルエンザウイルスが新たに出現し、現在、高病原性鳥インフルエンザウイルスに由来する新型インフルエンザウイルスの出現が懸念され、世界的な関心事になっている。私たちは、アレキサンドリア大学と共同で、エジプトで流行する高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 亜型について研究を進めている。私たちは、近年同国で流行する H5N1 ウィルスの中に、ヒト型レセプター糖鎖にこれまでより高い結合親和性を獲得した新しいウイルス群が出現していることを明らかにしている。エジプトにおける H5N1 ウィルス由来パンデミックウイルス出現の潜在性とその機序の解明を試みている。また、インフルエンザウイルスに対して中和活性を示すヒト型单クローナル抗体を作製し、これらを用いた抗体医薬の開発を目指している。さらに、香港型インフルエンザウイルスに対して広く中和する单クローナル抗体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次世代型エピトープワクチンの開発を、企業との共同研究として進めている。

### (3) 血液製剤を介して感染伝播するウイルス

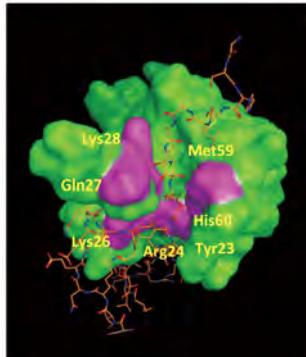
血液や血液製剤の安全性確保のために、これら製剤を介して感染伝播のリスクのあるパルボウイルス B19、SARS コロナウイルス、E 型肝炎ウイルス、プリオン等に関する排除法について企業との共同研究として検討している。

### (4) 感染症の迅速診断法の開発

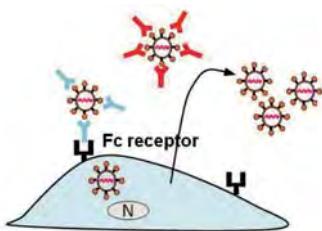
さまざまなウイルス感染症の診断には、蛍光抗体法、ELISA、ウェスタンブロット法などを用いる血清学的手法やPCRを用いる分子的手法が採られている。私たちは、感染症の迅速診断法としてのイムノクロマト法によるキット開発を企業との共同研究として行っている。



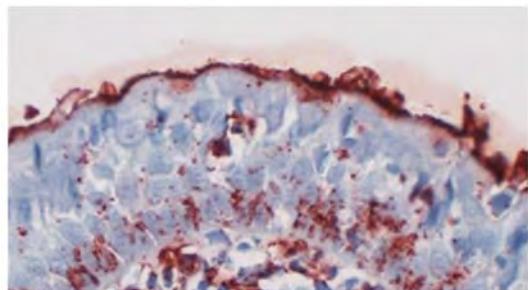
デングウイルスは一本につながったポリプロテインとして産生される。ウイルス粒子の形成のために、10個のタンパク質に切断されなければならない。デングウイルスプロテアーゼ NS3 はこの過程に必須のタンパク質であり、Cofactor である NS2B と複合体を形成し活性を発揮する。従って、NS3 と NS2B との相互作用を阻害する低分子は、ウイルス複製を阻害する働きをする。



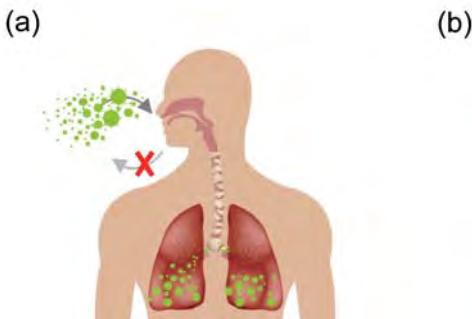
NS2B（フレーム構造）は NS3（緑）のポケット部位と相互作用しており、ピンク部分は、私たちが新たに見出した低分子との相互作用に重要なアミノ酸残基を示している。



デングウイルス感染は強い抗体産生を誘導する。これら抗体には感染制御に働く中和抗体のみではなく、単球 / マクロファージに発現しているFcレセプターを介し、抗体依存性の感染増強性を引き起こす抗体も存在すると言われている。感染者由来免疫細胞を用いて作製したヒト型単クローナン抗体を用いて、抗体依存性の病態機序の解明に取り組むと共に、効果的な治療用抗体の開発を目指している。



近年エジプトで流行する高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 亜型の中に、ヒトの下部呼吸器上皮にこれまでよりも高い吸着性・感染性を獲得したウイルス群が出現している（写真：赤色がヒトの気管上皮に吸着したエジプト流行株を示す）。同国における H5N1 ウィルス由来パンデミックウイルス出現の潜在性とその機序の解明を試みている。



(a) 典型的な H5N1 ウィルスの感染形態。ウィルスが下部呼吸器で複製することで初めて病原性が発揮される。(b) 近年エジプトで流行している新しい H5N1 ウィルス群による感染形態。これまでより広範な呼吸器部位に対して、より少ないウイルス量で感染が成立しうると考えられる。但し、これまでエジプトにおいて、H5N1 ウィルスの個体間伝播は確認されていない。

## 最近の代表的な論文

- Yasugi M, Nakamura S, Daidoji T, Ramadhany R, Yang C-S, Yasunaga T, Iida T, Horii T, Ikuta K, Takahashi K, Nakaya T. Frequency of D222G and Q223R hemagglutinin mutants of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus in Japan between 2009 and 2010. *PLoS One* 2012;7(2):e30946. Epub 2012 Feb 17.
- Watanabe Y, Ibrahim MS, Suzuki Y, Ikuta K. The changing nature of avian influenza A virus (H5N1). *Trends Microbiol.* 2012 Jan;20(1):11-20. Epub 2011 Dec 5.
- Watanabe Y, Ibrahim MS, Ellakany HF, Kawashita N, Mizuike R, Hiramatsu H, Sriwilaijaroen N, Takagi T, Suzuki Y, Ikuta K. Acquisition of human-type receptor binding specificity by new H5N1 influenza virus sublineages during their emergence in birds in Egypt. *PLoS Pathog.* 2011 May;7(5):e1002068. Epub 2011 May 26.
- Mizuike R, Sasaki T, Baba K, Iwamoto H, Shibai Y, Kosaka M, Kubota-Koketsu R, Yang CS, Du A, Sakudo A, Tsujikawa M, Yunoki M, Ikuta K. Development of two types of rapid diagnostic test kits to detect the hemagglutinin or nucleoprotein of the swine-origin pandemic influenza A virus H1N1. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011 Mar;18(3):494-9. Epub 2011 Jan 12.
- Kurosaki T, Khamlert C, Phanthanawiboon S, Ikuta K, Anantapreecha S. Highly efficient rescue of dengue virus using a co-culture system with mosquito/mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Apr 2;394(2):398-404. Epub 2010 Mar 7.

## 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	薬学博士 井上 直和
准教授	理学博士 三輪 岳志	助教（兼）	薬学博士 磯谷 綾子
准教授（兼）	薬学博士 伊川 正人	特任助教（兼）	生命科学博士 佐藤 裕公
助教	医学博士 蓮輪 英毅		

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、人工的に遺伝子を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、そのノウハウを生かして受精のメカニズムや生殖細胞の成り立ちを研究している（図 1）。これまでに精巣特異的な小胞体シャペロン群 (CLGN, CALR3, PDILT) のノックアウトマウスを作製し、それらが精子膜タンパク質 (ADAM3) の品質管理に必要であること、結果として ADAM3 を失った精子は子宮から卵管に移行できないために雄性不妊となることを明らかにした（図 2）（1）。

ところで、卵管に到達した精子は卵子を取り囲んでいる細胞外マトリックス（透明帯）に結合して先体反応し、透明帯を通過すると信じられている。しかし、ADAM3 を失って透明帯に結合できない精子でも卵丘細胞が存在すれば透明帯を通過して受精できることや、透明帯を通過して先体反応を終えた精子が再度透明帯を通過できることから（図 3）（1，2）、我々は先体反応前の精子と透明帯の結合には殆ど意味がないと考えており、受精のパラダイムを書き換えるべく研究を重ねている。他にもノックアウトマウスを用いた解析から、精子の先体内膜の IZUMO1 が卵子との融合に必須であることや（図 4）、SPESP1 が融合に必須な精子膜構造の安定化に重要であることなどを報告している。



図 1) 頭部の先体が GFP、尾部のミトコンドリアが RFP でラベルされたトランジエニックマウス精子。先体反応すると精子は先体内の GFP を放出して蛍光を失う。

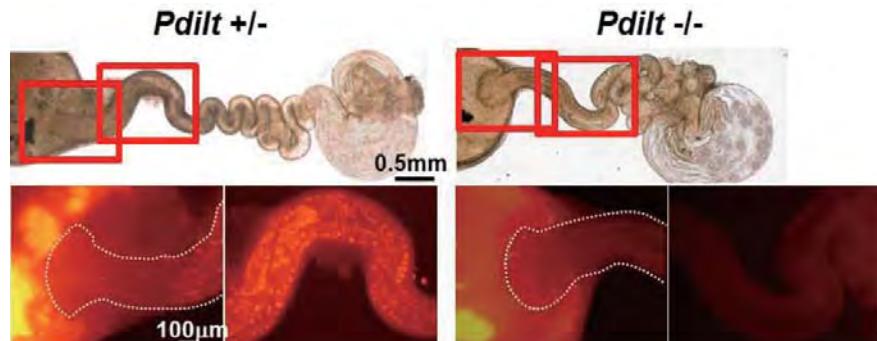


図 2) ADAM3 が消失した Pdilt ノックアウトマウスの精子は子宮から卵管に移行できず、雄性不妊の原因となる。

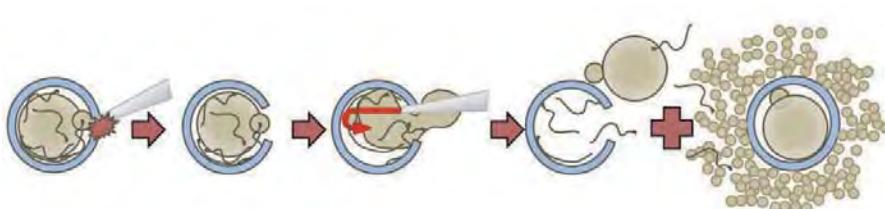


図 3) 人工的に取り出した卵巣腔の精子は、別の卵子の透明帯を通過して受精できる。

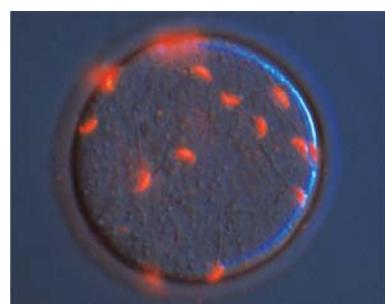


図 4) Izumo1 ノックアウトマウスの精子は透明帯を通過して卵巣腔内に侵入できるが、卵子に融合できない。

我々は生殖工学・発生工学を駆使したアプローチから生命の根源に迫るチャレンジングな研究を目指している。レンチウイルスベクターを用いることで、胎児に遺伝子を導入することなく胎盤にのみ遺伝子操作できる方法を考案するとともに、胎盤特異的に sFLT1 を発現することで妊娠高血圧症候群のモデルマウスを開発している（3）。最近は、独自に樹立したラット ES 細胞を用いてマウス↔ラットキメラ動物を用いた臓器再生医学研究や（図 5）（4）、miRNA 欠損マウスを用いた non coding RNA の生体機能解析などに取り組んでいる。

