

国立大学法人 大阪大学

# 微生物病研究所



2014–2015

## 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	.....	34
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>		50
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>		53
大阪・マヒドン感染症センター <i>Mahidol-Osaka Center for Infectious Diseases</i>		56
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>		57
附属研究施設／共通研究施設	<i>Research Facilities</i>	58
免疫学フロンティア研究センター	<i>Immunology Frontier Research Center</i>	64
決算／敷地／建物	<i>Accounts &amp; Building Area</i>	66
案内図	<i>Map &amp; Access</i>	68

表紙写真 野島 博

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

**附属施設 Special Research Facilities**

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

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

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

**海外研究拠点 Research Collaboration Center in Overseas**

日本・タイ感染症共同研究センター	Thailand-Japan Research Collaboration Center on Emerging and Re-emerging Infections
細菌感染部門	Section of Bacterial Infections
ウイルス感染部門	Section of Viral Infections
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)	Yashiro Kotake, M.D., Professor	1934.9～1940.6
2代	今村 荒男	(昭和15年8月～昭和18年7月)	Arao Imamura, M.D., Professor	1940.8～1943.7
3代	谷口 肇二	(昭和18年7月～昭和30年3月)	Tenji Taniguchi, M.D., Professor	1943.7～1955.3
4代	藤野 恒三郎	(昭和30年4月～昭和33年3月)	Tsunesaburo Fujino, M.D., Professor	1955.4～1958.3
5代	釜洞 醇太郎	(昭和33年4月～昭和39年3月)	Juntaro Kamahora, M.D., Professor	1958.4～1964.3
6代	天野 恒久	(昭和39年4月～昭和43年3月)	Tsunehisa Amano, M.D., Professor	1964.4～1968.3
7代	奥野 良臣	(昭和43年4月～昭和47年3月)	Yoshiomi Okuno, M.D., Professor	1968.4～1972.3
8代	堀 三津夫	(昭和47年4月～昭和51年3月)	Mitsuo Hori, M.D., Professor	1972.4～1976.3
9代	川俣 順一	(昭和51年4月～昭和55年3月)	Junichi Kawamata, M.D., Professor	1976.4～1980.3
10代	加藤 四郎	(昭和55年4月～昭和59年3月)	Shiro Kato, M.D., Professor	1980.4～1984.3
11代	高橋 理明	(昭和59年4月～昭和61年3月)	Michiaki Takahashi, M.D., Professor	1984.4～1986.3
12代	三輪谷 俊夫	(昭和61年4月～昭和63年3月)	Toshio Miwatani, M.D., Professor	1986.4～1988.3
13代	角永 武夫	(昭和63年4月～昭和63年9月)	Takeo Kakunaga, D.Pharm., Professor	1988.4～1988.9
14代	藤尾 啓	(昭和63年11月～平成2年10月)	Hajime Fujio, M.D., Professor	1988.11～1990.10
15代	豊島 久真男	(平成2年11月～平成5年10月)	Kumao Toyoshima, M.D., Professor	1990.11～1993.10
16代	羽倉 明	(平成5年10月～平成9年10月)	Akira Hakura, D.Sc., Professor	1993.10～1997.10
17代	西宗 義武	(平成9年10月～平成13年10月)	Yoshitake Nishimune, M.D., Professor	1997.10～2001.10
18代	本田 武司	(平成13年10月～平成15年10月)	Takeji Honda, M.D., Professor	2001.10～2003.10
19代	木下 タロウ	(平成15年10月～平成19年10月)	Taroh Kinoshita, D.Med.Sc., Professor	2003.10～2007.10
20代	菊谷 仁	(平成19年10月～平成23年10月)	Hitoshi Kikutani, M.D., Professor	2007.10～2011.10
21代	目加田 英輔	(平成23年10月～ )	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	高橋 理明	麻疹部門
医学博士	吉田 貞雄	寄生虫学	医学博士	藤尾 啓	免疫化学部門
医学博士	今村 荒男	所長	医学博士	田口 鐵男	臨床部門
医学博士	佐谷 有吉	癲治療研究部	理学博士	松代 愛三	細菌ウイルス部門
医学博士	谷口 肇二	所長	理学博士	中田 篤男	化学療法部門
医学博士	世良好太	細菌化学部	医学博士	岡山 博人	分子遺伝研究分野
医学博士	政山 龍徳	癌治療学部門	医学博士	豊島 久真男	発癌遺伝子部門
医学博士	大谷 象平	細菌化学部	医学博士	木谷 照夫	臨床部門
医学博士	関 梢四郎	防疫学部	医学博士	高井 新一郎	臨床部門
医学博士	須田 正巳	細菌化学部	医学博士	松田 守弘	細菌毒素学分野
医学博士	森下 薫	寄生虫原虫学部門	医学博士	栗村 敬	ウイルス感染制御分野
医学博士	山口 寿	臨床部門	医学博士	山西 弘一	ウイルス免疫分野
医学博士	藤野 恒三郎	細菌血清学部門	理学博士	羽倉 明	癌抑制遺伝子研究分野（兼 腫瘍ウイルス分野）
医学博士	伊藤 政一	第一結核研究科	理学博士	秋山 徹	発癌制御研究分野
医学博士	釜洞 醇太郎	腫瘍ウイルス部門	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	西村 真二	癲部門	医学博士	上田 重晴	神経ウイルス分野
医学博士	加藤 允彦	結核病理学部門	医学博士	島田 和典	遺伝子疾患研究分野
医学博士	米田 正彦	抗酸菌生理学部門	医学博士	笛川 千尋	細菌毒素学分野
医学博士	芝 茂	臨床部門	理学博士	杉野 明雄	遺伝子複製研究分野
医学博士	猪木 正三	寄生虫原虫学部門	医学博士	清野 宏	免疫化学分野
医学博士	堀 三津夫	結核病理学部門	医学士	西宗 義武	感染動物実験施設
医学博士	奥野 良臣	麻疹部門	医学博士	仲野 徹	遺伝子動態研究分野
医学博士	石上 重行	臨床部門	理学博士	品川 日出夫	遺伝子生物学分野
医学博士	天野 恒久	免疫化学部門	理学博士	田村 慎一	ウイルス感染予防寄附研究部門
医学博士	川俣 順一	化学療法部門	医学博士	松田 道行	情報伝達分野
医学博士	岡田 善雄	動物ウイルス部門	医学博士	本田 武司	細菌感染分野
理学博士	鳥居 光雄	免疫化学部門	医学博士	谷口 直之	疾患糖鎖学（生化学工業）寄附研究部門
医学博士	深井 孝之助	防疫学部門	医学博士	吉森 保	細胞制御分野
医学博士	森 龍男	結核病理学部門	医学博士	田邊 和祐	感染症国際研究センター
医学博士	伊藤 利根太郎	癲部門	理学博士	今本文男	分子生物学寄附研究部門
薬学博士	角永 武夫	発癌遺伝子部門	医学博士	熊ノ郷 淳	感染病態分野
医学博士	加藤 四郎	感染病理学部門	医学博士	大石 和徳	感染症国際研究センター
医学博士	中林 敏夫	原虫学部門	医学博士	亀岡 正典	日本・タイ感染症共同研究センター
医学博士	山之内 孝尚	感染動物実験施設	薬学博士	岡部 勝	生体応答遺伝子解析センター
医学博士	三輪谷 俊夫	細菌血清学部門	医学博士	生田 和良	ウイルス免疫分野

## 役職員等 Department Heads

平成26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 教授 教授	農学博士 医学博士 獣医学博士 医学博士	堀口 安彦 塩田 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 夕ロウ 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 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 教授	理学博士 理学博士	堀井 俊宏 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	センター長・教授 教授 教授 教授	理学博士 薬学博士 理学博士 理学博士	安永 照雄 伊川 正人 安永 照雄 堀井 俊宏
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 特任教授 特任准教授	理学博士 医学博士 医学博士	堀井 俊宏 堀井 俊宏 藤永 由佳子 森田 英嗣
感染制御部門 ゲノム病原細菌学研究グループ ウィルス複製研究グループ 感染症学・免疫学融合研究グループ 病原微生物資源室	特任教授 特任准教授 准教授 特任教授	医学博士 医学博士 理学博士 医学博士	飯田 哲也 小林 剛 永井 宏樹 飯田 哲也
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	薬学博士 理学博士 薬学博士	伊川 正人 野島 博 伊川 正人
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 ウィルス感染部門	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	三木 裕明 三木 裕明 塩田 達雄 三木 裕明
事務部	事務長		石倉 義信

## 職員 Staff

平成26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	5
准教授	Associate Professor	14
特任准教授	SA Associate Professor	7
講師	Associate Professor	1
特任講師	SA Associate Professor	5
助教	Assistant Professor	28
寄附研究部門助教	Endowed Chair Assistant Professor	1
特任助教	SA Assistant Professor	7
教務職員	Educational Support Staff	3
技術職員	Technical Staff	7
事務職員	Administrative Staff	22
特任研究員	SA Researcher	48
事務・技術補佐員	Part-time General & Technical staff	39
計	Total	203

SA : Specially Appointed

## 大学院学生 Graduate Students

平成26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	35	8
理学研究科	Graduate School of Science	1	1
薬学研究科	Graduate School of Pharmaceutical Science	2	2
歯学研究科	Graduate School of Dentistry	0	0
生命機能研究科	Graduate School of Frontier Biosciences	8	0
計	Total	46	11

※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26年4月1日現在

特別研究学生	Special research students	4
研究生	Research Students	5
外国人研究者	Visiting Research Scholars	3
日本学術振興会特別研究員（PD）	JSPS Research Fellows	1
計	Total	13

## 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 理学博士 安倍 裕順  
 助教 薬学博士 新澤 直明

特任研究員 バイオサイエンス博士 福井 理  
 特任研究員 獣医学博士 中村 佳司

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。

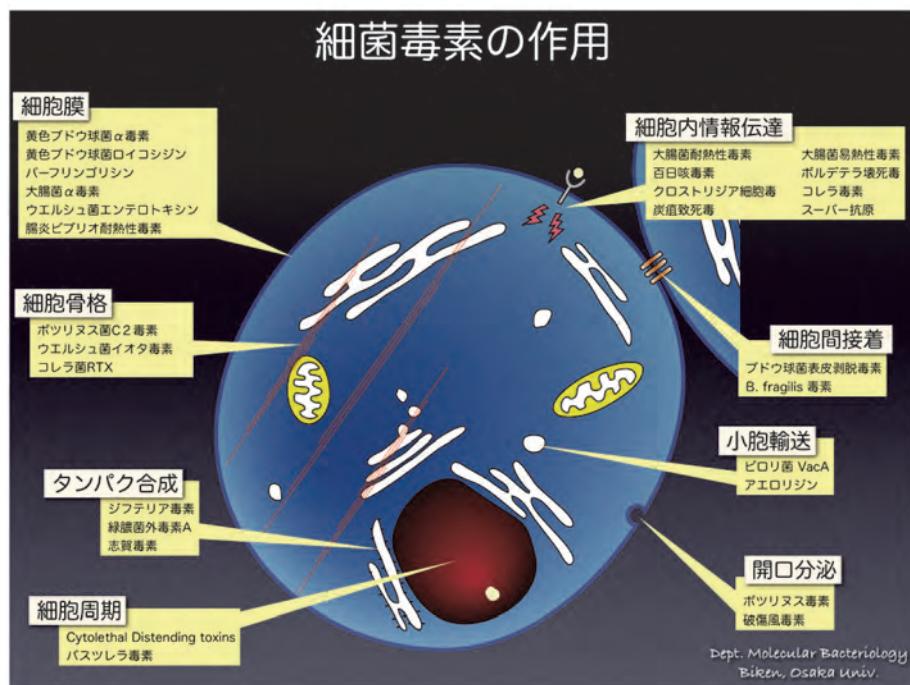


図1：多彩な細胞機能に影響を及ぼす細菌毒素  
 細菌毒素の多くは宿主細胞の重要な機能を修飾することによって効率的に作用を発揮する。  
 すなわち細菌毒素の作用機構の解析は細菌感染病態のみならず動物細胞機能の理解にも役立つといえる。