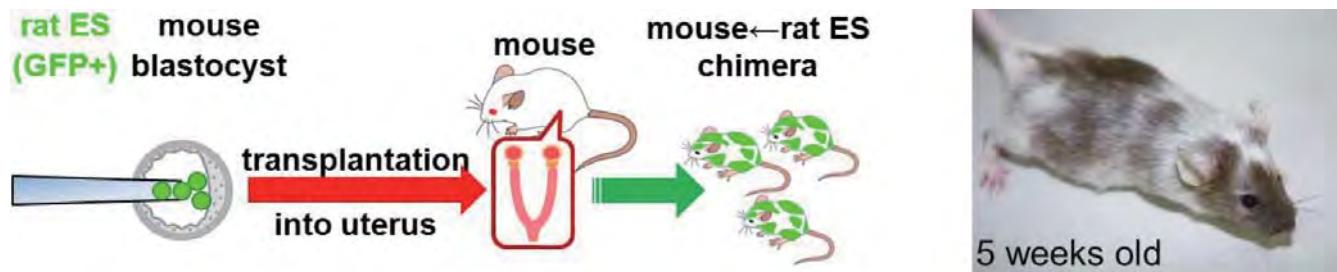


図 5) マウスの胚盤胞にラット ES 細胞を注入して作製したマウス↔ラット キメラ。  
白色部分がマウス、有色部分がラット由来の細胞である。

### 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://www.tgko.biken.osaka-u.ac.jp/tgko/sum/index>)。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も支援している。

### 研究内容（三輪グループ）

循環器系疾患に関する遺伝子について分子生物学的解析を行っている。心不全の約半数を占める拡張不全の病態の解明を食塩感受性高血圧ダールラットモデル作製し、その発症メカニズムを解析し、高血圧患者で増加する血清内因性ジギタリス様物質の Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger に対する影響（5）や食塩感受性因子としてカルニチンが心左室線維化の抑制による左室拡張機能の改善により拡張不全の発症が抑制されたことを見出している（図 6）。

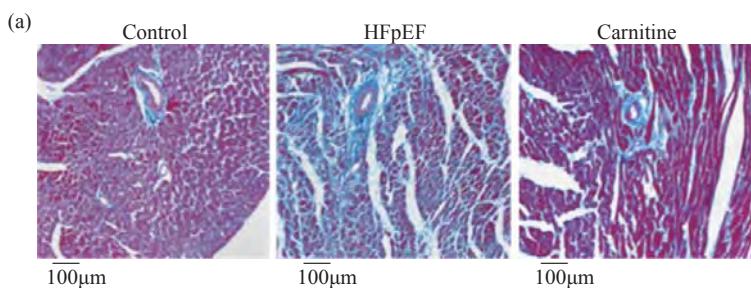


図 6) 20 週令ダールラットにおける左心室の線維化。  
EFpEF; 拡張不全状態、Carnitine; カルニチンを投与後。

### 最近の代表的な論文

1. Tokuhiro K, Ikawa M, Benham AM, Okabe M. Protein disulfide isomerase homolog PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male infertility. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 March 6; 109(10): 3850-3855.
2. Inoue N, Satoh Y, Ikawa M, Okabe M, Yanagimachi R. Acrosome-reacted mouse spermatozoa recovered from the perivitelline space can fertilize other eggs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Dec 13; 108(50): 20008-11.
3. Kumasawa K, Ikawa M, Kidoya H, Hasuwa H, Saito-Fujita T, Morioka Y, Takakura N, Kimura T, Okabe M. Pravastatin induces placental growth factor (PGF) and ameliorates preeclampsia in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Jan 25; 108(4): 1451-5.
4. Isotani A, Hatayama H, Kaseda K, Ikawa M, Okabe M. Formation of a thymus from rat ES cells in xenogeneic nude mouse↔rat ES chimeras. *Genes Cells*. 2011 Apr; 16(4): 397-405.
5. Kamimura D, Ohtani T, Miwa T, et al. Ca<sup>2+</sup> Entry mode of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger as a new therapeutic target for heart failure with preserved ejection fraction. *European Heart J*. 2011 Apr 13.

## 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）	博士（薬学）	川下 理日人
教授（兼）	薬学博士	高木 達也	特任研究員	博士（理学）	山下 明史
助教	博士（理学）	後藤 直久	特任研究員	博士（理学）	U. Chandimal de Silva
助教	博士（薬学）	中村 昇太			

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遺伝子、タンパク質、RNA などの情報について、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变配列を見出した (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)。

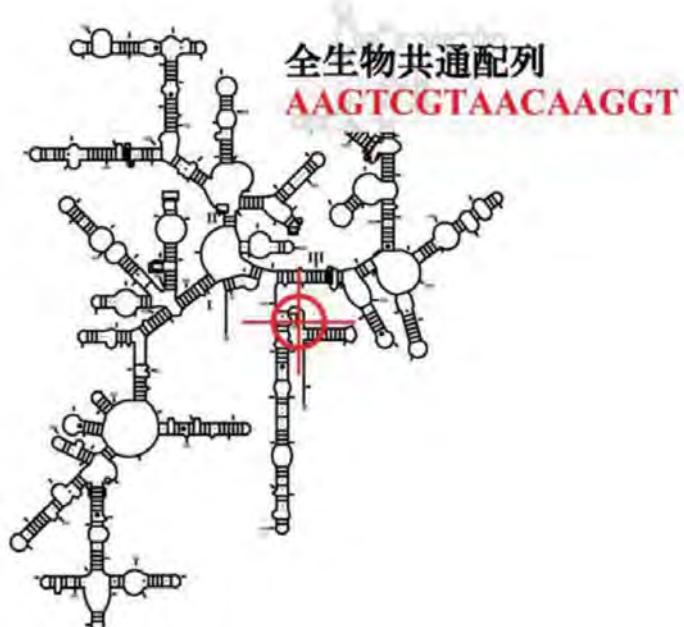


図 1 266 種のゲノム配列解析により明らかとなった全生物のゲノムの保存配列

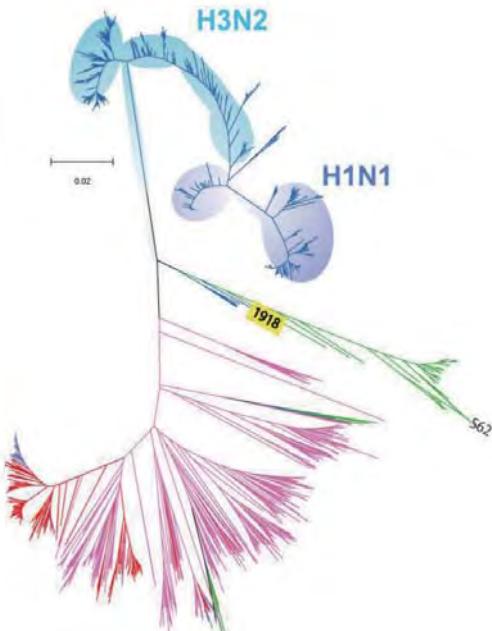


図 2 インフルエンザウイルスゲノムの網羅的な情報解析



## (2) 次世代シークエ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クエンサーでは、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クエンサーがoutput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）。

## (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計算機システム（図4）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。

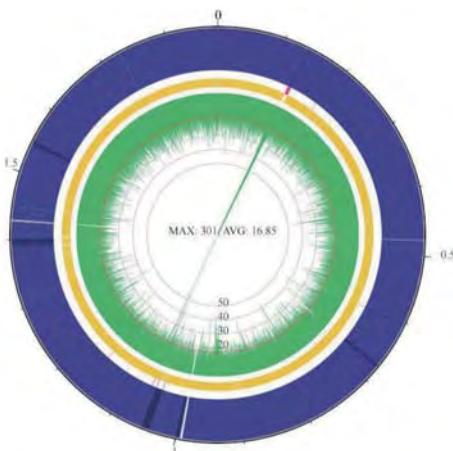


図3 次世代シークエンサーによるゲノム解析。  
1回のシークエンシングでゲノムのほぼ全領域を  
解読することが可能



図4 遺伝情報実験センター計算機システムの解析サーバー（左）と  
大容量ストレージ（右）

## 最近の代表的な論文

- de Silva UC, Tanaka H, Nakamura S, Goto N, Yasunaga T. A comprehensive analysis of reassortment in influenza A virus. *Biol Open*. 2012 Feb 23;1(4):385-90.
- 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.
- 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.
- 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.
- Goto N, Kurokawa K, Yasunaga T. Analysis of invariant sequences in 266 complete genomes. *Gene*. 2007 Oct 15;401(1-2):172-80.

## 感染症メタゲノム研究分野

### 研究グループ

教授（兼）	理学博士	堀井 俊宏	助教（兼）	博士（理学）	後藤 直久
教授（兼）	理学博士	安永 照雄	助教（兼）	博士（薬学）	中村 昇太
特任教授（兼）	医学博士	飯田 哲也			

### 研究内容

#### 1. RAPID (Robotics Assisted Pathogen IDentification)

文部科学省の「感染症研究国際ネットワーク推進プログラム」内において、原因不明感染症例の緊急診断「RAPID」の体制を理研オミックス基盤研究領域と共同で構築している。アジア・アフリカの8カ国に作られた感染症研究拠点と連携し、緊急を要するアウトブレークケースからの病原体検出を試みている。

#### 2. 各種感染症のメタゲノミック診断

様々な感染症をメタゲノミック解析で診断できるかどうか、方法論や解析法を研究している。また人獣共通感染症の先行研究として動物由来試料から病原体を探索している。

#### 3. 感染症発症時の腸内細菌叢解析

腸内細菌叢が様々な疾患において重要な役割を果たしていることが明らかになりつつあるが、我々は下痢症発症時の腸内細菌叢を研究している。どのように腸内細菌叢が乱れ、どのように回復するのか、ヒトと腸内細菌、病原体の3者間の関係を解析している。

#### 4. 新規病原体検出法の開発

さらなる高効率かつ網羅的な新規病原体検出法の開発を目指し、病原体ゲノムを增幅する方法やホストゲノムの除去法などを開発している。

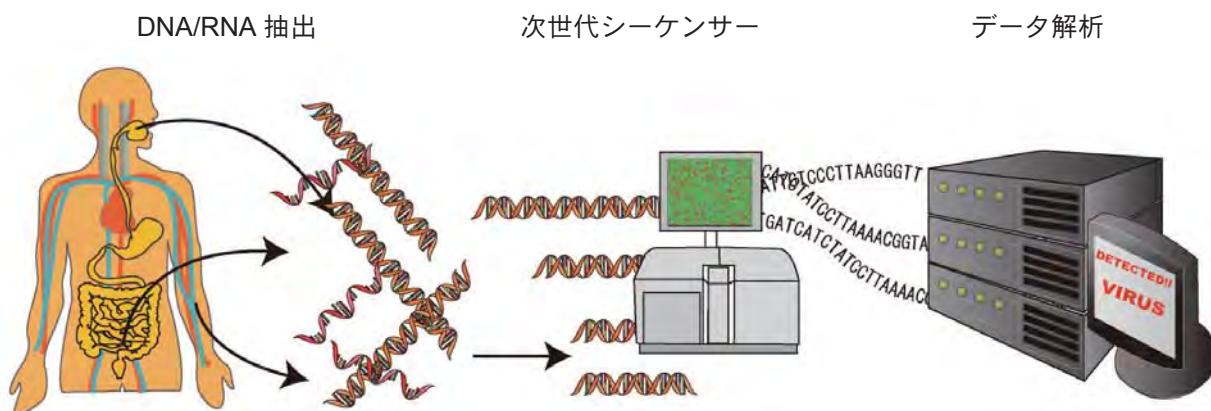


図1：次世代シーケンサーによる感染症のメタゲノミック診断



図2：当分野に導入された次世代シーケンサー：  
Roche 454 GS Junior Bench Top System, illumina MiSeq Personal Sequencer, Pacific Biosciences RS System