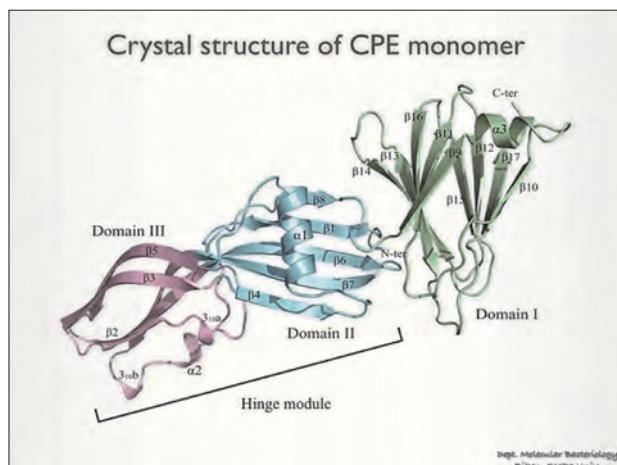


図2：ウエルシュ菌エンテロトキシンの立体構造

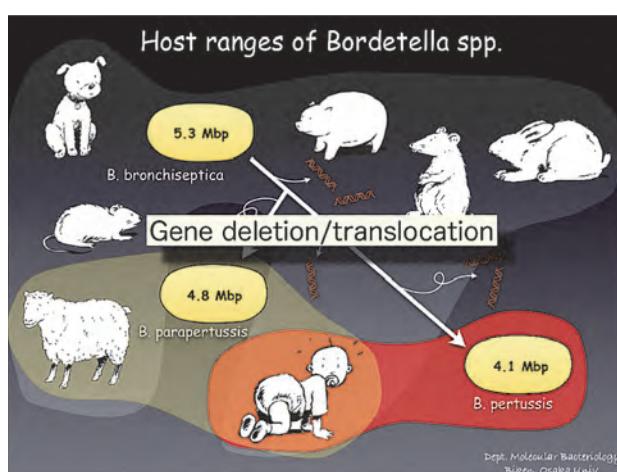


図3：百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) 類縁の気管支敗血症菌 (*B. bronchiseptica*) と類百日咳菌 (*B. parapertussis*) のゲノムサイズと宿主特異性。  
5.3 Mbp のゲノムサイズを持つ気管支敗血症菌は多種類の動物を宿主に持ち、遺伝子の転位や欠失でゲノムサイズの小さくなった類百日咳菌や百日咳菌は宿主範囲も狭くなる。

## 最近の代表的な論文

1. Substrate specificity of *Pasteurella multocida* toxin for  $\alpha$  subunits of heterotrimeric G proteins. Orth JH, Fester I, Siegert P, Weise M, Lanner U, Kamitani S, Tachibana T, Wilson BA, Schlosser A, Horiguchi Y, Aktories K. *FASEB J.* 2013 Feb;27(2):832-42.
2. Swine atrophic rhinitis caused by *Pasteurella multocida* toxin and *Bordetella* dermonecrotic toxin. Horiguchi Y. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2012;361:113-29.
3. Enzymatic actions of *Pasteurella multocida* toxin detected by monoclonal antibodies recognizing the deamidated  $\alpha$  subunit of the heterotrimeric GTPase Gq. Kamitani S, Ao S, Toshima H, Tachibana T, Hashimoto M, Kitadokoro K, Fukui-Miyazaki A, Abe H, Horiguchi Y. *FEBS J.* 2011 Aug;278(15):2702-12.
4. Crystal structure of *Clostridium perfringens* enterotoxin displays features of beta-pore-forming toxins. Kitadokoro K, Nishimura K, Kamitani S, Fukui-Miyazaki A, Toshima H, Abe H, Kamata Y, Sugita-Konishi Y, Yamamoto S, Karatani H, Horiguchi Y. *J Biol Chem.* 2011 Jun 3;286(22):19549-55.
5. Characterization of the membrane-targeting C1 domain in *Pasteurella multocida* toxin. Kamitani S, Kitadokoro K, Miyazawa M, Toshima H, Fukui A, Abe H, Miyake M, Horiguchi Y. *J Biol Chem.* 2010 Aug 13;285(33):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	特任研究員 医学博士 櫻木小百合
准教授	医学博士 中山 英美	特任研究員 医学博士 武田 英里
助教	医学博士 櫻木 淳一	特任研究員 歯学博士 田谷かほる

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

### 1. 抗 HIV 因子の研究

HIV はチンパンジー以外にサルや小動物に感染が成立しないため動物モデルが存在せず、詳細な病理学的解析が行えない。サルにおいては、ウイルス感染の初期過程（逆転写）を阻害する因子 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は 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 $\alpha$ が進化の過程で闘争していることを示して来た。また、西アフリカの HIV-2 感染者においては、ウイルスカプシドのわずか1アミノ酸の違いが血中ウイルス量と相関すること、ヒト TRIM5 $\alpha$ 遺伝子の多型が個体の HIV 感染効率にも影響することから、TRIM5 $\alpha$ がヒトの生体内でも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た。

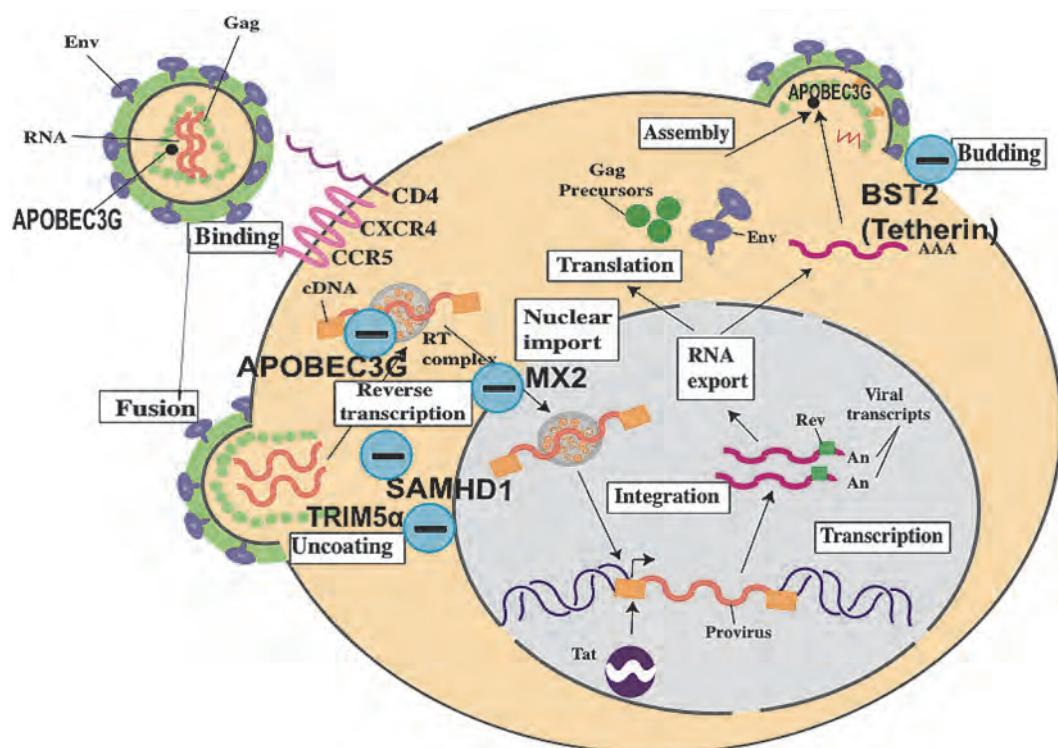


図 1 : HIV の生活環と内因性抗ウイルス因子

## 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、脂質代謝異常と Fas 遺伝子との関係を明らかにし、現在は腎機能異常の副作用に関わる多型を探索している。

## 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つてゐると考えられた（図 2B）。

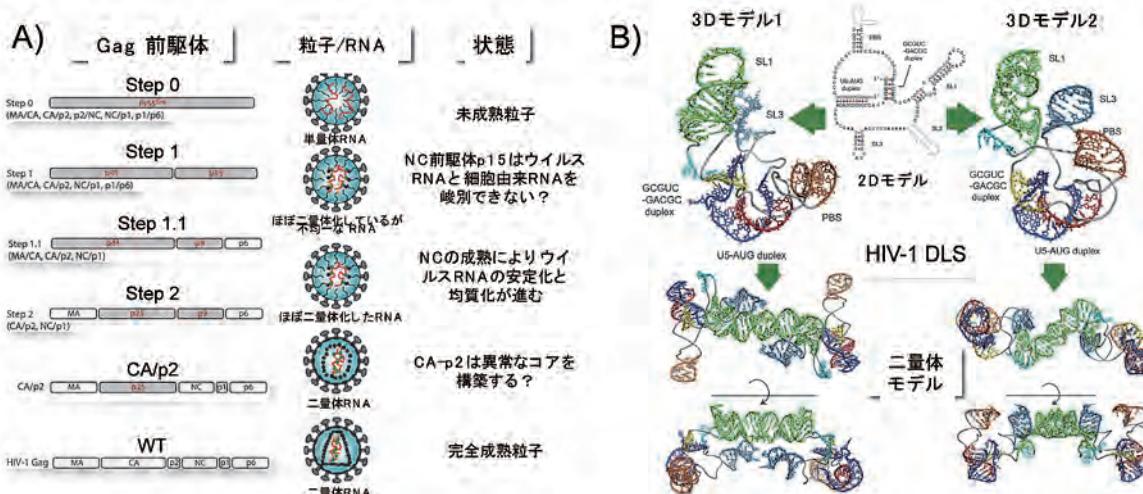


図 2 : HIV ゲノム二量体

## 最近の代表的な論文

1. Moderate restriction of macrophage-tropic human immunodeficiency virus type 1 by SAMHD1 in monocyte-derived macrophages. Taya K, Nakayama EE, Shioda T. *PLoS ONE*. 2014 Mar;9(3):e90969.
2. A naturally occurring single amino acid substitution in human TRIM5 $\alpha$ linker region affects its anti-HIV type 1 activity and susceptibility to HIV type 1 infection. Nakayama EE, Nakajima T, KaurG, Mimaya JI, Terunuma H, Mehra N, Kimura A, ShiodaT. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013 Jun;29(6):919-924.
3. Polymorphisms in Fas gene is associated with HIV-related lipodystrophy in Thai patients. Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, Uttayamakul S, Prasithsirikul W, Srisopha S, Nititayanontakij R, Tengtrakulcharoen P, Tarkowski M, Riva A, Nakayama EE, Shioda T. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013 Jan;29(1):142-50.
4. A proposal for a new HIV-1 DLS structural model. Sakuragi JI, Ode H, Sakuragi S, Shioda T, Sato H. *Nucleic Acids Res*. 2012 Jun;40(11):5012-22.
5. TRIM5 $\alpha$ and Species Tropism of HIV/SIV. Nakayama EE, Shioda T. *Front Microbiol*. 2012 Jan 24;3:13.

## 分子ウイルス研究分野

### 研究グループ

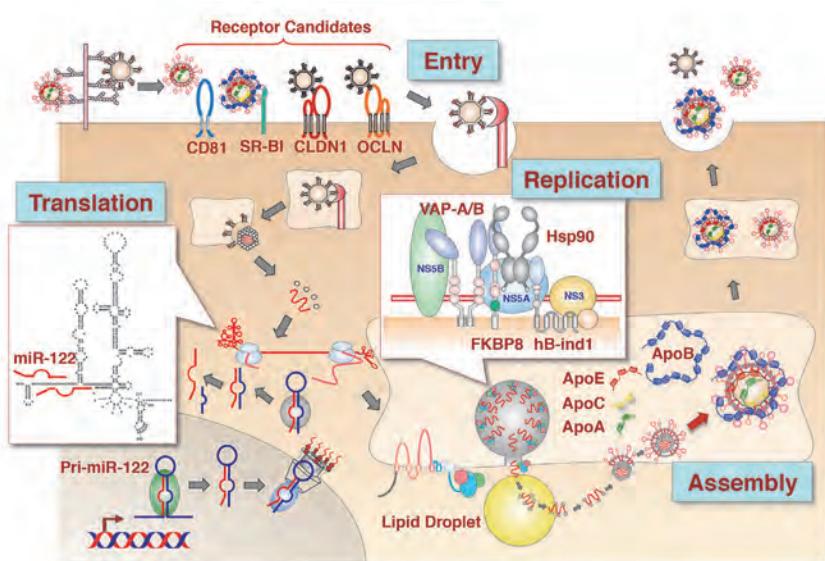
教授	獣医学博士	松浦 善治	特任研究員	理学博士	相澤 清香
助教	医学博士	岡本 徹	特任研究員	医学博士	和田 真実
助教	医学博士	福原 崇介	特任研究員	理学博士	Puig-Basagoiti Francesc
特任研究員	農学博士	小野 慎子	ポスドク	獣医学博士	渡部 伸也