鼻汁検体からのインフルエンザウイルスの検出



便検体からのノロウイルスの検出



血液検体からの肝炎ウイルスの検出



図3：ウイルス感染例で検出された生物種の分布

- 真核生物
- 細菌
- RNAウイルス
- △ その他

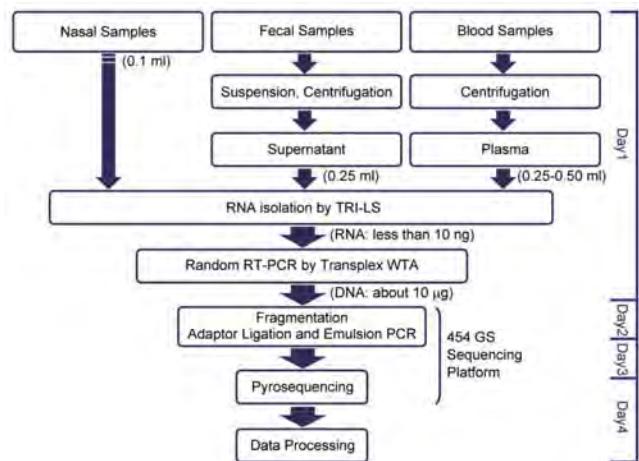


図4：RAPID の標準プロトコール

## 最近の代表的な論文

- Yasugi M, Nakamura S, Daidoji T, Kawashita N, Ramadhany R, Yang CS, Yasunaga T, Iida T, Horii T, Ikuta K, Takahashi K, Nakaya T. Frequency of D222G and Q223R Hemagglutinin Mutants of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus in Japan between 2009 and 2010. *PLoS One*. 2012;7(2):e30946.
- Monira S, Nakamura S, Gotoh K, Izutsu K, Watanabe H, Alam NH, Endtz HP, Cravioto A, Ali SI, Nakaya T, Horii T, Iida T, Alam M. Gut microbiota of healthy and malnourished children in bangladesh. *Front Microbiol*. 2011;2:228.
- Nakamura S, Nakaya T, Iida T. Metagenomic analysis of bacterial infections by means of high-throughput DNA sequencing. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2011;236(8):968-71.
- 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.
- 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

招へい教授 医学博士 大石 和徳  
 特任講師 医学博士 明田 幸宏  
 特任研究員 生物工学博士 中山 達哉

特任研究員 医学博士 Zhenyu Piao  
 特任研究員 医学博士 竹内 壇

### 研究・活動内容

当研究グループでは、1) 侵襲性肺炎球菌感染症、肺炎球菌肺炎の診断・病態解析と予防、2) ブタ連鎖球菌感染症の疫学・病態研究、3) デングウイルス感染症における血小板減少機序、4) 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) 侵襲性肺炎球菌感染症、肺炎球菌肺炎の診断、病態解析と予防

##### 1. 小児、成人における侵襲性肺炎球菌感染症、肺炎球菌性肺炎

我々はこれまでにインフルエンザワクチン定期接種下の高齢者における 23 価肺炎球菌ワクチンの肺炎予防効果、肺炎医療費削減効果を明らかにした (Vaccine 2010)。また、国内で発生した小児侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 患者の感染血清型に対する血清中の血清型特異 IgG 抗体濃度とオプソニン活性 (OPA) の測定を前向き研究として実施している。特に、国内の 7 価コンジュゲートワクチン接種前、接種後的小児 IPD 症例の病態解析を支援している。また、成人における IPD、肺炎球菌性肺炎における臨床検体からの PCR 法による血清型決定、肺炎球菌特異抗体の感染防御閾値決定に関する多施設前向き研究を実施している。

##### 2. Pneumococcal surface protein A (PspA) ワクチンの開発

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、我々はこれまでに PspA 経鼻粘膜ワクチン接種が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ける有効性を明らかにした (Vaccine 2011)。現在、我々はより広域な PspA ワクチンの開発を目指している。

#### 2) 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*) は人獣共通感染菌であり、髄膜炎などの侵襲性感染症を惹起する。我々はこれまでに 2006-8 年のタイ国内の侵襲性感染症 179 症例の後ろ向き疫学調査から、ヒト症例は北タイに多く発生し、原因菌では大半が血清型 2 (92.2%)、血清型 14(6.7%) であることが判明した。肝硬変患者にこれまで報告のなかつた血清型 5, 24 による症例も検出された (Lancet, 2011)。血清型 2 による 158 例の病型解析では 58.9% が髄膜炎で、残りが敗血症などであった。主要な ST 1 株と ST104 株いずれも敗血症、髄膜炎を起こすが、ST1 株のみが頻繁に髄膜炎を起こすことがわかった (Emerg Infect Dis, 2011) (図 1)。また、北タイ、パヤオ県における 2010 年の本症の前向き疫学調査において 31 症例が検出され、その致死率は 16.1% であった。パヤオ県の一般住民あたりの罹患率は、6.2/100,000/ 年と算出された。22 例 (71%) に生豚料理の摂食歴があり、摂食後 2 日で侵襲性感染症を発症していた (PLoS ONE, 2012)。現在、我々はタイ保健省と協力し、生豚料理節食に対する注意喚起をすることで北タイからの本症の排除を目指している。

#### 3) 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り、その血小板減少の機序は未だ不明である。フィリピンにおける臨床研究から、我々はこれまでに 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亢進が血小板減少と有意に相関することを明らかにした (Am J Trop Med Hyg, 2009)。今回、我々は末梢血アポトーシス血小板が生体内ではフォスファチジルセリン認識機構を介してマクロファージにより貪食クリアランスされることを明らかにした (J Infect Dis, 2012)。急性期の thrombopoietin (TPO) による血小板産生がこのアポトーシス血小板の貪食クリアランスを凌駕し、血小板数は正常化すると考えられた。

#### 4) 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、病原細菌の產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おり、現在、それらタンパク質分泌に必須の新規シャペロンの同定を行い(FEMS Microbiol Lett, 2011)、また分泌装置に付随するATPaseのタンパク質分泌への関与を検討している。

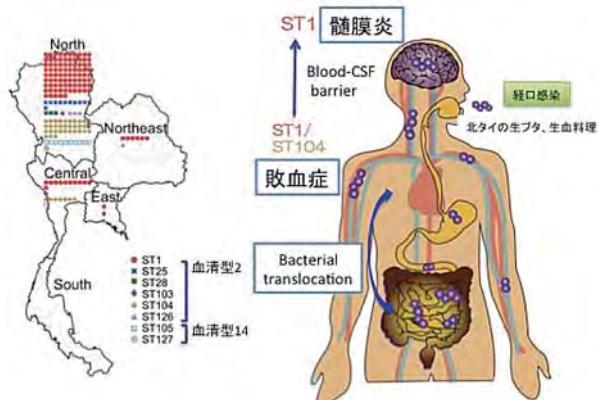


図1：タイにおけるブタ連鎖球菌感染症の分布と病態  
(Emerg Infect Dis 2011)

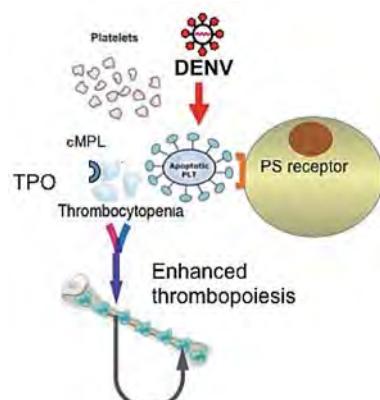


図2：デングにおける血小板減少とアポトーシス血小板クリアランス (J Infect Dis, 2012)

#### 最近の代表的な論文

- Alonzo MTG, Lacuesta TLV, Dimaano EM, Kurosu T, Suarez LC, Mapua CA, Akeda Y, Matias RR, Kuter DJ, Nagata S, Natividad FF, Oishi K. Platelet apoptosis and apoptotic platelet clearance by macrophages in secondary dengue virus Infections. *J Infect Dis* 2012 Apr;205(8):1321-9.
- Takeuchi D, Kerdsin A, Pienprasingam A, Loetthong P, Samerchea S, Pakkinee Loetthong P, Khamisra K, Wongwan N, Areeratana P, Chiranairadul P, Lertchayanti S, Petcharat S, Yowang A, Chaiwongsen P, Nakayama T, Yukihiro Akeda Y, Hamada S, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S, Oishi K. Population-based Study of *Streptococcus suis* Infection in Humans in Phayao Province in Northern Thailand. *PLoS ONE*. 2012; 7(2):e31265.
- Kerdsin A, Dejsirilert S, Sawanpanyalert P, Boonnark A, Noithachang W, Sriyakun D, Simkum S, Chokngam S, Gottschalk M, Akeda Y, Oishi K. Sepsis and spontaneous bacterial peritonitis in Thailand. *Lancet* 2011 Sep 3; 378 (9794):960.
- Kerdsin A, Dejsirilert S, Puangpatra P, Sripakdee S, Chumla K, Boonkerd N, Polwichai P, Tanimura S, Takeuchi D, Nakayama T, Nakamura S, Akeda Y, Gottschalk M, Sawanpanyalert P, Oishi K. Genotypic profile of *Streptococcus suis* serotype 2 and clinical features of infection in humans, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2011 May 17(5):835-42.
- Akeda, Y, Kodama T, Saito K, Iida T, Oishi, K, Honda T. Identification of the *Vibrio parahaemolyticus* Type III secretion system 2-associated chaperone VocC for the T3SS2-specific effector VopC. *FEMS Microbiol Lett* 2011 Nov; 324(2):156-64.

## 感染細胞生物学研究グループ

### 研究グループ

特任教授 医学博士

藤永 由佳子

特任研究員 理学博士 油谷 雅広

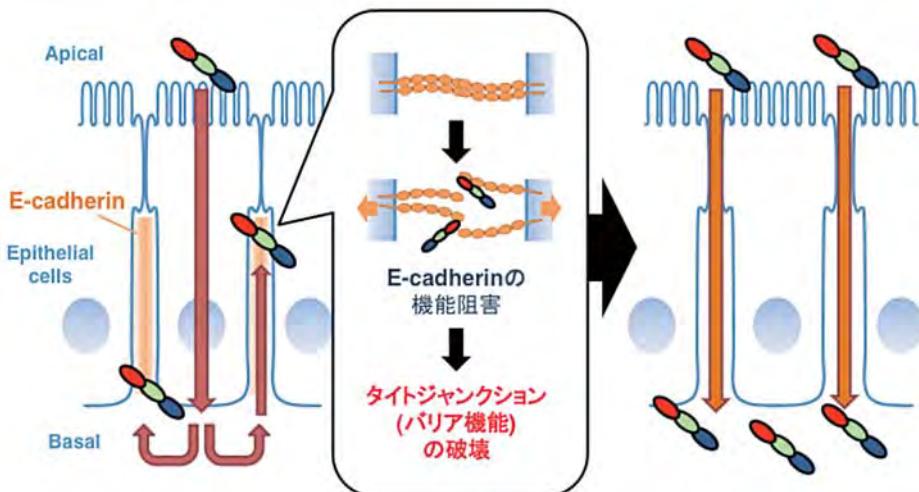
特任助教 バイオサイエンス博士

菅原 康

特任助教 医学博士

松村 拓大

研究内容：当研究グループで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ターゲティング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しくみ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。



ボツリヌス神経毒素複合体（B型）の腸管吸収機構のモデル図

管腔側のボツリヌス神経毒素複合体（B型 16S 毒素）は、①transcytosis により基底膜側へ移行する。②基底膜側から複合体中の HA は E-cadherin と結合し、細胞間バリアを破壊する。③本作用によりさらに多くの毒素複合体が細胞間隙から体内に侵入すると考えられる。