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

### 1. HCVの分子生物学

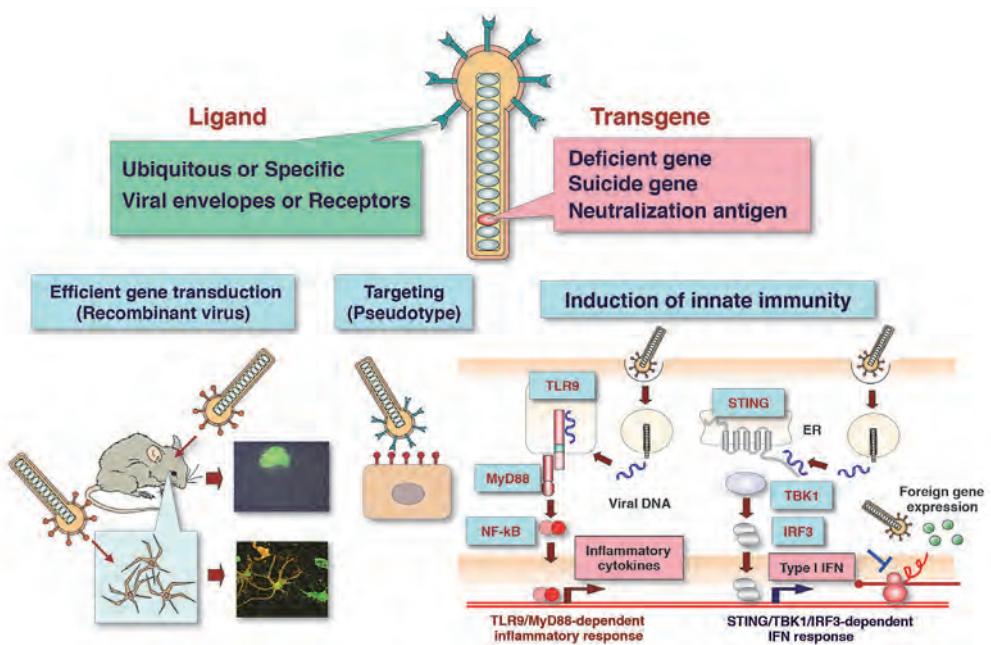
HCVの感染者は世界で1億3千万人も存在し、その多くが慢性持続感染へと移行し、肝硬変を経て肝細胞癌を発症する。近年、有効なHCVの分子標的薬が開発され、C型慢性肝炎治療は大きく進歩した。しかしながら、既に肝硬変を発症している患者や、副作用を伴う薬剤投与に耐えられない高齢者に対する治療法はなく、また、ウイルスを排除できたとしても、肝発癌の危惧を完全に払拭できる訳ではない。さらに、薬剤耐性ウイルスの出現も大きな問題となっている。ウイルス蛋白質よりも、HCVの複製に重要な宿主因子を標的とした抗ウイルス剤の方が、薬剤耐性ウイルスの出現頻度は圧倒的に低い。そこで、我々はHCVの増殖や病原性発現に関する宿主因子を解析し、C型慢性肝炎の新しい創薬ターゲットを検索している。細胞に侵入したHCVのゲノムRNAから翻訳された前駆体蛋白質は、細胞のシグナルペプチダーゼとシグナルペプチドペプチダーゼ、そして、ウイルスがコードしているプロテアーゼによって、10個の蛋白質に切断される。ほとんどのRNAウイルスは細胞質で複製するが、成熟したHCVコア蛋白質の一部は核へ移行し、核内プロテアソームの活性化因子であるPA28 $\gamma$ と相互作用して分解される。HCVのコア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスは、C型慢性肝炎患者で観察される、インスリン抵抗性、脂肪肝、そして肝細胞癌を発症するが、このマウスからPA28 $\gamma$ を欠損させると、これらの病態が完全に消失する。また、PA28 $\gamma$ の発現を抑制すると、ウイルス粒子の産生が低下することから、コア蛋白質の一部がPA28 $\gamma$ 依存的に核内で分解されることが、HCVの粒子産生だけでなく、病原性発現にも深く関与していることが明らかになった。さらに、FKBP8やhBind-1等のコシャペロンがNS5A蛋白質と相互作用することによって、分子シャペロンであるHsp90を複製複合体ヘリクルートすることが、HCVの複製に重要であることを明らかにした。また、HCVの組織特異性を決定する宿主因子として、肝臓特異的に発現しているmiR-122やVLDL(Very Low-Density Lipoprotein)関連因子の重要性が報告されているが、その詳細は不明な点が多い。そこで、HCVの粒子産生に関与する、VLDL関連因子のアポリ

ポ蛋白質B(ApoB)とApoEを同時に欠損させた細胞株を樹立したところ、粒子産生は約1/100に減少した。興味深いことに、ApoB/ApoE欠損細胞株にApoA1,ApoA2,ApoC1,ApoC2、あるいは、ApoC3を発現させると粒子産生が回復することから、種々のアポリポ蛋白質が相互に補完しながら、HCVの感染性粒子産生に関与していることが明らかとなった。HCV研究の最大の障害は、患者血清中のHCVを培養できる細胞培養系や感受性を示す小型実験動物を欠くことである。HCVのモデルウイルスとして、同じフラビウイルス属の日本脳炎ウイルスの研究も進めている。



## 2. バキュロウイルスベクターの開発

HCV のように培養細胞で複製できないウイルス感染症の研究には、ウイルスベクターが重要な武器となる。また、先端医療の要となる遺伝子治療には、安全で遺伝子導入効率が高い、遺伝子導入ベクターの開発が不可欠である。我々は昆虫ウイルスであるバキュロウイルス *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcNPV) を利用した多機能ウイルスベクター開発を進めている。AcNPV は 134kbp の環状 2 本鎖 DNA をゲノムとして持ち、感染細胞の 30 ~ 40% が多角体蛋白質に置き換わるほどの強力な多角体プロモーターを有している。この性質を利用して、AcNPV は昆虫細胞を用いた組換え蛋白質の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も注目されている。AcNPV は大きな外来遺伝子を組み込むことができ、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。また、細胞内に取り込まれた AcNPV ゲノムは、TLR9 依存的に炎症性サイトカインを、また TLR9 非依存的にインターフェロン (IFN) を誘導し、AcNPV をマウスの鼻腔内に投与すると、致死性のインフルエンザウイルスの感染から防御されることを明らかにした。さらに、AcNPV ゲノムによる IFN の誘導には、STING/TBK1/IRF3 経路が重要な役割を演じていることを明らかにした。ウイルス感染によって自然免疫の誘導が抑制された細胞では、AcNPV による外来遺伝子の発現が亢進することから、感染細胞特異的に外来遺伝子を発現できる可能性が示された。以上の成績から、AcNPV は昆虫細胞での組換え蛋白質の大量発現ベクターや哺乳動物細胞への遺伝子導入ベクターはもとより、ワクチンベクターやターゲッティングベクターとしての可能性が示唆された。



## 最近の代表的な論文

1. Novel permissive cell lines for a complete propagation of hepatitis C virus. Shiokawa M, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Okamoto T, Watanabe N, Wakita T, Matsuura Y. *J Virol*. 2014 Mar 5. [Epub ahead of print]
2. Innate immune response induced by baculovirus attenuates transgene expression in Mammalian cells. Ono C, Ninomiya A, Yamamoto S, Abe T, Wen X, Fukuhara T, Sasai M, Yamamoto M, Saitoh T, Satoh T, Kawai T, Ishii KJ, Akira S, Okamoto T, Matsuura Y. *J Virol*. 2014 Feb;88(4):2157-67.
3. Japanese encephalitis virus core protein inhibits stress granule formation through an interaction with Caprin-1 and facilitates viral propagation. Katoh H, Okamoto T, Fukuhara T, Kambara H, Morita E, Mori Y, Kamitani W, Matsuura Y. *J Virol*. 2013 Jan;87(1):489-502.
4. Expression of microRNA miR-122 facilitates an efficient replication in nonhepatic cells upon infection with hepatitis C virus. Fukuhara T, Kambara H, Shiokawa M, Ono C, Katoh H, Morita E, Okuzaki D, Maehara Y, Koike K, Matsuura Y. *J Virol*. 2012 Aug;86(15):7918-33.
5. CD44 participates in IP-10 induction in cells in which hepatitis C virus RNA is replicating, through an interaction with Toll-like receptor 2 and hyaluronan. Abe T, Fukuhara T, Wen X, Ninomiya A, Moriishi K, Maehara Y, Takeuchi O, Kawai T, Akira S, Matsuura Y. *J Virol*. 2012 Jun;86(11):6159-70.

## 感染病態分野

### 研究グループ

教授	医学博士	山本 雅裕
助教	バイオサイエンス博士	笹井 美和
特任助教	畜産衛生学博士	伴戸 寛徳

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とトキソプラズマに対する宿主免疫系の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（先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患を引き起こすヒト重要病原体である。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）。当研究室では、トキソプラズマは様々なエフェクター分子を放出し、宿主免疫系を抑制し、病原性を発揮していることを明らかにしている。

### 2) トキソプラズマに対する宿主免疫系

トキソプラズマ感染に対して、我々宿主は種々の免疫反応を引き起こし対抗している。一般に免疫反応は自然免疫と獲得免疫応答に大別されるが、トキソプラズマの構成成分が Toll 様受容体に認識され、マクロファージや樹状細胞などの自然免疫細胞からインターロイキン 12 (IL-12) などの炎症性サイトカインが大量に放出される。また獲得免疫系は IL-12 により刺激され I 型免疫応答が強く誘導されることが、抗トキソプラズマ宿主防御機構に重要である。I 型免疫応答の中で最も重要なプレーヤーが、インターフェロン $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) である。IFN- $\gamma$ は炎症性サイトカインであり、トキソプラズマの主要な標的細胞である自然免疫担当細胞に作用すると約 2000 種類の IFN- $\gamma$ 誘導性タンパク質を産生する。IFN- $\gamma$ はトキソプラズマの増殖が抑えられる「静」作用とトキソプラズマ自身が破壊される「殺」作用という 2 種類の異なる作用を有し、「静」作用については iNOS を介した一酸化窒素の産生や IDO を介するトリプトファン分解が重要な役割を果たしていることが、90 年代に明らかにされた。

一方「殺」作用については不明な点が多くあったが 2000 年代に入り、トキソプラズマが感染細胞内で形成するオルガネラ

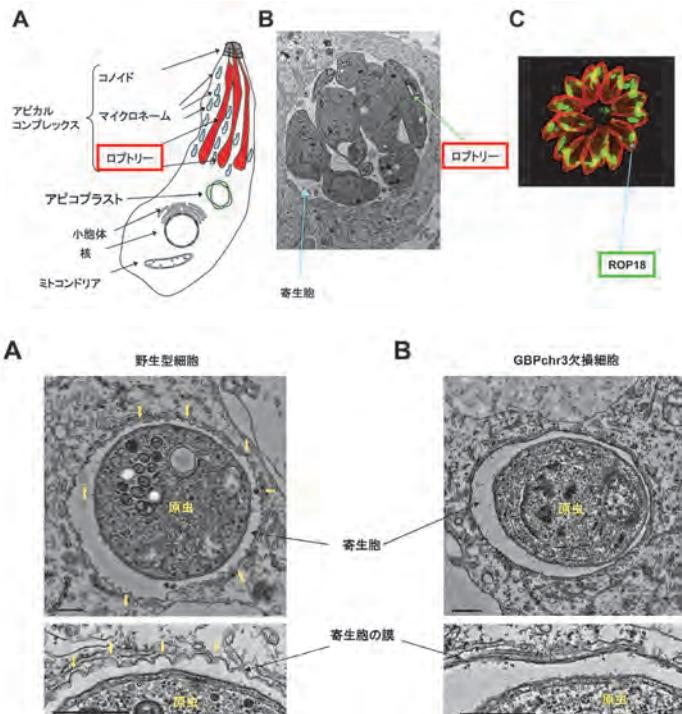


図1 トキソプラズマとは？  
(A) トキソプラズマ原虫の模式図。先端部に分泌小器官であるロプトリー（赤い部分）が存在する。(B) 宿主細胞に感染したトキソプラズマ原虫の電子顕微鏡図。感染細胞中では寄生胞内（水色矢印）に存在する。また、先端部に明らかなロプトリー像が認められる（緑矢印）。(C) 感染細胞中のトキソプラズマ原虫の免疫染色図。トキソプラズマ原虫の細胞膜蛋白質 GAP45 を赤色で、ROP18 を緑色で染色した。尚、ROP18 も同様にロプトリーに存在するエフェクター分子である。

である「寄生胞」の膜構造を破壊することに IFN- $\gamma$ が重要であることが示された（図2 A）。またこの寄生胞膜破壊が IFN- $\gamma$ 誘導性タンパク質である IGTP と呼ばれる 47kD の GTPase やそのファミリー分子群（IRG と呼ばれている）の存在が重要であった。IFN- $\gamma$ は IRG の他に、65kD の GTPase ファミリー分子である GBP を誘導する。IRG を同じく GBP は寄生胞に IFN- $\gamma$ 刺激依存的に動員されてくる。筆者らは GBP を欠損するマウスを作製し、生体・細胞レベルでの抗トキソプラズマ応答を検討した。生体レベルでは、トキソプラズマ感染により GBP 欠損マウスは IFN- $\gamma$ 欠損マウスと同様に高い感受性を示した。また GBP 欠損マクロファージは IFN- $\gamma$ 刺激によるトキソプラズマ虫体数の減少が障害を受けており、「殺」作用の指標となる原虫の IFN- $\gamma$ 依存的な感染率の低下が認められなかつた。次に IFN- $\gamma$ 刺激による寄生胞膜を検討したところ、GBP 欠損マクロファージでは寄生胞膜破壊が起こらず、寄生胞膜は滑らかに保たれていた（図 2B）。これらのことから、GBP は IFN- $\gamma$ 依存的な「殺」作用に重要な役割があることが判明した。p47 GTPase である IRG が「殺」作用に重要であるが、GBP 欠損細胞における IRG のトキソプラズマへの動員は刺激後時間がたつにつれて減少していた。さらに、野生型マウス由来の細胞では GBP は IRG と寄生胞上で共局在を示し、GBP は IRG と直接的に結合することから、IFN- $\gamma$ 誘導性 GTPase である GBP はトキソプラズマ寄生胞膜上で IRG と直接相互作用し、その膜構造を破壊することで「殺」機能を発揮していることが示唆された。

また GBP や IRG が寄生胞に動員されるメカニズムについて、筆者らは最近、細胞の自食作用に重要な役割を果たすオートファジーに関連するタンパク質群（Atg 分子群）が IRG や GBP を寄生胞膜に動員するのに重要であることを明らかにした。オートファジー関連分子群である Atg3、Atg7 や Atg16L1 を欠損する細胞においては、トキソプラズマ寄生胞膜への IRG や GBP の動員率が有意に低下し、それに伴い IFN- $\gamma$ 依存的な原虫数の低下も障害を受けていた。一方、別の Atg9 や Atg14 を欠損細胞では寄生胞膜への IRG や GBP の動員率は野生型細胞と同程度に認められた。オートファジーにおける Atg3 や Atg7/Atg16L1 の役割はオートファゴソーム形成における Atg8 ホモログである LC3 の修飾と二重膜への局在である。一方、Atg9 や Atg14 は Atg3 や Atg7/Atg16L1 システムとは全く独立して、二重膜形成に関与する必須オートファジー分子群である。これらのことから、全てではなく一部のオートファジー必須分子群が GBP/IRG などの GTPase の IFN- $\gamma$ 依存的な寄生胞への動員に関与することが明らかとなった（図 2C）。

以上、Atg3/7/16L1 依存的に IFN- $\gamma$ 誘導性 GTPase 群 GBP や IRG がトキソプラズマに対する感染防御機能を発揮するメカニズムを紹介した。今後は、IFN- $\gamma$ 刺激により活性化されるオートファジー関連分子の活性化機構の解明と IFN- $\gamma$ が誘導する約 2000 種類の誘導タンパク質群に含まれる機能未知の分子群の個別の機能解析を通じて、IFN- $\gamma$ 作動性細胞自律的抗トキソプラズマ免疫反応の全容が明らかにしていくたい。

## 最近の代表的な論文

- Ohshima J, Lee Y, Sasai M, Saitoh T, Ma JS, Kamiyama N, Matsuura Y, Pann-Ghill S, Hayashi M, Ebisu S, Takeda K, Akira S, Yamamoto M. Role of the mouse and human autophagy proteins in IFN- $\gamma$ -induced cell-autonomous responses against Toxoplasma gondii. *J Immunol.* 2014; 192: 3328-3335.
- Yamamoto M, Okuyama M, Ma JS, Kimura T, Kamiyama N, Saiga H, Ohshima J, Sasai M, Kayama H, Okamoto T, Huang DS, Soldati-Favre D, Horie K, Takeda J, Takeda K. A cluster of interferon- $\gamma$ -inducible p65 GTPases plays a critical role in host defense against Toxoplasma gondii. *Immunity.* 2012; 37:302-313.
- 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.
- 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.

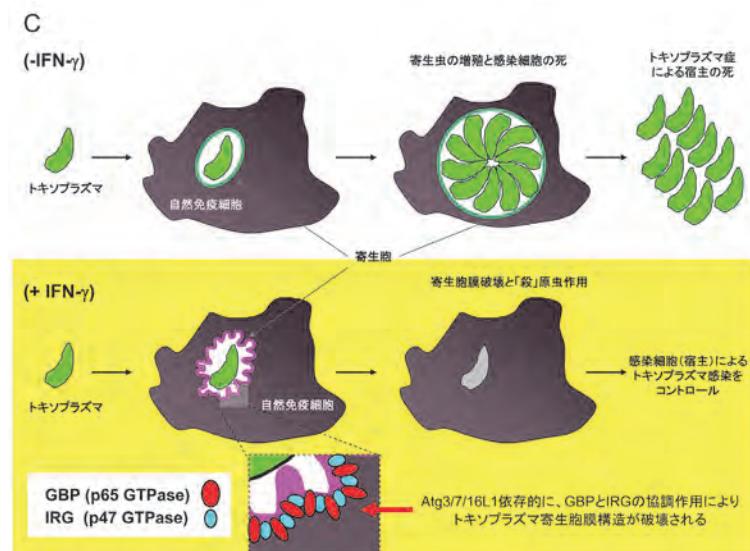


図 2 IFN- $\gamma$ 依存的な寄生胞膜破壊における GTPase の役割  
(A) 野生型細胞では寄生胞膜が波打ち、構造が破壊されているが、(B) GBP 欠損細胞では滑らかな膜面が保たれている。

## 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 榊原 修平

特任研究員 薬学博士 南谷 武春  
特任研究員 理学博士 Chiau-Yuang Tsai

### 1) 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 (BCR) や CD40 からの刺激を必要とする。当分野では、これらのシグナル伝達経路に関する種々の分子機能の解析を行い、液性免疫の制御機構の解明を目指している。特に、CD40 細胞内領域に会合する TRAF3 が、B 細胞の生存に必須であることが明らかになるとともに、TRAF3 会合分子であり、かつ B 細胞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 の抑制因子として作用し、自己反応性 B 細胞除去など、免疫寛容の成立に必須であることを見出している。

### 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) のコードする latent membrane protein (LMP) 1 および 2a が宿主 B 細胞の分化と選択に与える影響

EBV はヒト B 細胞に感染し、特にメモリー B 細胞において潜伏すると考えられている。EBV が潜伏感染した B 細胞では、様々なウイルス抗原が発現しているが、なかでも、latent membrane protein (LMP) 1 および 2a は、それぞれ、CD40 と BCR シグナル下流の因子を恒常的に活性化するので、B 細胞の分化と選択に影響を与えると考えられてきた。しかし、*in vivo* における B 細胞の分化に対して、LMP がどのような影響を与えるかは不明な点が多い。当分野では、LMP1 や LMP2a が胚中心 B 細胞特異的に発現する組換え (Tg) マウスを作製し、モデル抗原を免疫することで、胚中心反応を誘導し、B 細胞の選択と分化について検討した。

LMP2a Tg マウスでは、脾臓において、正常な胚中心形成が認められる一方で、抗原特異的な抗体産生の低下が観察され、LMP2a<sup>+</sup>B 細胞の免疫グロブリン遺伝子配列から抗原親和性の不成熟が明らかとなつた。また、脾臓形質細胞の増加を認めた。これらの結果から、EBV LMP2a は、胚中心反応における BCR 親和性成熟の厳密性を低下させるとともに、B 細胞から形質細胞への分化を促進することがわかった (図1)。

一方、LMP1 Tg マウスでは、抗原免疫による胚中心形成が認められず、LMP1 によって B 細胞分化の阻害が起こることが示された。興味深いことに、LMP1 Tg 由来の骨髄細胞を野生型マウス骨髄細胞とともに移植した場合でも、野生型 B 細胞の胚中心形成が減少し、LMP1<sup>+</sup>B 細胞が近隣の B 細胞に対しても抑制効果を発揮することがわかった。通常の免疫反応では、ナイーブ B 細胞の大部分は、胚中心反応にて除去されるが、今回明らかとなった LMP1 の機能が胚中心形成を抑制し、さらに LMP2a が抗原親和性に依存せずに感染胚中心 B 細胞の生存を助けることで、ヒトにおける EBV 潜伏感染の成立に貢献しているのかもしれない。

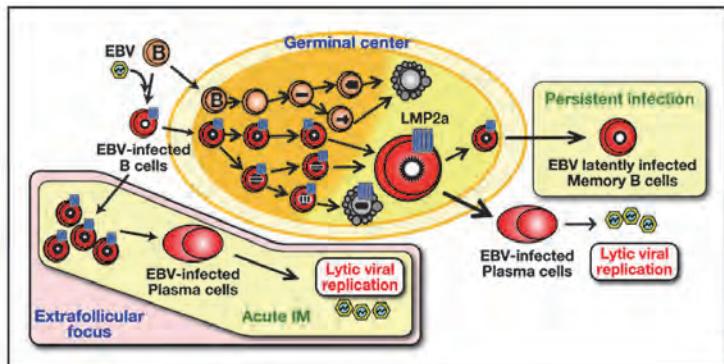


図1 . EBV LMP2a による B 細胞選択閾値の低下による EBV 潜伏感染成立への貢献 . EBV LMP2a による BCR シグナルの活性化は、高親和性 B 細胞選択の閾値を低下させる。(Germinal center: 胚中心、Extrafollicular focus : 濾胞外 B 細胞分化部位、Acute IM: 急性伝染性単核症、Persistent infection: 持続感染、Lytic viral replication: ウィルス溶解感染)

### 3) 自己反応性および、多分子反応性抗体の出現機構とその生理的・病理的役割の解明

健常人末梢血 IgG<sup>+</sup>メモリー B 細胞には、多くの多分子反応性 B 細胞が含まれている。これらの免疫グロブリン遺伝子には複数の体細胞超変異（SHM）が認められることなどから、多分子反応性 B 細胞は胚中心での親和性選択を経た可能性があるが、それらの胚中心反応を誘起する因子ははつきりとはしていない。我々の解析では、マウスにおけるマウスガンマヘルペスウイルス（MHV68）の感染で誘導される脾臓胚中心 B 細胞で多分子反応性クローニングが出現し、積極的に選択されることを明らかにした。種々の感染において、多分子反応性 B 細胞が出現する可能性と同時に、この MHV68 感染が多分子反応性 B 細胞出現機構の研究に適したモデルであることが示唆された（図2）。

ヒトにおける多分子反応性抗体と自己免疫疾患との関連を検討するために、全身性エリテマトーデス（SLE）患者における多分子反応性形質細胞の出現頻度を明らかにしたところ、健常人と同等の割合で多分子反応性クローニングを含むことから、多分子反応性 B 細胞の出現頻度と SLE 発症の間に相関はないと考えられる。しかしながら、SLE 由来の多分子反応性クローニングは、健常人のクローニングよりも自己抗原への親和性が強い可能性があり、現在解析を進めている。

一方、診断マーカーとされている抗核抗体は、急性 SLE 患者からの末梢血形質細胞にのみ高頻度（約5%）に認められた。これら抗核抗体クローニングは、Smith 抗原などのそれぞれの抗原に特異的に反応したが、多分子反応性は持たなかった。今後は、NGS（次世代シークエンサー）を駆使し、これら自己抗体の出現頻度を明確にするとともに、各クローニングの免疫グロブリン遺伝子の系統樹解析から、ヒトにおける自己反応性 B 細胞の誕生とその選択についての分子基盤を明らかにしたい。

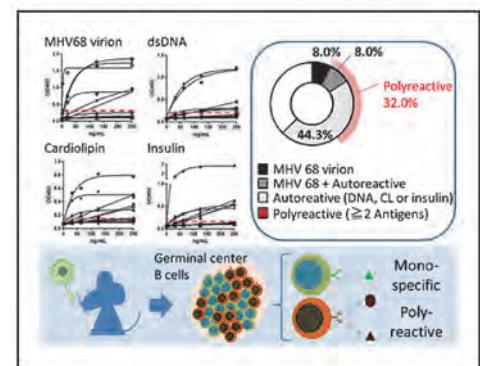


図2. MHV68 感染における脾臓 IgG+ 胚中心 B 細胞での多分子反応性クローニングの出現。MHV68 感染で誘導される脾臓胚中心反応にて、多分子反応性 B 細胞が約 30 % に頻度で出現することを、single-cell 遺伝子クローニングと ELISA による反応性プロファイル（左上；代表的な結果の例、右上；結果をまとめた円グラフ [n = 75]）にて明らかにした。この感染モデルは、多分子反応性 B 細胞出現機構の研究に適している。