### 最近の代表的な論文

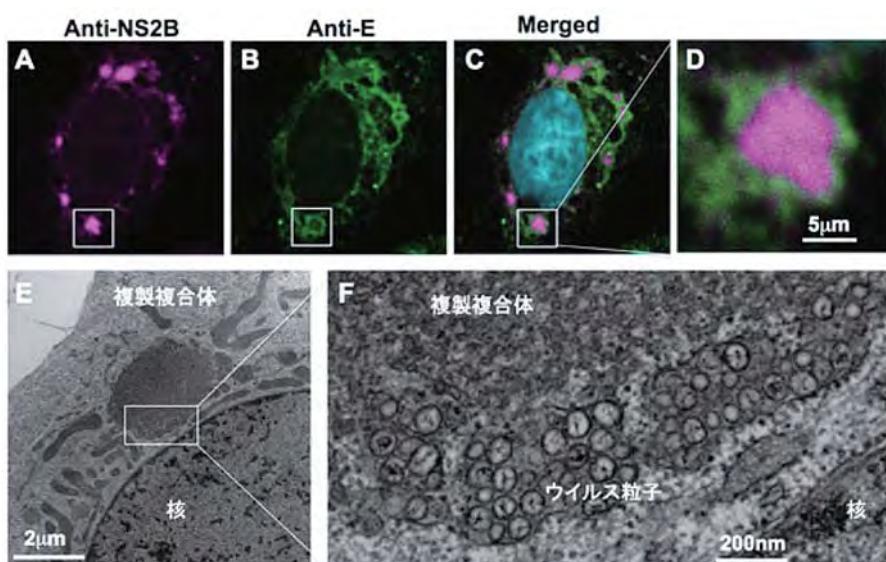
1. Sugawara Y, Fujinaga Y. The botulinum toxin complex meets E-cadherin on the way to its destination. *Cell Adh Migr.* 2011; 5(1): 34-36. [総説]
2. Sugawara Y, Matsumura T, Takegahara Y, Jin Y, Tsukasaki Y, Takeichi M, Fujinaga Y. Botulinum HA disrupts the intercellular epithelial barrier by directly binding E-cadherin. *J Cell Biol.* 2010; 189 (4), 691-700
3. Jin Y<sup>1</sup>, Takegahara Y<sup>1</sup>, 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; 155(Pt 1): 35-45. 1 These authors are contributed equally.
4. 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; 10(2): 355-364.
5. Matsumura T<sup>1</sup>, Fujinaga Y<sup>1</sup>, 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; 352(4), 867-872.

## ウイルス研究グループ

研究グループ

特任准教授 医学博士 森田 英嗣

プラス鎖 RNA ウィルスの多くは、感染後期過程に宿主細胞内膜系を大規模に再構築し、複製複合体と呼ばれる新規オルガネラをつくる。その構造体は小胞体 (ER) 近傍に形成され、そこでウィルスゲノムの複製と粒子形成が行われている。この複製複合体形成は、様々な細胞内ストレス応答からの回避を可能にし、長期間にわたり自身の遺伝子を複製させるために必須な構造物であると考えられている。当研究グループは、ウィルスが細胞質に新規オルガネラを形成し細胞内に「巣食う」分子機構を明らかにすることを目的として研究を展開している。最近、我々は C 型肝炎ウィルス及びフラビウィルス感染細胞内のウィルス複製複合体を精製し定量プロテオミクス解析を行い、感染によって特異的にリクルートされてくる宿主因子群を多数同定した。我々は、これら宿主因子群が、どのようにウィルス複製複合体形成の開始と維持に寄与しているか明らかにし、新たな宿主-病原体の相互依存関係を検索することによって、ウィルスと宿主細胞が共生することを可能にさせる分子機構の解明を目指している。また、複製複合体そのものの形成機構のみならず、ウィルス粒子形成における膜動態機構、ウィルス感染によって誘導される宿主オートファジー機構の生理学的な意義についても解析を行い、難治性又は新興・再興ウィルス性疾患の制御法開発に繋がる分子基盤の確立を目指している。



図：ウイルス複製複合体 フラビウイルス感染 Vero 細胞の蛍光顕微鏡像 (A-D) と電子顕微鏡像 (E,F)。ウイルス感染 24 時間後に細胞を固定し非構造蛋白質抗体 (anti-NS2B、マゼンタ)、構造蛋白質抗体 (anti-E、グリーン) 抗体およびDAPI(シアン)で染色した。感染細胞では核のそばに直径 5-10nm の生体膜で囲まれたウイルス抗原陽性の構造体が検出される。複製複合体の周縁部には小胞体様構造があり、内部にウイルス様粒子の蓄積が観察された。

### 最近の代表的な論文

1. Morita, E., Sandrin, V., McCullough, J., Katsuyama, A., Hamilton, I.B., Sundquist, W.I. ESCRT-III protein requirements for HIV-1 budding. *Cell Host Microbe*. 2011, 3:235-42.
2. Matsunaga, K., Morita, E., Saitoh, T., Akira, S., Ktistakis, N.T., Izumi, T., Noda, T., Yoshimori, T. Autophagy requires endoplasmic reticulum targeting of the PI3-kinase complex via Atg14L. *J Cell Biol*. 2010 190(4):511-21.
3. Morita, E., Colf, L.A., Karren, M.A., Sandrin, V., Rodesch, C.K., Sundquist, W.I. Human 5. ESCRT-III and VPS4 proteins are required for centrosome and spindle maintenance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 107(29):12889-94.
4. Bajorek, M., Morita, E., Skalicky, J.J., Morham, S.G., Babst, M., Sundquist, W.I. Biochemical analyses of human IST1 and its function in cytokinesis. *Mol Biol Cell* 2009 20(5):1360-73.
5. Kieffer, C., Skalicky JJ., Morita, E., De Domenico, I., Ward, D.M., Kaplan, J., Sundquist, W.I. A New Functionally Important ESCRT-III Recognition Mode for the VPS4 ATPases. *Dev. Cell* 2008, 15(1):62-73.

## 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 薬学博士 松田 重輝  
 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的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。

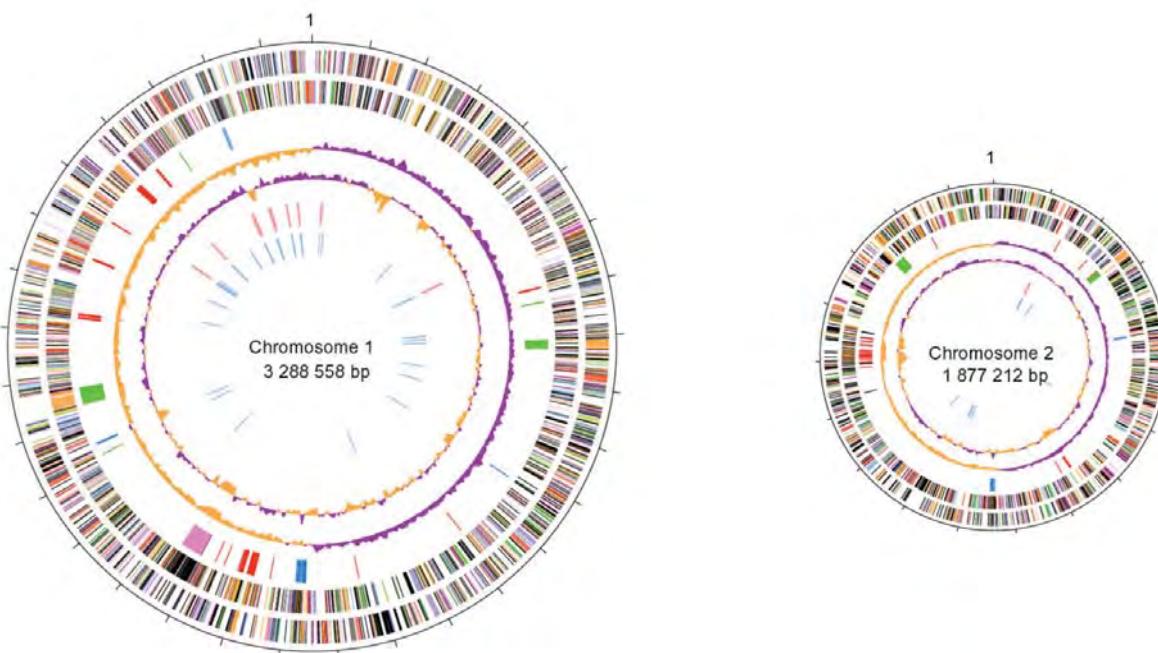


図1. 病原細菌のゲノム解析。腸炎ビブリオの全ゲノム配列を決定した。腸炎ビブリオをはじめとするビブリオ属細菌のゲノムは2個の環状染色体よりなることを明らかにした。

### 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。

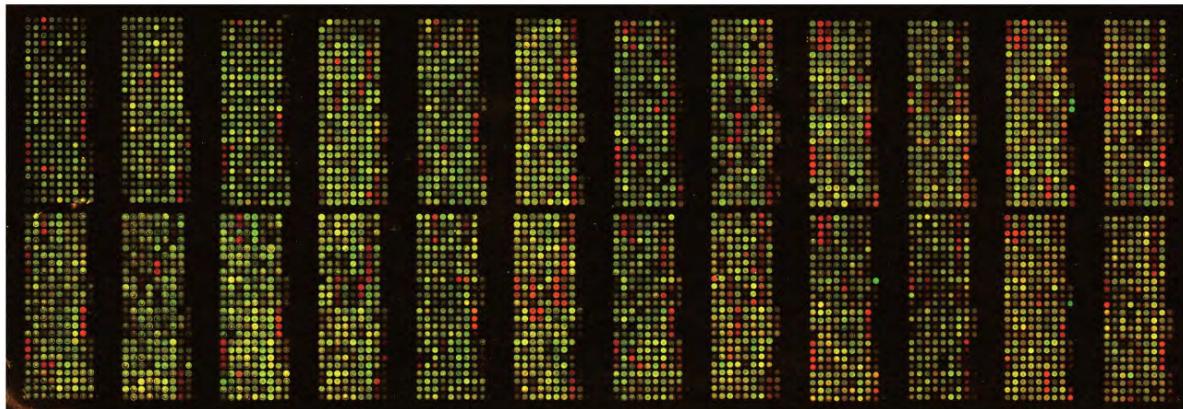


図2. DNAマイクロアレイによる病原細菌の遺伝子レパートリの解析。

### 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. Hiyoshi H, Kodama T, Saito K, Gotoh K, Matsuda S, Akeda Y, Honda T, Iida T. VopV, an F-actin-binding type III secretion effector, is required for *Vibrio parahaemolyticus*-induced enterotoxicity. *Cell Host Microbe*. 2011 Oct 20;10(4):401-9.
2. Gotoh K, Kodama T, Hiyoshi H, Izutsu K, Park KS, Dryselius R, Akeda Y, Honda T, Iida T. Bile acid-induced virulence gene expression of *Vibrio parahaemolyticus* reveals a novel therapeutic potential for bile acid sequestrants. *PLoS One*. 2010 Oct 13;5(10):e13365.
3. Matsuda S, Kodama T, Okada N, Okayama K, Honda T, Iida T. Association of *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin with lipid rafts is essential for cytotoxicity but not hemolytic activity. *Infect Immun*. 2010 Feb;78(2):603-10.
4. 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.
5. 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.

## 感染症学・免疫学融合研究グループ

### 研究グループ

准教授 理学博士 永井 宏樹  
特任講師(常勤) 博士(理学) 久堀 智子

JSPS 外国人特別研究員  
Andree Marie Hubber, Ph.D  
特任研究員 大倉亜貴子

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 (T4SS) 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中には、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、これまでに例を見ないタイプのエフェクタータンパク質、メタエフェクターであることをつきとめています。

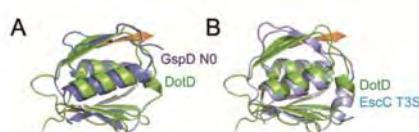


図 1 DotD は多様な細菌分泌系に保存される構造モチーフを持つ、T4SS 外膜コアタンパク質である

### Effector regulating effector.



図 2 エフェクターを制御するメタエフェクター LubX

### 最近の代表的な論文

- Tomoko Kubori and Hiroki Nagai. Bacterial effector-involved temporal and spatial regulation by hijack of the host ubiquitin pathway. *Front. Microbiol.*, 2011;2,145.
- Hiroki Nagai and Tomoko Kubori. Dot/Icm type IVB secretion systems of Legionella and other gram-negative bacteria. *Front. Microbiol.*, 2011; 2,136.
- Kubori T, Shinzawa N, Kanuka H, Nagai H. *Legionella* metoeffector exploits host proteasome to temporally regulate cognate effector. *PLoS Pathog.* 2010;6(12),e1001216.
- Nakano N, Kubori T, Kinoshita M, Imada K, Nagai H. Crystal structure of *Legionella* DotD: insights into the relationship between type IVB and type II/III secretion systems. *PLoS Pathog.* 2010;6(10),e1001129.
- 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.