### 最近の代表的な論文

1. Kumanogoh, A., and Kikutani H. Immunological functions of the neuropilin and plexin as receptors for semaphorins. *Nat Rev Immunol.* 2013 Nov;13(11):802-14.
2. Tada S, Yasui T, Nakatsuji Y, Okuno T, Koda T, Mochizuki H, Sakoda S, Kikutani H. BAFF controls neural cell survival through BAFF receptor. *PLoS One.* 2013 Jul 29;8(7):e70924.
3. Morihana T, Goya S, Mizui M, Yasui T, Prasad DV, Kumanogoh A, Tamura M, Shikina T, Maeda Y, Iwamoto Y, Inohara H, Kikutani H. An inhibitory role for Sema4A in antigen-specific allergic asthma. *J Clin Immunol.* 2013 Jan;33(1):200-9.
4. Yasui T, Sakakibara-Yada K, Nishimura T, Morita K, Tada S, Mosialos G, Kieff E, Kikutani H. Protein kinase N1, a cell inhibitor of Akt kinase, has a central role in quality control of germinal center formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Dec 18;109(51):21022-7.
5. Tada, S., Okuno T., Yasui T., Nakatsuji N., Sugimoto T., Kikutani H., and Sakoda S. Deleterious effects of lymphocytes at the early stage of neurodegeneration in an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2011 Feb 23;8(1):1

## 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  
 准教授 医学博士 前田 裕輔  
 准教授（兼） 医学博士 村上 良子

助教  
 特任助教

医学博士 田嶋 優子  
 医学博士 神澤 範行

当研究分野では、生体防御機構が関与する様々な生物学的、医学的問題を取り扱っている。とくに、GPI アンカー型タンパク質の生合成経路・輸送経路・切断遊離機構の研究、それらの異常による疾患の発症機序に関する研究、ゴルジ体の pH 調節のメカニズムと生理的意義に関する研究、近接したオルガネラ膜間の脂質やイオンの輸送を司る「膜接触部位」の構成因子の同定と機能解析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糖鎖がつながった糖脂質で、タンパク質の C 末端に結合して膜アンカーとして働く。哺乳動物では 150 種程度の GPI アンカー型タンパク質が知られており、生体防御や細胞間の情報伝達に重要なものが多くの含まれるほか、ウイルスや毒素の受容体になっているものもある。GPI アンカーの特徴は、タンパク質を脂質マイクロドメインに局在させること、アンカー部分の切断によって膜から遊離し得ること、アピカル側へ輸送されることなどである。我々は、GPI アンカーの生合成に働く PIG (Phosphatidylinositol Glycan) 遺伝子群と、GPI アンカーがタンパク質に付加された後の過程に働く PGAP (Post GPI-Attachment to Proteins) 遺伝子群の同定と機能解明に包括的に取り組んでいる（図1）。これらの研究により、多くのタンパク質が GPI によって膜にアンカーされていることの生物学的意義を明らかにしたいと考えている。

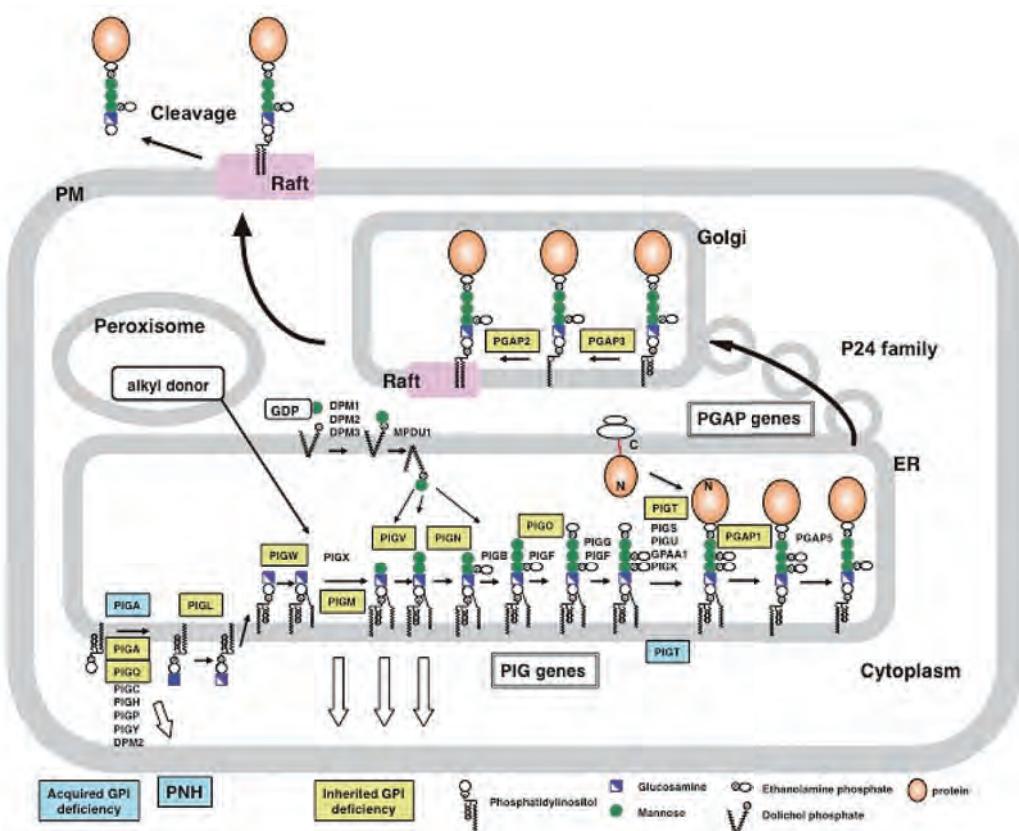


図 1 : GPI アンカー型タンパク質の生合成・輸送・切断遊離

GPI アンカー型タンパク質は、PIG 遺伝子群の働きで生合成された GPI がタンパク質に付加されてできる。その後、GPI アンカー型タンパク質は、P24 ファミリー蛋白質が関与する分泌経路によって小胞体からゴルジ体を経て細胞表面へ輸送される。その過程で、PGAP 遺伝子群の働きにより、GPI アンカーの糖鎖と脂質のそれぞれがリモデリングを受け、成熟型の GPI アンカー型タンパク質になる。一部の GPI アンカー型タンパク質は、切断酵素の働きで細胞表面から遊離する。現在までに報告されている先天性 GPI 欠損症の責任遺伝子を黄色、後天性 GPI 欠損症である PNH の責任遺伝子を水色で示す。

## 2) GPI 欠損症の発症機序に関する研究

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 (Inherited GPI deficiency, IGD) を世界で初めて報告したが、その後次世代シークエンサーを使った解析により現在までに GPI 関連遺伝子を責任遺伝子とする 12 種の IGD が見つかり、新たな疾患単位として国内外で共同研究が広がっている (図1)。GPI の完全欠損は胎生致死になるので PIG 遺伝子群が原因の場合は部分欠損症であり、GPI リモデリングに関わる遺伝子の場合には null 変異もある。責任遺伝子の種類と欠損の程度により多彩な症状を示す。てんかん、運動精神発達の障害を主症状とし、時に顔貌、手指の異常、多臓器の奇形、高アルカリホスファターゼ血症を伴う。Mabry syndrome と CHIME syndrome の主要な責任遺伝子であり、Ohtahara syndrome、West syndrome など早期発症てんかん性脳症の一部に IGD が存在することが判明している。高アルカリホスファターゼ血症とフローサイトメトリー検査により好中球の CD16 の発現低下を指標にすることが診断に有効であることが明らかになり、今後症例を集積して診断基準を制定しさらには治療法の解明をめざしている。一方後天性 GPI 欠損症である発作性夜間血色素尿症 (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で X 染色体遺伝子の PIGA に突然変異がおこり GPI 欠損細胞となった後、併発する造血幹細胞への自己免疫的機序から逃れて GPI 欠損クローンが増大し、さらに良性腫瘍性増殖を来す遺伝子変異が起こることにより病態が完成すると考えており、発症機序を明らかにすることを目指している。最近、PIGA の突然変異ではなく常染色体遺伝子 PIGT の 1 つのアリルの遺伝性変異に加えてもう一方のアリルの体細胞突然変異による PNH が見つかっている。

## 3) 細胞内酸性オルガネラの pH 調節機構ならびに膜接触部位の構成因子・機能解析

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 に保たれていて、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。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。また、この研究から派生したテーマとして、異なるオルガネラ膜が近接して脂質やイオンを輸送する場として近年注目されている「膜接触部位」の構成因子の同定・可視化による動態解析およびその機能解析にも力を入れている。

### 最近の代表的な論文

- Implication of lipid moiety in oligomerization and immunoreactivities of GPI-anchored proteins. Seong J, Wang Y, Kinoshita T, Maeda Y. *J Lipid Res.* 2013 Apr;54(4):1077-91
- Mechanism for release of alkaline phosphatase caused by glycosylphosphatidylinositol deficiency in patients with hyperphosphatasia mental retardation syndrome. Murakami Y, Kanzawa N, Saito K, Krawitz PM, Mundlos S, Robinson PN, Karadimitris A, Maeda Y, Kinoshita T. *J Biol Chem.* 2012 Feb 24;287(9):6318-25.
- Sorting of GPI-anchored proteins into ER exit sites by p24 proteins is dependent on remodeled GPI. Fujita M, Watanabe R, Jaensch N, Romanova-Michaelides M, Satoh T, Kato M, Riezman H, Yamaguchi Y, Maeda Y, Kinoshita T. *J Cell Biol.* 2011 Jul 11;194(1):61-75.
- Peroxisome dependency of alkyl-containing GPI-anchor biosynthesis in the endoplasmic reticulum. Kanzawa N, Maeda Y, Ogiso H, Murakami Y, Taguchi R, Kinoshita T. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Oct 20;106(42):17711-6.
- GPI glycan remodeling by PGAP5 regulates transport of GPI-anchored proteins from the ER to the Golgi. Fujita M, Maeda Y, Ra M, Yamaguchi Y, Taguchi R, Kinoshita T. *Cell.* 2009 Oct 16;139(2):352-65.

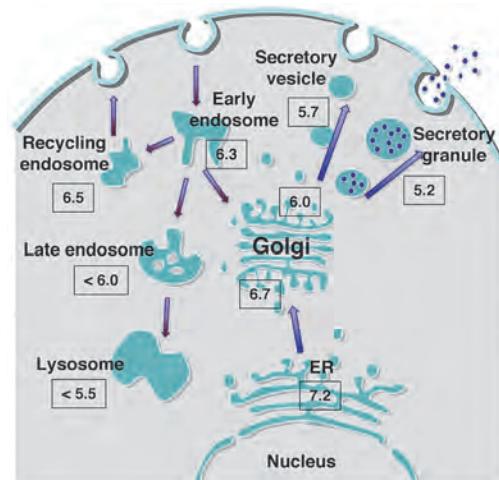


図3：細胞内オルガネラの pH 調節  
分泌経路やエンドサイトーシス経路のオルガネラ内腔はそれぞれ固有の酸性 pH に調節されている。数字はおよそその pH を示す。

## 自然免疫学分野

### 研究グループ

教授（兼） 医学博士 審良 静男  
准教授 医学博士 齊藤 達哉  
助教 医学博士 佐藤 莊

特任助教（兼） 医学博士 丸山 健太

我々は、進化的に保存された病原体に対する防御機構である自然免疫について研究を行っている。自然免疫の誘導にはパターン認識受容体が重要な役割を果たす。パターン認識受容体は、細菌・真菌・原虫・ウイルスなど幅広い病原体を認識し、サイトカインやインターフェロンなどの炎症性因子の産生を誘導する。一方で、パターン認識受容体は環境汚染物質や自己代謝物質に誤って反応し、炎症性疾患の発症要因ともなる。つまり、自然免疫は我々の身を守る、また我々の身を傷つけるという正負両方の面を持っており、感染症や炎症性疾患など様々な疾患の発症に深く関わっている。この自然免疫に関する理解を深めるため、我々はパターン認識受容体を介した自然免疫応答の制御機構の解明と自然免疫担当細胞の新たな機能の探索を行っている。

### 1. 微小管依存的な NLRP3 インフラマソームの活性化

自然免疫に関わるパターン認識受容体である NLRP3 は、情報伝達因子 ASC やプロテアーゼ Caspase-1 と共に NLRP3 インフラマソームを形成し、炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の産生を介して炎症を惹起する。尿酸結晶などの刺激性粒子による NLRP3 インフラマソームの過剰な活性化は痛風などの炎症性疾患の発症要因となるため、NLRP3 インフラマソーム活性化を阻害する化合物の同定は重要な研究課題である。我々は、化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを行い、痛風治療薬であるコルヒチンが NLRP3 インフラマソームの活性化を抑制することを見出した (Misawa T et al., *Nat Immunol*, 2013)。微小管は尿酸結晶などの刺激に応じてミトコンドリアを微小管形成中心方向へと輸送することにより、小胞体上の NLRP3 とミトコンドリア上の ASC の近接を誘導し、NLRP3 インフラマソームの活性化を促進する。コルヒチンなどのチューブリン重合阻害剤は、微小管依存的に誘導される小胞体とミトコンドリアの近接を介した NLRP3 インフラマソームの活性化を抑制する。尿酸結晶などの刺激性粒子は、ミトコンドリアの損傷を引き起こすため、細胞内 NAD $^+$  が減少して NAD $^+$  依存性の  $\alpha$ -チューブリン脱アセチル化酵素である SIRT2 の活性が低下する。SIRT2 の活性低下はアセチル化  $\alpha$ -チューブリンを増加させるため、ダイニン依存的なミトコンドリアの輸送を介した NLRP3 と ASC の近接が誘導される。損傷ミトコンドリア由来の活性酸素種は、NLRP3 インフラマソームの直接的な活性化を誘導するが、NLRP3 と ASC の近接には影響を与えない。これらの解析から、NLRP3 を活性酸素種が直接的に活性化する経路に加えて、NLRP3 から ASC への情報伝達を行うための場を整える微小管依存的な経路が NLRP3 インフラマソームの活性化に関わることが明らかとなった。(図 1)