## 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 準教授 医学博士 村上 良子  
 教育推進グループ 準教授 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1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. フランスパストール研究所・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大学院教育の枠組み作りを行う。

### 研究グループ

研究グループ 準教授 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. Murakami Y, Kanzawa N, Saito K, Krawitz PM, Mundlos S, Robinson PN, Karadimitris A, Maeda Y, Kinoshita T. Mechanism for release of alkaline phosphatase caused by glycosylphosphatidylinositol deficiency in patients with hyperphosphatasia mental retardation syndrome. *J Biol Chem.* 2012 Feb 24;287(9):6318-25.
2. Murakami Y, Inoue N, Shichishima T, Ohta R, Noji H, Maeda Y, Nishimura J, Kanakura Y, Kinoshita T. Dereregulated expression of HMGA2 is implicated in clonal expansion of PIGA deficient cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 2012 Feb;156(3):383-7.
3. Murakami H, Wang Y, Hasuwa H, Maeda Y, Kinoshita T, Murakami Y. Enhanced response of T lymphocytes from Pgap3 knockout mouse: Insight into roles of fatty acid remodeling of GPI anchored proteins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Jan 27;417(4):1235-41.
4. Krawitz PM, Schweiger MR, Rödelsperger C, Marcelis C, Kölsch U, Meisel C, Stephani F, Kinoshita T, Murakami Y, Bauer S, Isau M, Fischer A, Dahl A, Kerick M, Hecht J, Köhler S, Jäger M, Grünhagen J, de Condor BJ, Doelken S, Brunner HG, Meinecke P, Passarge E, Thompson MD, Cole DE, Horn D, Roscioli T, Mundlos S, Robinson PN. Identity-by-descent filtering of exome sequence data identifies PIGV mutations in hyperphosphatasia mental retardation syndrome. *Nat Genet.* 2010 Oct;42(10):827-9.
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 (\* equally contributed).

## 感染症学免疫学融合プログラム推進室 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

### 遺伝子座特異的生化学的エピジェネティクス解析法の開発とその応用

エピジェネティック制御の分子機構の解析は、従来、主に遺伝学的解析や試験管内での生化学的解析によって進められてきた。しかし、こうした手法では、分子機構の解明が困難であったり、あるいは、十年単位の長い時間が必要であった。こうした状況を変えるため、特定ゲノム領域クロマチン構造の non-bias 解析を目指し、新規方法論として insertional chromatin immunoprecipitation (iChIP) 法を開発した。

iChIP 法は、(i) 細菌の DNA 結合蛋白である LexA の結合配列を、解析対象ゲノム領域近傍に挿入した細胞を樹立、(ii) タグを付けた LexA DNA 結合ドメイン (LexA DB) の上記細胞への発現、(iii) フォルムアルデヒドでクロスリンク後、超音波処理または制限酵素処理によりゲノム DNA を断片化、(iv) 上記タグを認識する抗体による免疫沈降により、LexA DB が結合した DNA- 蛋白複合体を単離、(v) クロスリンクをはずし、複合体中の蛋白・DNA・RNA を同定、という手順による (図)。iChIP 法は、(I) 解析対象ゲノム領域に結合する分子が、DNA、RNA、蛋白質等、分子種に関わらず同定できる、(II) 低コピー数のゲノム領域に結合する分子の同定が可能である、といった既存の方法には無い優れた特質を持っている。実際、これまでに、iChIP 法と質量分析法を組み合わせて、ゲノム中の隣接領域の「しきり」の役割を持つインスレーター配列に結合する蛋白質及び RNA の同定に成功している。この成果は、生体内に近い条件で、低コピー数の特定ゲノム領域の結合する蛋白質を同定した画期的な成果である。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である。

現在、iChIP 法を用いて、

- (a) リンパ球分化誘導・維持
- (b) 嗅覚受容体の発現制御
- (c) インスレーター機能
- (d) DNA 二重鎖切断の認識及びその修復
- (e) エピジェネティック機序による癌抑制遺伝子の発現抑制

といった興味深くかつ重要な生命現象の分子機構の解明を目指して研究を進めている。

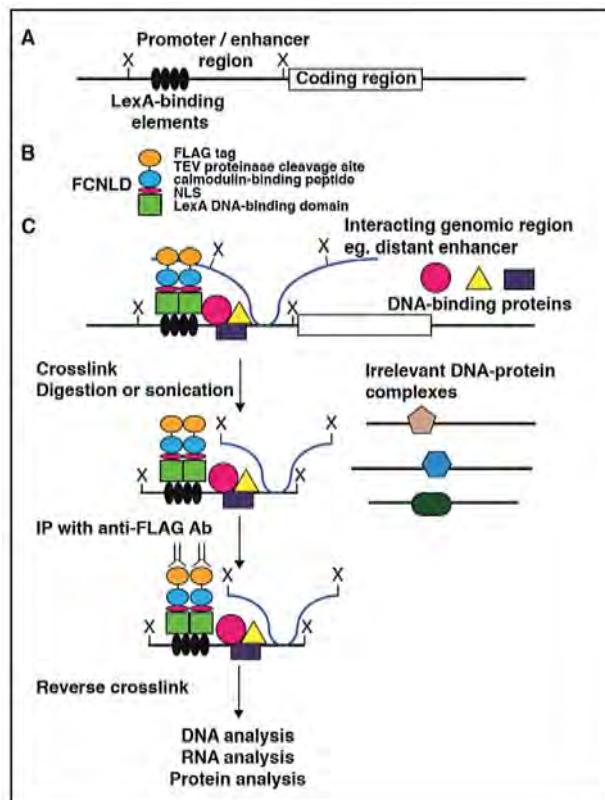


図. 挿入的クロマチン免疫沈降法  
(insertional chromatin immunoprecipitation: iChIP)

### 最近の代表的な論文

1. Fujita T, Fujii H. Direct identification of insulator components by insertional chromatin immunoprecipitation. *PLoS One*. 2011;6(10):e26109.
2. Hoshino A, Fujii H. Insertional chromatin immunoprecipitation: a method for isolating specific genomic regions. *J Biosci Bioeng*. 2009 Nov;108(5):446-9.
3. 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.
4. Singh AP, Buscaglia CA, Wang Q, Levay A, Nussenzweig DR, Walker J, Winzeler EA, Fujii H, Fonoura 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.

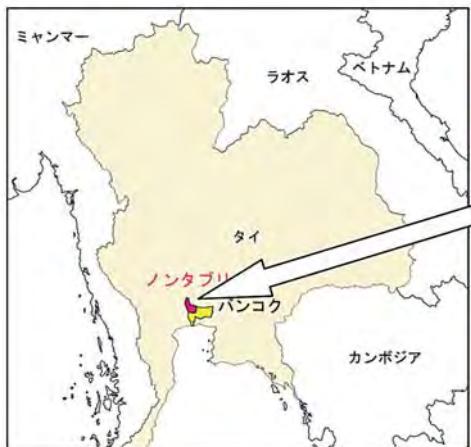
文部科学省－感染症研究国際ネットワーク推進プログラム  
大阪大学感染症国際研究拠点

## 日本・タイ感染症共同研究センター

センター長

特任教授 武田 直和

感染症は、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克服できたと考えられた時期があった。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きた。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。さらに多くの感染症は国境を容易に越え、急速に拡大する事も珍しくなく、一国単独ではその侵入の予防や制御は困難であることも明らかである。



RCC-ERI から保健省キャンパスを望む。右側に NIH の建物が見える。

この様な背景の下、平成 17 年（2005 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・タイ新興・再興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。本プログラムは平成 22 年（2010 年）から感染症研究国際ネットワーク推進プログラム（Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases「J-GRID」）へと発展的に引き継がれ第 2 フェーズが進行中である。

バンコク近郊ノンタブリにある保健省・医科学局・タイ国立予防衛生研究所（NIH）内の RCC-ERI には、約 600m<sup>2</sup> 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、各種実験機器が設置されている。RCC-ERI では 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併に、わが国およびタイの若手感染症研究者の育成に取り組んでいる。RCC-ERI は細菌感染症、ウイルス感染症の 2 部門体制によりなり、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している。

さらに研究の輪を近隣の J-GRID 拠点や国内各大学や研究機関の感染症／微生物学研究者にも広げるべく、研究者コンソーシアムの形成を図り、多くの大学の研究者の賛同を得ている。RCC-ERI はグローバルに伝播する感染症の制御に向けた共同前線基地として利用していただくことが可能となっている。



BSL-2 実験室



BSL-3 実験室

細菌感染部門

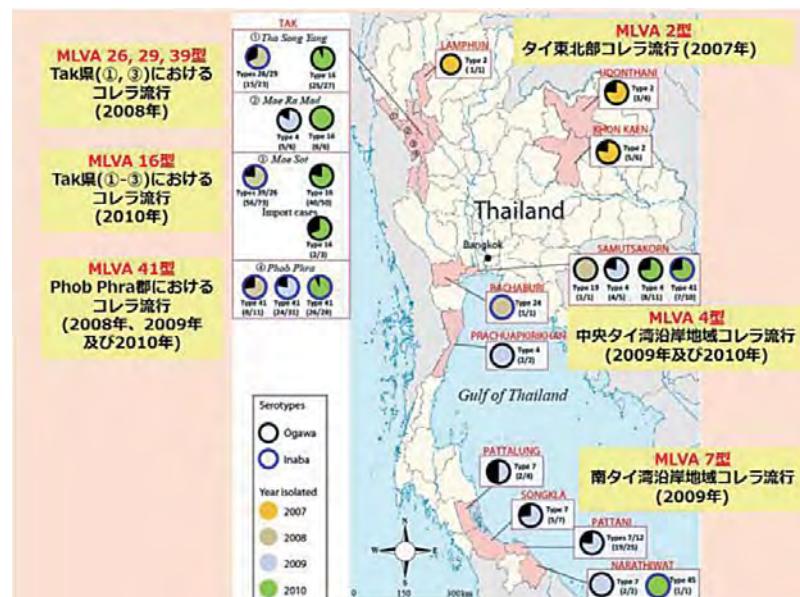
研究グループ

特任教授 歯学博士 浜田 茂幸 派遣研究員 理学修士 Chetsada Boonthimat  
特任講師 博士(薬学) 熊谷 由美 派遣研究員 理学修士 Wirongrong Natakuathung  
特任助教 医学博士 岡田 和久

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。

2010～2014年度にかけて実施中の「感染症研究国際ネットワーク推進プログラム」においては、主たる研究対象をコレラ及びコレラ菌にしぼって研究を行っている。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、今後ともそれらの重要性は増す事はあっても減る事はない、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新興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指している。



## 主な研究課題

- コレラ菌 O1 の地理的拡散と経時的变化 (2)

  - 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, Roobthaisong A, Nakagawa I, Hamada S, Chantaroj S. Genotypic and PFGE/MLVA analyses of *Vibrio cholerae* O1: geographical spread and temporal changes of isolates during the 2007-2010 cholera outbreaks in Thailand. *PLoS One*. 2012;7(1):e30863.
  2. Takeuchi D, Kerdsin A, Pienprangam A, Loetthong P, Samerchea S, Luangsuk P, Khamisara K, Wongwan N, Areeratana P, Chiranairadul P, Lertchayanti S, Petcharat S, Yowang A, Chaiwongsae P, Nakayama T, Akeda Y, Hamada S, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S, Oishi K. Population-Based Study of *Streptococcus suis* Infection in Humans in Phayao Province in Northern Thailand. *PLoS One*. 2012;7(2):e31265.
  3. 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;82(5):875-878.
  4. 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;138(4):519-524.
  5. 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;66(2):135-139.