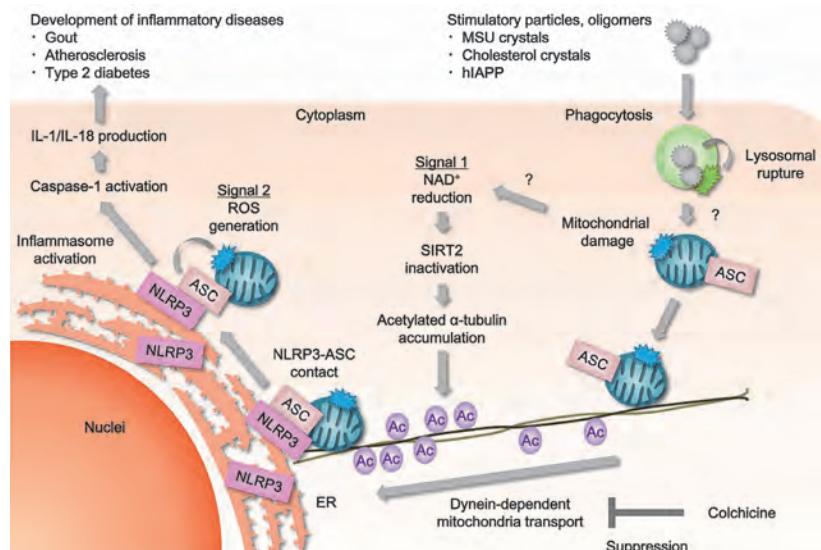


図 1. NLRP3 インフラマソームの活性化

### 2. 合成 2 本鎖 RNA が有する免疫制御作用におけるカテーテシン D の関与

自然免疫担当細胞の一つ樹状細胞は、パターン認識受容体を介してサイトカイン産生や共刺激分子発現を誘導し、最終的に T 細胞の活性化や抗体産生といった獲得免疫を成立させるいわば自然免疫と獲得免疫の橋渡しの役割を果たす細胞である。我々は、ウイルス RNA を模倣する合成 2 本鎖 RNA (dsRNA) である Poly IC による樹状細胞の活性化に関する解析を行い、Poly IC により誘導される一部の樹状細胞の細胞死が、周囲の樹状細胞の活性化に深く関与することを見出した (Zou J et al., *Immunity*, 2013)。樹状細胞においては、dsRNA を認識する RIG-I-like receptors およびアダプター因子 IPS-1 を介したシグナル伝達経路が自然免疫応答の誘導に重要な役割を果たす。Cathepsin D は本来リソソーム内に局在する分解酵素であるが、Poly I:C を取り込んだ樹状細胞においてはリソソーム

ムの膜が損傷するために、Cathepsin D がリソソームから漏出する。細胞質に流入した Cathepsin D は、IPS-1 と結合することにより、Poly IC により誘導される自然免疫応答を促進する。また、Cathepsin D は細胞死を誘導することで、核酸結合因子の一つ HMGB1 の放出を促す。死細胞から放出された HMGB1 と Poly IC は複合体を形成し、効率よく周囲の樹状細胞に取り込まれることで、自然免疫応答をさらに活性化する。Poly IC は、樹状細胞においてこのポジティブループを誘導することにより獲得免疫の活性化を強く促進するため、強力なワクチンアジュバントとして働く。(図 2)

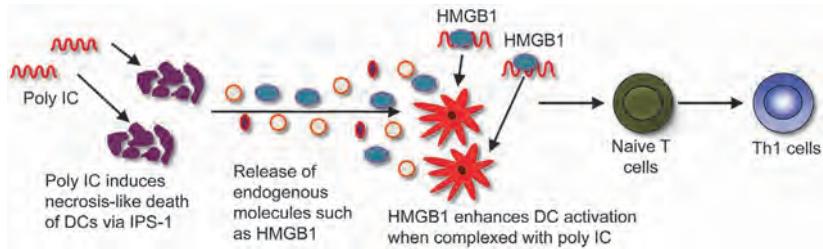


図 2. Poly IC による樹状細胞の活性化

### 3. 脂肪組織の維持に関わるマクロファージの新たな役割

マクロファージは、M1 と M2 という少なくとも 2 つのグループから構成されている。M1 マクロファージは炎症応答を惹起し、細菌やウイルス感染に対する宿主防御において中心的な役割を担っている。一方で、M2 マクロファージは抗炎症応答や組織再生などに関与すると考えられている。我々は、M2 マクロファージの一種である組織常在型マクロファージ (M2 様マクロファージと名付けた) の分化に必須の遺伝子として、Trib1 を同定した (Satoh T et al., *Nature*, 2013)。ヒトのゲノムワイド関連解析から脂質代謝に関わることが示唆されている Trib1 は、ユビキチンリガーゼである COP1 と相互作用することによってタンパク質分解に関与する分子である。血液系の細胞において Trib1 を欠損したマウス (Trib1 欠損キメラマウス) では、骨髄、脾臓、肺および脂肪組織といった様々な抹消組織で M2 様マクロファージが著しく減少する。この組織常在性の M2 様マクロファージの減少は、Trib1 欠損に起因する転写因子 C/EBP $\alpha$ の過剰蓄積により引き起こされる。Trib1 欠損キメラマウスは、通常の食事を与えて飼育している環境において、脂肪分解が亢進して脂肪細胞自体の大きさが萎縮する。重要なことに、この変異マウスに野生型マウスより調整した M2 様マクロファージを移植するとこの病態が回復する。また、高脂肪食を与えて飼育した Trib1 欠損キメラマウスは、高トリグリセリド血症やインスリン抵抗性などのメタボリックシンドロームの病態を発症した。これらの解析から、Trib1 および C/EBP $\alpha$ により分化が制御されている組織常在型 M2 様マクロファージが脂肪組織の維持とメタボリックシンドロームの抑制に深く関わることが明らかとなった。(図 3)

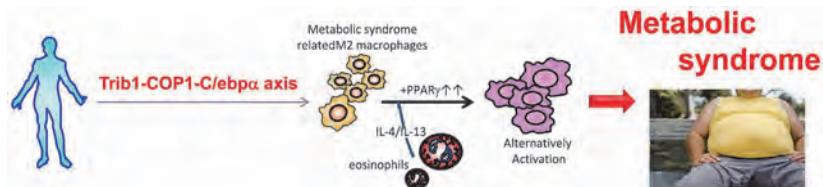


図 3. M2 様マクロファージの役割

自然免疫の包括的理と免疫関連疾患の治療法開発というゴールを目指して、今後は研究をさらに発展させていきたい。

### 最近の代表的な論文

- Uehata T, Iwasaki H, Vandenbon A, Matsushita K, Hernandez-Cuellar E, Kuniyoshi K, Satoh T, Mino T, Suzuki Y, Standley DM, Tsujimura T, Rakugi H, Isaka Y, Takeuchi O, Akira S. Malt1-induced cleavage of regnase-1 in CD4 (+) helper T cells regulates immune activation. *Cell*. 2013 May 23;153(5):1036-49.
- Misawa T, Takahama M, Kozaki T, Lee H, Zou J, Saitoh T, Akira S. Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome. *Nat Immunol*. 2013 May;14(5):454-60.
- Zou J, Kawai T, Tsuchida T, Kozaki T, Tanaka H, Shin KS, Kumar H, Akira S. Poly IC triggers a cathepsin D- and IPS-1-dependent pathway to enhance cytokine production and mediate dendritic cell necroptosis. *Immunity*. 2013 Apr 18;38(4):717-28.
- Satoh T, Kidoya H, Naito H, Yamamoto M, Takemura N, Nakagawa K, Yoshioka Y, Morii E, Takakura N, Takeuchi O, Akira S. Critical role of Trib1 in differentiation of tissue-resident M2-like macrophages. *Nature*. 2013 Mar 28;495(7442):524-8.
- Maruyama K, Fukasaka M, Vandenbon A, Saitoh T, Kawasaki T, Kondo T, Yokoyama KK, Kidoya H, Takakura N, Standley D, Takeuchi O, Akira S. The transcription factor Jdp2 controls bone homeostasis and antibacterial immunity by regulating osteoclast and neutrophil differentiation. *Immunity*. 2012 Dec 14;37(6):1024-36.

## 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 芳田 智也

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。

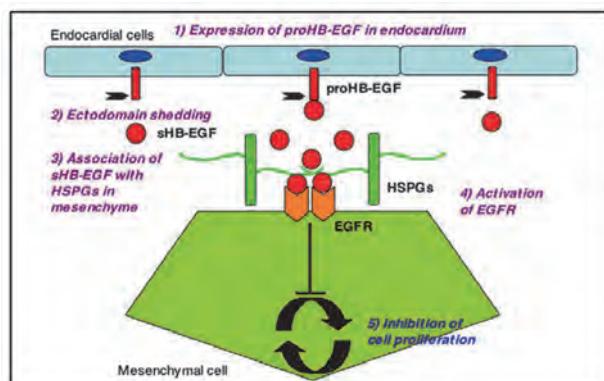
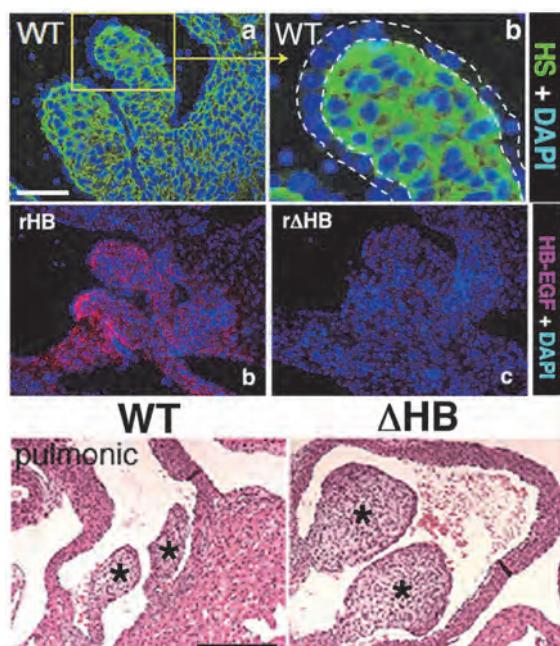


図1 心臓弁形成における HB-EGF の役割

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（左上図）。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（△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。

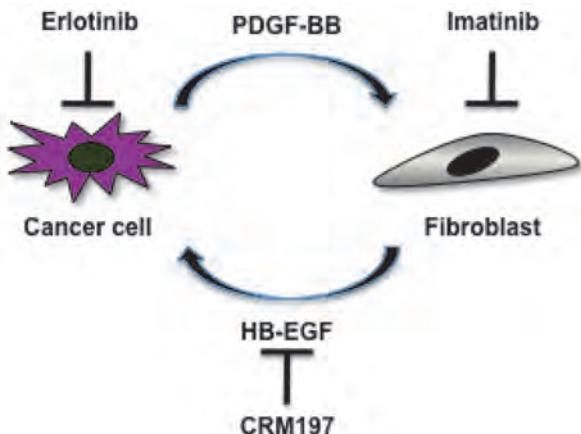


図2 子宮頸癌における癌細胞と間質線維芽細胞の相互作用

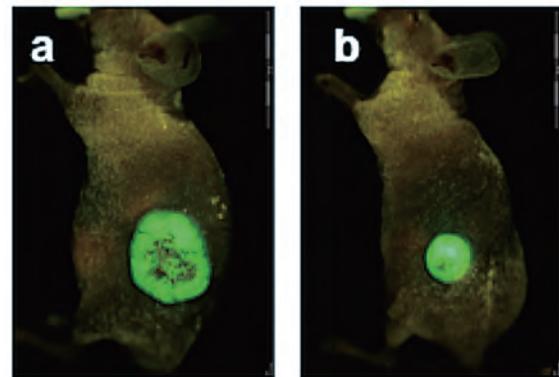


図3 生体イメージングによる癌細胞の増殖に対する線維芽細胞の効果解析。(a) 癌細胞と線維芽細胞を同時移植した場合、(b) 癌細胞を単独で移植した場合 (Murata et al, 2011)。

## 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。

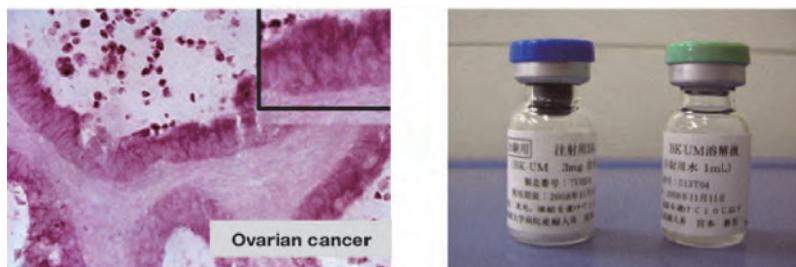


図4 卵巣癌で高発現する HB-EGF(左)と開発中の卵巣癌治療薬 BK-UM(右)

## 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。

### 最近の代表的な論文

- Moribe H, Konakawa R, Koga D, Ushiki T, Nakamura K, Mekada E. Tetraspanin is required for generation of reactive oxygen species by the dual oxidase system in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet.* 2012 Sep;8(9):e1002957.
- 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.