## ウイルス感染部門

### 研究グループ

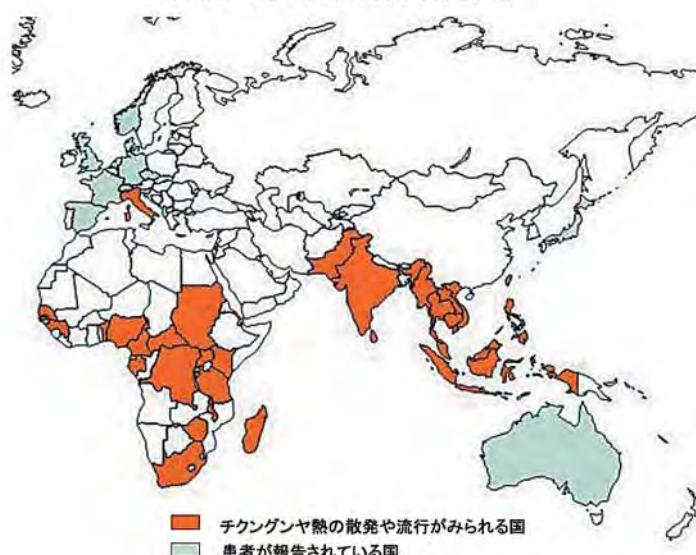
特任教授	医学博士 武田 直和
特任研究員	理学博士 岸下 奈津子
派遣研究員	医学博士 Uamporn Siripanyaphinyo
派遣研究員	医学博士 Sompong Sapsutthipas
派遣研究員	理学博士 Nitchakarn Noranate
派遣研究員	理学修士 Piraporn Utachee
派遣研究員	理学修士 Chris Verathamjamras
派遣研究員	理学修士 Uranan Tumkosit

ウイルス感染部門では、タイおよびわが国を含むアジア諸国で感染が繰り返されている血液媒介性感染症と蚊媒介性感染症を研究対象に NIH の研究者と共同研究を推進している。

蚊媒介性感染症ではタイを含む熱帯、亜熱帯地域に蔓延するチクングンヤを対象とし、原因ウイルスの疫学的、分子生物学的、および免疫学的基礎研究を推進する。

血液媒介性感染症では HIV 感染症 / エイズを対象とし、タイを始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、薬剤耐性獲得機構などについての基礎的研究を推進する。

チクングンヤウイルスの分布



### 最近の代表的な論文

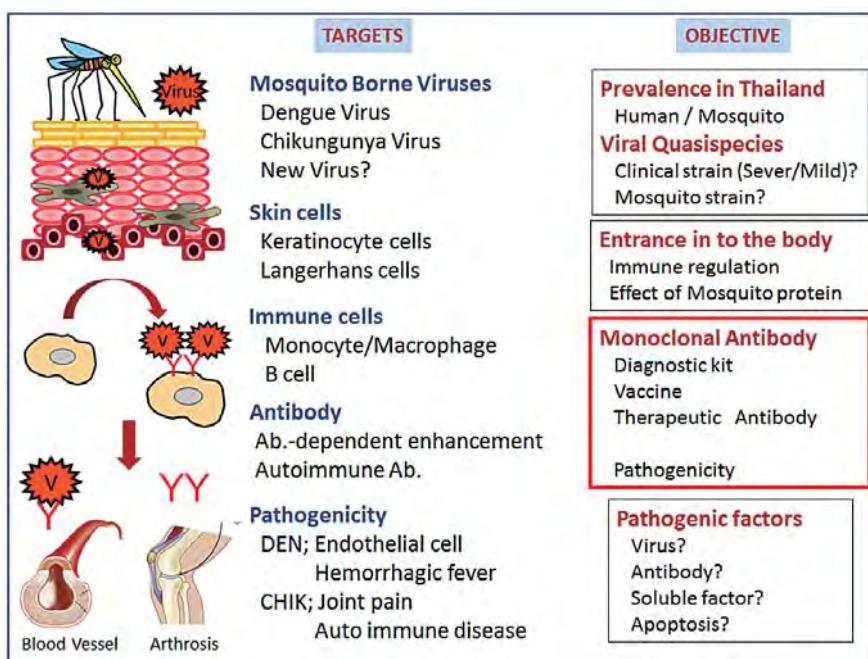
- Boonchawalit S, Jullaksorn D, Uttiyoung J, Yowang A, Krathong N, Chautrakul S, Yamashita A, Ikuta K, Roobsoong A, Kanivittaya S, Sawanpanyalert P, Kameoka M. Molecular evolution of HIV-1 CRF01\_AE Env in Thai patients. *PLoS One*. 2011 6: e27098.
- Utachee P, Nakamura S, Isarangkura-Na-Ayuthaya P, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Ikuta K, Auwanit W, Kameoka M. Two N-linked glycosylation sites in the 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 the CD4 binding domain. *J Virol*. 2010 84: 4311-20.
- Soonthornsata B, Tian YS, Utachee P, Sapsutthipas S, Isarangkura-na-Ayuthaya P, Auwanit W, Takagi T, Ikuta K, Sawanpanyalert P, Kawashita N, Kameoka M. Design and evaluation of antiretroviral peptides corresponding to the C-terminal heptad repeat region (C-HR) of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein gp41. *Virology* 2010 405: 157-64.
- Li YG, Chittaganpitch M, Waicharoen S, Kanai Y, Bai GR, Kameoka M, Takeda N, Ikuta K, Sawanpanyalert P. Characterization of H5N1 influenza viruses isolated from humans in vitro. *Virol J*. 2010 7: 112.
- Kanai Y, Boonsathorn N, Chittaganpitch M, Bai G, Li Y, Kase T, Takahashi K, Okuno Y, Jampangern W, Ikuta K, Sawanpanyalert P. The impact of antigenic drift of influenza A virus on human herd immunity: Sero-epidemiological study of H1N1 in healthy Thai population in 2009. *Vaccine* 2010 28: 5437-44.

## 大阪・マヒドン感染症センター (MOCID)

### 研究グループ

教授（兼）	獣医学博士	松浦 善治
特任准教授	獣医学博士	岡林 環樹
特任研究員	医学博士	笹山 美紀子
派遣研究員	医学博士	Promsin Masrinoul
派遣研究員	理学修士	Orapim Puiprom
派遣研究員	理学修士	Panjaporn Chaichana

熱帯地域における蚊媒介性疾患は、近年の地球温暖化に伴い、その流行地域を拡大している。タイ王国で問題となっている、デング熱 / デング出血熱やチクングンヤ熱などの蚊媒介性のウイルス性疾患に関して、迅速診断キットの開発、ヒトならびに蚊におけるウイルス分布調査、そして発症メカニズムの解明に向けた研究を行う。特に臨床検体を用いた解析をマヒドン大学熱帯医学部と共同で推進する。これらの共同研究を通して、マヒドン大学熱帯医学部および我が国の感染症研究者の育成にも力を注ぐ。



### 主な研究課題

- 1) タイにおける蚊およびヒトにおける蚊媒介性ウイルスの侵淫状況の調査。
- 2) デングウイルスとチクングンヤウイルスに対するヒトおよびマウスモノクローナル抗体の作製と、その性状解析。
- 3) 作製したモノクローナル抗体を用いた診断キット開発。

### 最近の代表的な論文

1. Co-existence of major and minor viral populations from two different origins in patients secondarily infected with dengue virus serotype 2 in Bangkok. Puiprom O, Yamashita A, Sasayama M, Limkittikul K, Boonha K, Jittmitraphap A, Leaungwutiwong P, Kurosu T, Ramasoota P, Ikuta K. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011, 413: 136-142.
2. Fab MAbs specific to HA of influenza virus with H5N1 neutralizing activity selected from immunized chicken phage library. Pitaksajjakul P, Lekcharoensuk P, Uparagarin N, Barbas C, Ibrahim MS, Ikuta K, and Ramasoota P. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010, 395: 496-501.

## デングワクチン（阪大微生物病研究会）寄附研究部門

### 研究グループ

寄附研究部門教授	医学博士 小西 英二
寄附研究部門助教	保健学博士 山中 敦史
特任研究員	保健学博士 桑原 三和

一般財団法人阪大微生物病研究会から大阪大学微生物病研究所への寄附により、2011 年度からタイのマヒドン大学熱帯医学部内に、デングワクチン（阪大微生物病研究会）寄附研究部門が発足した。

デング熱は、熱帯地域に広く流行し、1 日に約 30 万人の新たな患者発生が推定される最重要の蚊媒介性ウイルス疾患である。重症型のデング出血熱は、適切な治療が行わなければ致命率が 20% に上昇する。しかし、認可ワクチンはなく特異的抗ウイルス剤も確立されていない。ワクチンは最も普遍的な予防手段であり、その開発は急務の課題である。

当研究部門では、デング熱・出血熱の発症機序を解明する研究、デングウイルスの毒性、伝播や進化に関する研究と共に、種々の戦略によるデングワクチン開発の基礎研究を行う。



ラボ風景

### 最近の代表的な論文

1. Eiji Konishi, Yuko Miyagawa: Balance of infection-enhancing and neutralizing antibodies induced by a dengue tetravalent DNA vaccine in a mouse model. *Microbes and Infection*. 13(12-13):1091-8, 2011
2. Eiji Konishi, Mayu Konishi: Nonstructural Protein 1 Antibody-Based Epitope-Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Differentiate Japanese Encephalitis Virus from Dengue Virus Infections in Humans. *Jpn J Infect Dis*. 64(4):284-91, 2011
3. Atsushi Yamanaka, Kris C. Mulyatno, Helen Susilowati, Eryk Hendrianto, Amor P. Ginting, Dian D. Sary, Fedik A. Rantam, Soegeng Soejianto, Eiji Konishi: Displacement of the Predominant Dengue Virus from Type 2 to Type 1 with a Subsequent Genotype Shift from IV to I in Surabaya, Indonesia 2008-2010. *PLoS One*. 2011;6(11):e27322. Epub 2011 Nov 7.
4. Kris C. Mulyatno, Atsushi Yamanaka, Ngadino, Eiji Konishi: Resistance of Aedes aegypti laeveae to temephos insecticide in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 43:29-33. (2012).
5. Kris C. Mulyatno, Helen Susilowati, Atsushi Yamanaka, Soegeng Soejianto, Eiji Konishi: First isolation and phylogeny of Chikungunya virus from Surabaya, Indonesia. *Jpn J Infect Dis*. 65, 92-94 (2012).