## 免疫化学分野

### 研究グループ

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

特任研究員 医学博士 斎藤 史路

当研究分野では、病原体と免疫システムとの相互作用から自己免疫疾患の発症機序まで免疫現象を幅広く研究している。特に、免疫細胞の発現する抑制化レセプターと活性化レセプターからなるペア型レセプターが病原体と共に進化してきた免疫制御レセプターではないかとの仮説のもとで、ペア型レセプターとウイルス、細菌、マラリア原虫等の病原体との相互作用の解析を研究している。また、自己免疫疾患は何らかの感染によって誘発されることが多いことから、病原体の感染がどのように免疫システムの恒常性破綻に関与しているかについて研究している。

### (1) ペア型レセプターによる免疫制御機構の解明

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。我々は、ペア型レセプターの中にはウイルス分子を認識するものがあり、ペア型レセプターが病原体に対する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てきた。そこで当分野では、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、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って、ペア型レセプターを介した免疫応答制御機構や宿主病原体相互作用を研究している。

### (2) ウィルスの細胞内侵入機構の解明

持続感染をするウィルスには、抑制化レセプターのリガンドを発現し免疫応答を抑制しているものがある。興味深いことに、抑制化レセプターとの相互作用を用いて宿主細胞に侵入するウィルスも存在することが明らかになってきた（図2）。特に、ウィルス側からの解析では解明が難し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明らかになってきた。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している。

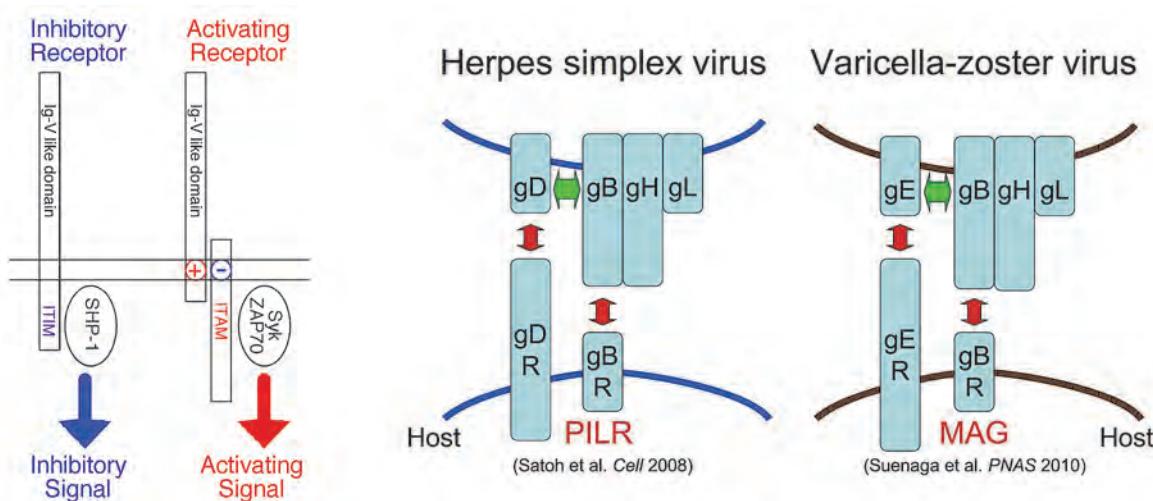


図1 ペア型レセプター  
抑制化レセプターは免疫応答の制御に重要な機能を担う一方 (Wang et al. *Nat. Immunol.* 2013)、病原体は抑制化レセプターを利用した免疫逃避機構を獲得してきた。一方、活性化レセプターはそのような病原体に対する抵抗性を担う分子と考えられる。

図2 ペア型レセプターを介したウィルス感染機構  
PILR $\alpha$ や Siglec (MAG) といったペア型レセプターの中には、単純ヘルペスウィルス (herpes simplex virus) や水痘帯状疱疹ウイルス (varicella-zoster virus) のウイルスエンベロープ分子と会合することによって、ウイルス感染時の膜融合に関わっているものが存在する (Satoh et al. *Cell* 2008; Suenaga et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010)。

### (3) 自己免疫疾患の発症機序の解明

自己免疫疾患は、自己組織に対して免疫応答が起こる疾患であり、自己免疫疾患の原因遺伝子として主要組織適合抗原(Major Histocompatibility Complex (MHC))、特に、MHC クラス II がもっとも疾患感受性に関わっている。MHC 分子はペプチド抗原を T 細胞に提示するのが主要な機能であり、自己免疫疾患の原因是 T 細胞応答の異常ではないかと長年考えられてきた。しかし、自己免疫疾患を引き起こすペプチド抗原を含めて、MHC がどのように自己免疫疾患の発症に関わるかは依然として明らかでない。我々は、MHC クラス II 分子が小胞体内のミスフォールド蛋白質と結合すると、分子シャベロンとしてそれらを分解させずに細胞外へ輸送することを明らかにした。さらに、多くの自己免疫疾患に認められる自己抗体が、自己免疫疾患に感受性の MHC クラス II 分子に提示されたミスフォールド蛋白質を特異的に認識することを見出した。これらのことから、異常な分子複合体であるミスフォールド蛋白質／MHC クラス II 分子複合体が自己免疫疾患の標的分子として発症に関わっているという新たな自己免疫疾患の発症機序が考えられた(図3)。実際、自己免疫疾患は感染等の炎症によって誘発され、自己免疫疾患の標的臓器では MHC クラス II 分子の異常発現が認められる。そこで、本研究室では、ミスフォールド蛋白質／MHC クラス II 分子複合体がどのように形成され、自己免疫疾患の発症に関わるかを解明することによって、自己免疫疾患の発症機序を研究している。

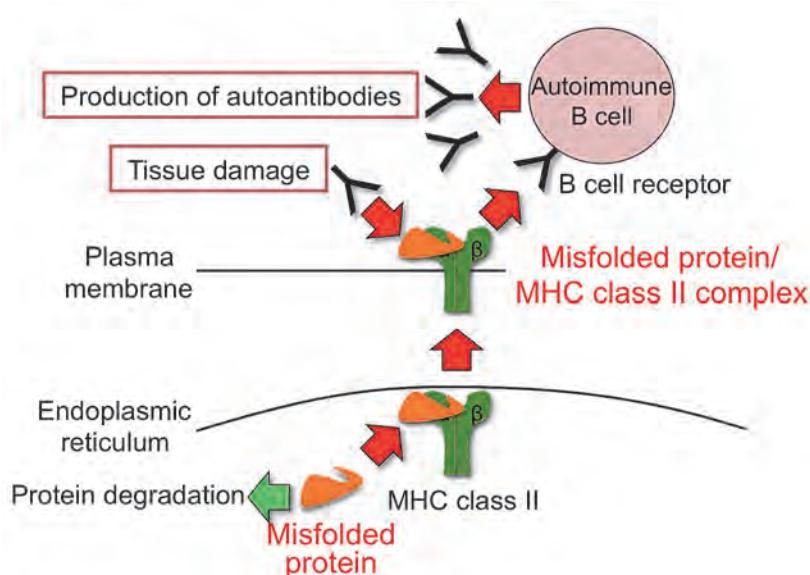


図3 ミスフォールド蛋白質／MHC クラス II 分子複合体による新たな自己免疫疾患発症機序  
細胞内のミスフォールド蛋白質は MHC クラス II 分子と会合すると、MHC クラス II 分子によって分解されないまま細胞表面に輸送される (Jiang et al. *Int. Immunol.* 2013)。さらに、それが自己抗体の標的として自己免疫疾患の発症に関与している (Jin et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014)。

### 最近の代表的な論文

1. Autoantibodies to IgG/HLA-DR complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility.  
Jin H, Arase N, Hirayasu K, Kohyama M, Suenaga T, Saito F, Tanimura K, Matsuoka S, Ebina K, Shi K, Toyama-Sorimachi N, Yasuda S, Horita T, Hiwa R, Takasugi K, Ohmura K, Yoshikawa H, Saito T, Atsumi T, Sasazuki T, Katayama I, Lanier LL, Arase H. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014 Mar; 111(10): 3787-92.
2. Herpesvirus 6 Glycoproteins B (gB), gH, gL and gQ are Necessary and Sufficient for Cell-to-Cell Fusion.  
Tanaka Y, Suenaga T, Matsumoto M, Seya T, Arase H. *J Virol.* 2013 Oct; 87 (19): 10900-3.
3. Transport of misfolded endoplasmic reticulum proteins to the cell surface by MHC class II molecules.  
Jiang Y, Arase N, Kohyama M, Hirayasu K, Suenaga T, Jin H, Matsumoto M, Shida K, Lanier LL, Saito T, Arase H. *Int Immunol.* 2013 Apr; 25(4): 235-46.
4. Neutrophil infiltration during inflammation is regulated by PILR $\alpha$  via modulation of integrin activation.  
Wang J, Shiratori I, Uehori J, Ikawa M, Arase H. *Nat Immunol.* 2013 Jan; 14(1): 34-40.
5. Myelin-associated glycoprotein mediates membrane fusion and entry of neurotropic herpesviruses.  
Suenaga T, Satoh T, Somboonthum P, Kawaguchi Y, Mori Y, and Arase H. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010 Jan; 107(2): 866-71.

## 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 向井 智美

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に的を絞って解析している。これら2つのテーマは Mdm2 や p53 を介して互いに密接に連繋している（図1）。

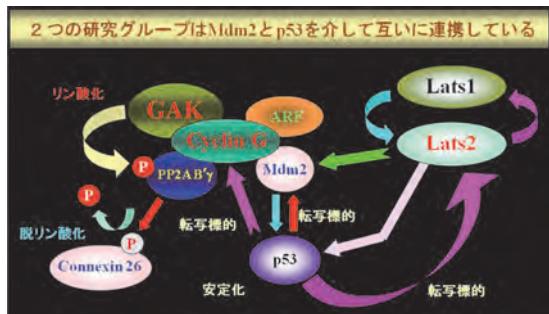


図1：Lats グループと GAK グループは互いに連繋している。

### (1) Lats (Large tumor suppressor) グループ

Lats1, Lats2 は種間で保存された中心体に局在する類似なキナーゼである (Toji *et al.*, Genes Cells, 2004)。Lats1/2 は器官サイズを制御する Hippo pathwayにおいて転写因子YAP/TAZを抑制することで細胞増殖停止とアポトーシスを促進する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 (Yabuta *et al.*, J. Biol. Chem., 2007)。**③** Lats1 の N 末端（非キナーゼ）領域を欠損させたマウス (*Lats1*<sup>ΔN/ΔN</sup>) から樹立した MEF は Lats2 の発現低下と下流因子 YAP の挙動異常を示した。さらに、染色体分配異常や細胞質分裂の失敗を引き起こし、足場非依存性増殖能を獲得した（論文4；図2,3）。これらの結果は、Lats2 と Lats1 が細胞増殖の制御や、正常な M 期進行の制御を介して染色体を安定に保つために必須なキナーゼであることを示唆している。**④** 我々は Lats2 が制御する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 の形成を制御する (Okada *et al.*, J. Cell Sci., 2011) 一方で、**⑤** 修復不能な DNA 損傷を受けると Lats2 の活性は自己リン酸化により上昇し、p21<sup>CDKN1A</sup> の特異的な部位をリン酸化して不安定化させることにより Caspase に依存したアポトーシスを誘導することを見出した（論文2；図4）。他方、**⑥** 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中央纺锤体上に局在し 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 (Yabuta *et al.*, Cell Cycle, 2011)。さらに、**⑦** 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 (Aylon *et al.*, Genes Dev., 2010)、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 (Zhang *et al.*, EMBO J., 2012)。