## 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单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開拓すること（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、それらを標的と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、優れた若手研究者的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。

#### 研究戦略: 今なぜオルガネラネットワークが医学に重要か？

ゲノム、プロテオーム、グライコームによる網羅的解析  
遺伝子ノックアウトマウスなどを駆使した表現型解析

分子ネットワークの理解  
(分子と分子の相互作用の2次元的理解)  
個体レベルでの理解

生命の基本単位「細胞」  
オルガネラ間連携の  
3次元・4次元的理解

#### オルガネラネットワークの理解

生命をシステムとして理解し、  
その破綻として起こる様々な病態の本質を解明し、  
疾患の予防・診断・治療に貢献する

「細胞をシステムとして理解する研究に真正面から取り組む国際拠点形成」

## 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		
<b>米田 悅啓</b> 細胞生物学・医学博士	生命機能研究科（生命機能専攻）（兼）医学系研究科（医学専攻）・教授	拠点形成の統括とオルガネラネットワーク解明
<b>戸田 達史</b> 遺伝医学・医学博士	医学系研究科（医学専攻）・招へい教授	筋ジストロフィーの糖鎖修飾および神経変性疾患
<b>辻本賀英</b> 遺伝医学・理学博士	医学系研究科（医学専攻）・教授	細胞死の機構とオルガネラ
<b>竹田 潔</b> 免疫学・医学博士	医学系研究科（医学専攻）・教授	自然免疫系の活性制御機構の解析
<b>朝野和典</b> 感染症学・医学博士	医学系研究科（医学専攻）・教授	抗菌活性標的の解析と新規抗菌薬の開発
<b>片山泰一</b> 神経細胞学・医学博士	連合小児発達学研究科（小児発達学専攻）・教授	神経機能異常とオルガネラ
<b>中村敏一</b> 生化学・理学博士	産学連携本部・特任教授	HGFによる神経変性疾患や腎疾患などの治療戦略
<b>竹原徹郎</b> 内科学・医学博士	医学系研究科（医学専攻）・教授	肝炎の発症機構と治療戦略
<b>三善英知</b> 臨床検査学・医学博士	医学系研究科（保健学専攻）・教授	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
<b>和田芳直</b> 分子病態学・医学博士	医学系研究科（医学専攻）・招へい教授	糖鎖解析法の開発と先天性糖鎖不全の解析
<b>藤本ゆかり</b> 有機化学・理学博士	理学研究科（化学専攻）・准教授	細菌由来複合糖質認識による細菌侵入検知機構
<b>谷口直之</b> 生化学・医学博士	理化学研究所（システム糖鎖生物学研究グループ）・グループディレクター	糖鎖・タンパク質の機能解析
<b>吉森保</b> 細胞生物学・医学博士	生命機能研究科（生命機能専攻）・教授	感染・免疫におけるメンブレンタフィックの役割の解析
<b>菊谷仁</b> 免疫学・医学博士	微生物病研究所（生体防御研究部門）・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	獲得免疫の動態に関する研究
<b>目加田英輔</b> 細胞生物学・医学博士	微生物病研究所（生体防御研究部門）・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	ジフテリア毒素の毒性発現に関わる細胞側因子の解析
<b>松浦善治</b> ウィルス学・獣医学博士	微生物病研究所（感染機構研究部門）・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	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
<b>塩田達雄</b> ウィルス学・医学博士	微生物病研究所（感染機構研究部門）・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	HIV感染症に関わる宿主因子の研究
<b>堀口安彦</b> 細菌学・農学博士	微生物病研究所（感染機構研究部門）・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	細菌性病原因子の機能と構造の解析
<b>生田和良</b> ウィルス学・医学博士	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：医学系研究科医学専攻）	新興ウイルスの感染とその病態機序に関する研究
<b>堀井俊宏</b> 寄生虫学・理学博士	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：医学系研究科医学専攻）	マラリアワクチンの開発と宿主-寄生虫相互作用の解析
<b>審良静男</b> 免疫学・医学博士	免疫学フロンティア研究センター・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	自然免疫の研究
<b>木下タロウ</b> 免疫学・医学博士	免疫学フロンティア研究センター・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	宿主病原体相互作用におけるGPIアンカーの意義の解析
<b>荒瀬尚</b> 免疫学・医学博士	免疫学フロンティア研究センター・教授（協力講座：医学系研究科医学専攻）	病原体による免疫制御機構の研究
<b>熊ノ郷淳</b> 免疫学・医学博士	医学系研究科（医学専攻）・教授	免疫調節・細胞動態制御分子の研究
<b>鈴木匡</b> 生化学・理学博士	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	遊離糖鎖および糖タンパク質の品質管理
<b>山口芳樹</b> 構造生物学・薬学博士	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	NMRによる複合糖質の構造解析

## 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

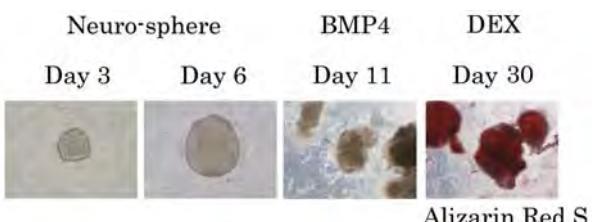
精巣生殖細胞特異的遺伝子の多くはレトロポゾンで、遺伝子内部に CpG-rich 領域を持つ。遺伝子内部のメチル化が体細胞での発現を抑え、生殖細胞での脱メチル化が発現に必要であることを明らかにした。現在、ヒストンメチル化修飾も含め、生殖細胞分化におけるエピジェネティカル制御機構の解析を行っている。

### 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. ES 細胞を用いた Neural Crest 幹細胞の樹立と再生医療への応用

ES 細胞から neural crest 幹細胞を確立し、様々な細胞に分化させ、再生医療への応用を試みる。



図：ES 細胞から neural crest の分化系の確立。ES 細胞を無血清培養することで、神経上皮からなる sphere 形成を行い、さらに BMP4 処理により neural crest 細胞を分化させ、骨芽細胞の分化を示した。

### 最近の代表的な論文

Inoue H, Ohnishi Y, Nakajima M, Kakudo M, Nozaki M. A novel function of EpCAM in oral squamous cell carcinoma cells under anchorage-independent conditions. *Int J Oncol.* 2011 Dec; 39 (6): 1401-5.



## 感染動物実験施設

### 研究グループ

施設長（兼） 准教授 助教	岡部 勝 伊川 正人 磯谷 綾子	助教（兼） 助教（兼） 特任助教（兼）	医学博士 薬学博士 生命科学博士	蓮輪 英毅 井上 直和 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も必要とされる。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いため、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2つの区域、①感染飼育実験区域(BSL2, BSL3)、②SPF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を防いでいる。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教育訓練、②動物実験計画書の提出と審査、③定期的な微生物学的モニタリング等により、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、SPF飼育実験区域、ウサギ飼育室

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み換え動物の重要性が大きな比重を占めるようになっている。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み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。

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
1995-2000	228	50	261
2001-2003	104	57	443
2004-2006	43	69	331
2007-2009	22	74	216
2010,2011	31	79	220
total	428	329	1471

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  
 准教授（兼） 医学博士 藤田 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内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解析やナノカウンター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、それを難治性血管炎の病因遺伝子解析や診断マーカー同定など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：

遺伝子発現により產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、感染体などが产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、独自な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。

### 最近の代表的な論文

- Okuzaki D, Kimura S, Yabuta N, Oomine T, Nojima H. LeukoCatch, a quick and efficient tool for the preparation of leukocyte extracts from blood. *BMC Clin Pathol.* 2011 Aug 17;11(1):9.
- Okuzaki D, Fukushima T, Tougan T, Ishii T., Kobayashi S, Yoshizaki K, Akita T, and Nojima H. Genopal™: a novel hollow fiber array for focused microarray analysis. *DNA Res.*, 2010 Dec;17(6):369-79.
- 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.
- 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.
- 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.



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

## 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
特任准教授	農学博士	山縣 一夫
助教(兼)	医学博士	蓮輪 英毅
特任助教	生命科学博士	上田 潤

#### <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 紗子

#### <共同研究推進部門>

客員教授	理学博士	岩倉 洋一郎
客員教授	医学博士	吉田 進昭
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	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、疾病的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、疾病的新規治療法や新薬の開発に向けた基礎研究を行なう。

### 最近の代表的な論文

1. Tokuhiro K, Ikawa M, Benham AM, Okabe M. Testis specific PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male infertility. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 March 6; 109 (10): 3850-3855.
2. Inoue N, Satouh Y, Ikawa M, Okabe M, Yanagimachi R. Acrosome-reacted mouse spermatozoa recovered from the perivitelline space can fertilize other eggs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Dec 13;108(50):20008-11.
3. Kumasawa K, Ikawa M, Kidoya H, Hasuwa H, Saito-Fujita T, Morioka Y, Takakura N, Kimura T, Okabe M. Pravastatin induces placental growth factor (PGF) and ameliorates preeclampsia in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Jan 25;108(4):1451-5.
4. Isotani A, Hatayama H, Kaseda K, Ikawa M, Okabe M. Formation of a thymus from rat ES cells in xenogeneic nude mouse↔rat ES chimeras. *Genes Cells*. 2011 Apr;16(4): 397-405.
5. Ikawa M, Tokuhiro K, Yamaguchi R, Benham AM, Tamura T, Wada I, Satouh Y, Inoue N, Okabe M. Calsperin is a testis-specific chaperone required for sperm fertility. *J Biol Chem*. 2011 Feb 18;286(7):5639-46.

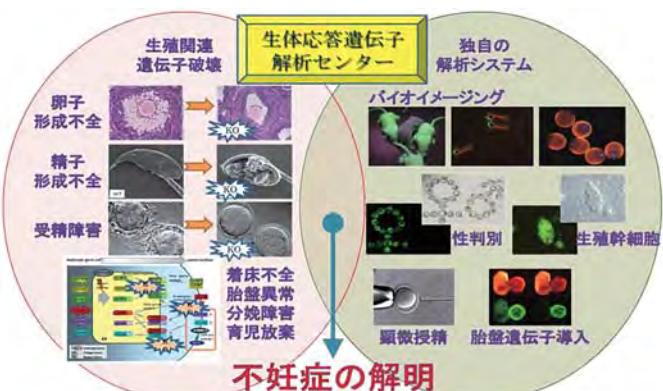


図1 不妊症の解明に向けたストラテジー

## 微研ミュージアム

室 長

広報委員長（兼）教授 理学博士 野島 博

### 施設概要

大阪大学微生物病研究所は竹尾結核研究所と大阪特殊皮膚病研究所を併せて昭和 9 年（1934）に設立された。創立 70 周年を記念して微研ミュージアムを設置することが計画され、2010 年 12 月 17 日の開館式をもって正式に開館した（図 1）。学内者、学外者ともに平日の朝 9:00~17:00 まで自由に出入りできる（入場無料）。また受付で芳名帳に名前を記入すれば豪華なパンフレットがプレゼントされる。すでに開館 1 年以内に一千名以上の来訪者の名前を芳名帳に記載された。

微研の発祥は昭和 4 年（1929）にさかのぼる。大阪医科大学（昭和 6 年大阪帝国大学に移管）の楠本長三郎・学長と谷口臘二・細菌血清学教授は、大阪や神戸がコレラ・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を心配していた。大正 12 年の関東大震災の教訓もあって、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広く説いて回り、当時の大阪府知事柴田善三郎や大阪財界には積極的な協力を要請した。山口玄洞氏は、この要請に応えて 20 万円（現在の数億円に相当）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。

微研ミュージアムの中には竹尾結核研究所の設立に尽力された竹尾治右衛門氏（左：第 10 代、右：第 11 代）の胸像（図 2）やドイツより寄付されたコッホの顕微鏡（図 3）、海洋堂製（特注）のインフルエンザ（図 4）と SARS ウィルス（図 5）の模型などが展示されている。

詳細はホームページ (<http://museum.biken.osaka-u.ac.jp/>) を参照のこと。



図 3：コッホの顕微鏡



図 4：海洋堂製のインフルエンザウィルスの模型



図 5：海洋堂製の SARS ウィルスの模型



図 1：開館式前の微研ミュージアム



図 2：竹尾結核研究所の看板および竹尾治右衛門氏の胸像（左：第 10 代、右：第 11 代）

## 中央実験室

室 長

教授 理学博士 岡田 雅人  
助教 薬学博士 東山 真二

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、共通で使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拡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 共同実験室として設置された。昭和 54 年には北館 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 年に南館地下 1 階  $^{137}\text{Cs}$  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 実験室が加わった。また、平成 22、23 年度には老朽化のため RI 共同実験室、北館 1 階共同無菌 RI 実験室、遺伝情報実験センター RI 実験室を廃止し、新しく免疫学フロンティア研究センター棟 9 階に RI 実験室を設置した。また、南館の改築に伴い、 $^{137}\text{Cs}$  ガンマ線照射室は北館 1 階に移設した。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個人線量計番号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 23 年度の登録された放射線業務従事者は 223 名にのぼり、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) ウィ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 m<sup>2</sup>を有する 3 階建で、生物学的災害（バイオハザード）を防止するよう設計されている。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 22 年度 50 名、23 年度 52 名であった。使用病原体は HIV、インフルエンザウィルス、SARS ウィルスなどのウィルスの他、スクレイピー病原体まで多岐に渡る。

## 図 書 室

/室 長

教授 理学博士 堀井 俊宏

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館に伴い、2007 年 12 月から南館 1F に仮図書室を開室していたが、2010 年 7 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、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 34 タイトル、和文誌約 25 タイトルである。新着以外の雑誌は、北館 1F の倉庫に箱詰している。

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 1 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

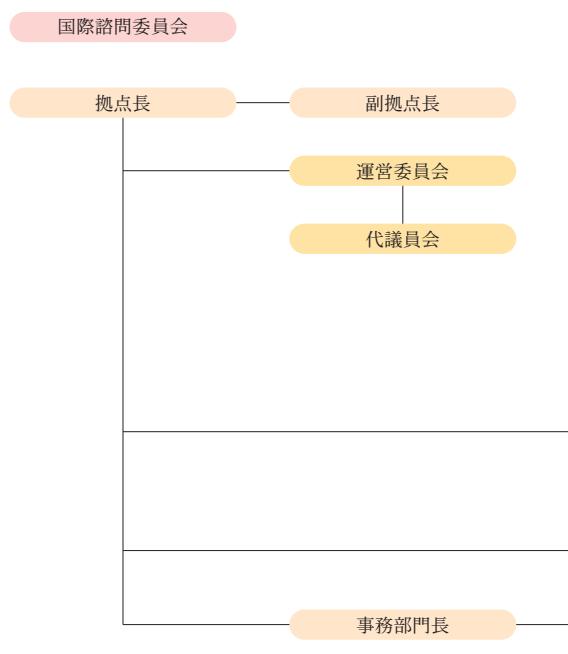
## 免疫学フロンティア研究センター

### ●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 : IFReC）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。

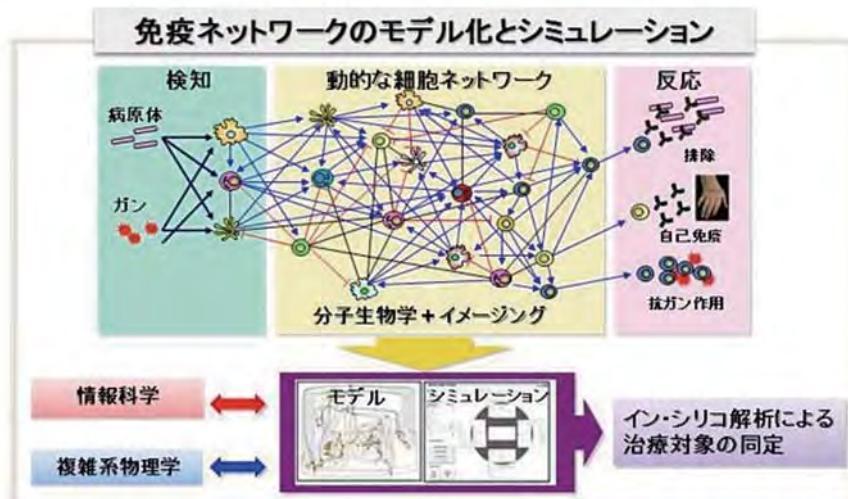
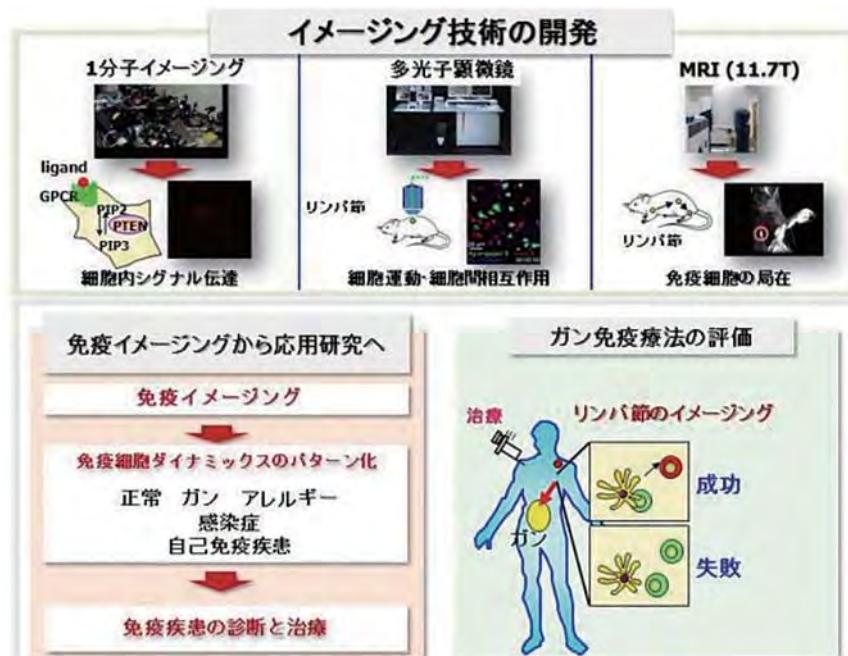


研究室 免疫グループ	
自然免疫学 (審良 静男)	実験免疫学 (坂口 志文)
糖鎖免疫学 (木下 タロウ)	免疫シグナル (斎藤 隆)
感染病態 (熊ノ郷 淳)	分化制御 (黒崎 知博)
免疫化学 (荒瀬 尚)	リンパ球分化 (Fritz Melchers)
免疫機能統御学 (岸本 忠三)	消化管免疫学 (Myoung Ho Jang)
免疫機能統御学 (改正 恒康)	マラリア免疫学 (Cevayir Coban)
免疫発生学	ワクチン学 (石井 健)
粘膜免疫学 (竹田 潔)	免疫ネットワーク (華山 力成)
分子免疫制御 (菊谷 仁)	免疫寄生虫学 (山本 雅裕)
イメージンググループ	
1細胞1分子イメージング (柳田 敏雄)	化学分子イメージング (菊池 和也)
生体機能イメージング (吉岡 芳親)	生体フォトニクス (Nicholas Isaac Smith)
細胞動態学 (石井 優)	免疫応答ダイナミクス (鈴木 一博)
核医学 (畠澤 順)	
バイオインフォマティクスグループ	
情報システム (畠 豊)	免疫システム学 (Daron M. Standley)
バイオインフォマティクスゲノミクス (Diego Miranda-Saavedra)	
企画室	
総務セクション	
会計セクション	

## ●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心とし、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19年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度
人件費	917,415	905,437	859,673	887,150	863,168
物件費	495,488	513,073	548,947	704,408	567,143
計	1,412,903	1,418,510	1,408,620	1,591,558	1,430,311

### その他収入

(単位：千円)

区分	平成19年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度
受託研究費等	1,175,396	1,022,353	1,040,180	908,861	711,772
奨学寄附金	1,215,677	187,969	343,772	689,654	765,777
その他の	4,591	3,406	2,090	4,506	4,082
計	2,395,664	1,213,728	1,386,042	1,603,021	1,481,631

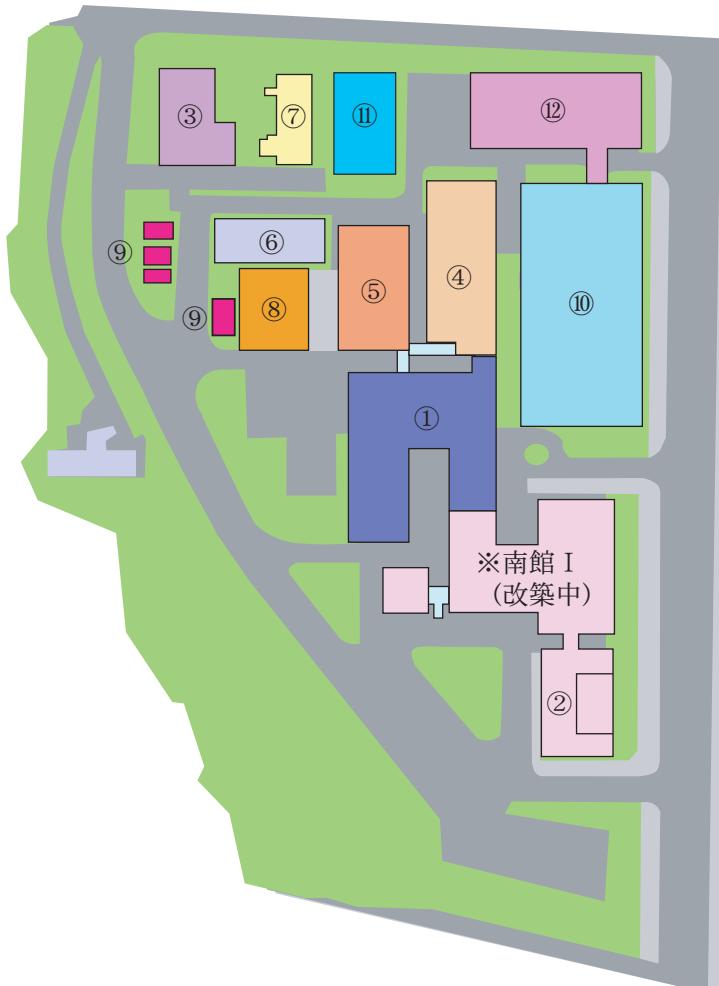
### 補助金等収入（間接経費を含む）

(単位：千円)

区分	平成19年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度
文部科学省 科学研究費補助金	613,870	863,592	688,999	453,744	466,212
厚生労働省 科学研究費補助金	237,575	163,278	118,789	107,632	87,913
厚生労働省老人保健事業 推進費等補助金	-	18,000	13,988	0	0
21世紀COEプログラム (研究拠点形成費等補助金)	196,900	0	0	0	0
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	85,441	74,992
計	1,048,345	1,194,469	941,813	646,817	629,117

敷地 ..... 36,036m<sup>2</sup>

建物 ..... 建面積 6,061m<sup>2</sup> 延面積 23,120m<sup>2</sup>



①本館（左）⑩融合型生命総合研究棟（右）



②南館II



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 (m <sup>2</sup> )	延面積 (m <sup>2</sup> )
①本館	7	1,546	6,087
②南館II	3 (地下1)	409	945
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	492	1,252
④別館	2	768	1,548
⑤感染動物実験施設A棟	2	640	1,391
⑥感染動物実験施設B棟	4	355	1,425
⑦感染症共同実験室	3	241	550
⑧機械棟	2	378	504
⑨危険薬品庫等	1	160	160
⑩融合型生命科学総合研究棟	10	1,072	9,258
⑪感染動物実験施設C棟	3 (地下1)	738	2,482
(免疫学フロンティア研究センター管理)			
⑫免疫学フロンティア研究センター棟	9	770	6,585

## 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°



① 本 部 事 務 機 構	吹田市山田丘	1 - 1	⑯ 留 学 生 セ ン タ 一	吹田市山田丘	1 - 1
② 人間科学研究科・人間科学部	〃	1 - 2	⑮ 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	⑭ 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	⑮ 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	⑯ 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	⑰ サ ス テイナビリティ・デザイン・センタ ー	〃	2 - 1
⑦ 薬 学 研 究 科 ・ 薬 学 部	〃	1 - 6	⑱ 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	⑲ 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	⑳ 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	㉑ 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科	〃	2 - 2	㉒ 接 合 科 学 研 究 所	〃	11 - 1
⑫ 微 生 物 病 研 究 所	〃	3 - 1	㉓ 超 高 壓 電 子 顕 微 鏡 セ ン タ ー	〃	7 - 1
⑬ 蛋 白 質 研 究 所	〃	3 - 2	㉔ サイバーメディアセンター	〃	5 - 1
⑭ 低 温 セ ン タ 一	〃	2 - 1	㉕ 核 物 理 研 究 セ ン タ ー	〃	10 - 1
⑮ ラ ジ オ ア イ ソ ト プ 総 合 セ ン タ ー	〃	2 - 4			
⑯ 環 境 安 全 研 究 管 理 セ ン タ ー	〃	2 - 4			