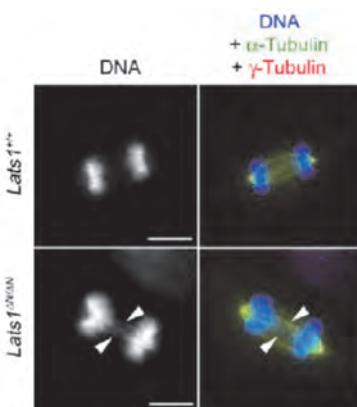


図2：*Lats1*<sup>ΔN/ΔN</sup>MEF は染色体の分配異常を引き起こす（矢印）。

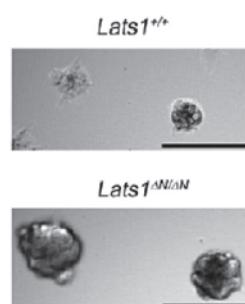


図3：*Lats1*<sup>ΔN/ΔN</sup>MEF は足場非依存性増殖能を有する。

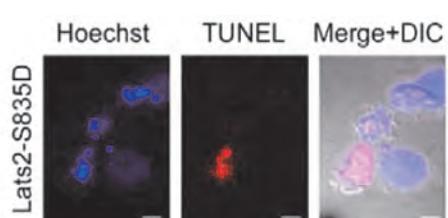


図4：Lats2 の自己リン酸化（活性化）はアポトーシスを引き起こす（赤色）。

## (2) GAK (cyclin G-associated kinase) 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（エンドサイドトーシス）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。**①**GAK は PP2A B'γ および 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（論文 5；図 5）。**②**GAK 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、M 期において中心体成熟と染色体凝縮・整列を制御している (Shimizu *et al.*, *J. Cell Sci.*, 2009)。**③**GAK 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 (Tabara *et al.*, *PLoS One*, 2011；図 6)。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。一方で、**④**Cyclin G2 の KO マウス (*Ccng2*<sup>-/-</sup>) は正常に生まれ健全に発育したが、その MEF に放射線を照射して DNA 損傷を与えると、DNA 損傷応答の解除 ( $\gamma$ H2AX の脱リン酸化) に遅延が認められた（論文 3；図 7）。この結果は、DNA 修復後に Cyclin G2 が PP2A を  $\gamma$ H2AX へと運び脱リン酸化させるリクルーターとして機能し、修復完了時に DNA 損傷応答を適切に解除して正常な状態に戻す重要な役割を担っていることを示唆している。

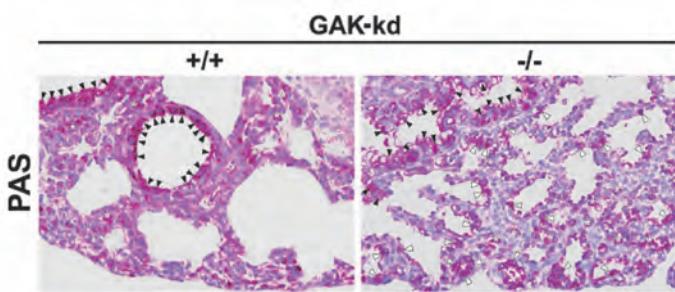


図 6 : GAK のキナーゼ欠損はマウス胎仔期の肺機能の成熟に異常を来す。

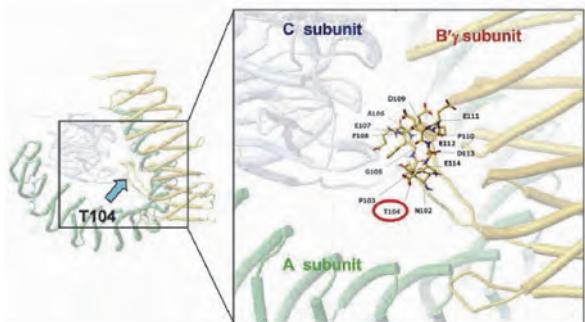


図 5 : GAK によるリン酸化部位 T104 は B'γ のループ 2 に位置し、活性制御に重要であることが示唆される。

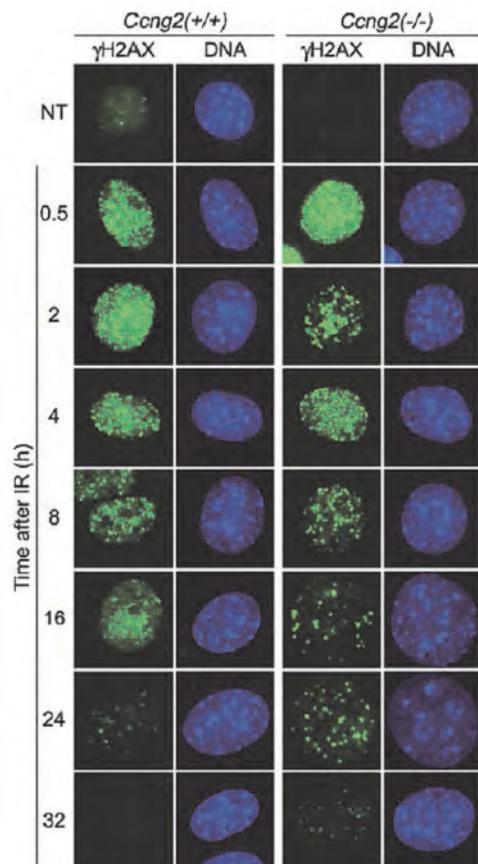


図 7 : Cyclin G2 欠損細胞では放射線 (IR) 放射直後にリン酸化された H2AX ( $\gamma$ H2AX : 緑色) の脱リン酸化が遅延する (24h, 32h)。

## 最近の代表的な論文

- Shao D, Zhai P, Del Re DP, Sciarretta S, Yabuta N, Nojima H, Lim DS, Pan D, Sadoshima J. A functional interaction between Hippo-YAP signalling and FoxO1 mediates the oxidative stress response. *Nat Commun.* 2014 Feb 14;5:3315.
- Suzuki H, Yabuta N, Okada N, Torigata K, Aylon Y, Oren M, Nojima H. Lats2 phosphorylates p21/CDKN1A after UV irradiation and regulates apoptosis. *J Cell Sci.* 2013 Oct 1;126(Pt 19):4358-68.
- Naito Y, Yabuta N, Sato J, Ohno S, Sakata M, Kasama T, Ikawa M, Nojima H. Recruitment of cyclin G2 to promyelocytic leukemia nuclear bodies promotes dephosphorylation of  $\gamma$ H2AX following treatment with ionizing radiation. *Cell Cycle.* 2013 Jun 1;12(11):1773-84.
- Yabuta N, Mukai S, Okamoto A, Okuzaki D, Suzuki H, Torigata K, Yoshida K, Okada N, Miura D, Ito A, Ikawa M, Okabe M, Nojima H. N-terminal truncation of Lats1 causes abnormal cell growth control and chromosomal instability. *J Cell Sci.* 2013 Jan 15;126(Pt 2):508-20.
- Naito Y, Shimizu H, Kasama T, Sato J, Tabara H, Okamoto A, Yabuta N, Nojima H. Cyclin G-associated kinase regulates protein phosphatase 2A by phosphorylation of its B'γ subunit. *Cell Cycle.* 2012 Feb 1;11(3):604-16.

## 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

「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の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。

### 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）。現在、c-Src 活性化による miRNA 発現の制御機構の解析を進めている。

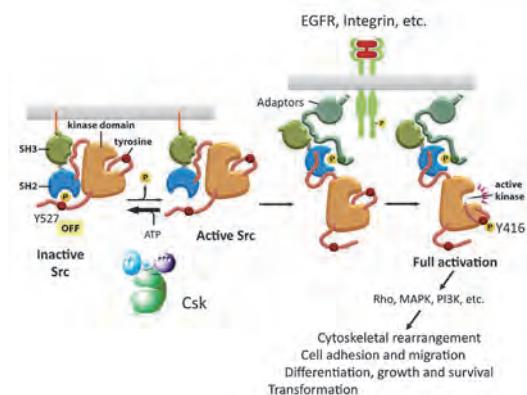


図 1. c-Src の機能と活性制御機構

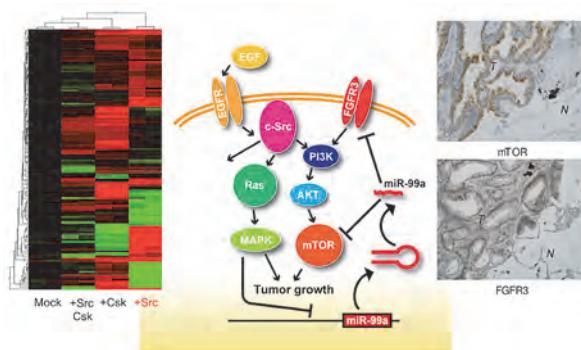


図 2. miRNA を介する Src によるがん形質発現制御機構

### 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/MPI 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。

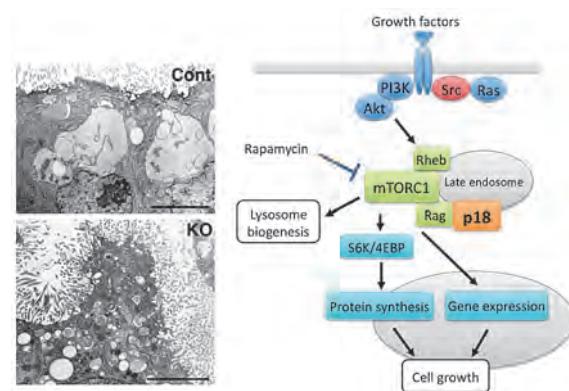


図3. 新たな後期エンドソーム膜アダプター蛋白質 p18 の機能

### 最近の代表的な論文

- 1 : Nada S, Mori S, Takahashi Y, Okada M. p18/LAMTOR1: a late endosome/lysosome-specific anchor protein for the mTORC1/MAPK signaling pathway. *Methods Enzymol.* 2014;535:249-63
- 2 : Soma-Nagae T, Nada S, Kitagawa M, Takahashi Y, Mori S, Oneyama C, Okada M. The lysosomal signaling anchor p18/LAMTOR1 controls epidermal development by regulating lysosome-mediated catabolic processes. *J Cell Sci.* 2013 Aug 15;126(Pt 16):3575-84.
- 3 : Kajiwara K, Yamada T, Bamba T, Fukusaki E, Imamoto F, Okada M, Oneyama C. c-Src-induced activation of ceramide metabolism impairs membrane microdomains and promotes malignant progression by facilitating the translocation of c-Src to focal adhesions. *Biochem J.* 2014 Feb 15;458(1):81-93
- 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 瑛路  
特任研究員 医学博士 山川 大史  
特任研究員 医学博士 賈 維臻  
特任研究員 医学博士 若林 卓

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

### I. 正常組織およびがん組織における血管リモデリングの分子機序の解明

- 1) 発芽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) 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パターニングの解明 (ephrinB2/EphB4, apelin/APJ)
- 4) 血管制御による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

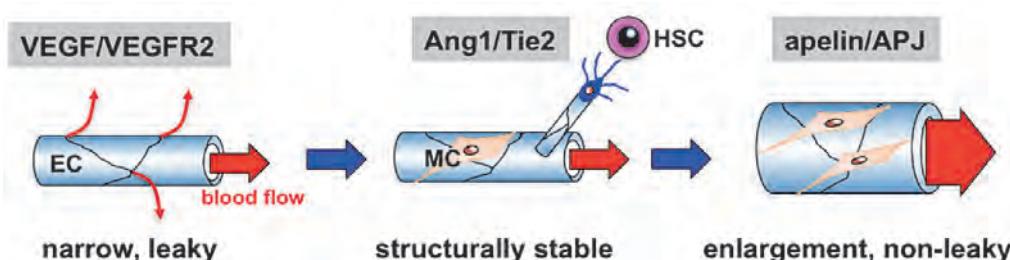


図1 血管の成熟化機構

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。我々は壁細胞(MC)が分泌する angiopoietin-1 (Ang1) は血管内皮—壁細胞間接着を誘導して構造的に安定な血管形成を誘導する概念を導きだした (Takakura, *Immunity* 1998)。また造血幹細胞(HSC)由来 Ang1 は血管新生を誘導しつつ (Takakura, *Cell* 2000)、新生血管の透過性を抑制することを見いたした (Yamada, *J Exp Med* 2006)。血管新生の過程で内皮細胞上の Tie2 の活性化により apelin が分泌され、血管径の太い、透過性の抑制された血管が形成される (Kidoya, *EMBO J* 2008, *Blood* 2000)。そして apelin を腫瘍で過剰に発現させると、腫瘍血管が成熟化し、薬剤送達性を改善するなど、他の癌治療の効果を高めることを見いたした (Kidoya, *Oncogene* 2012)。

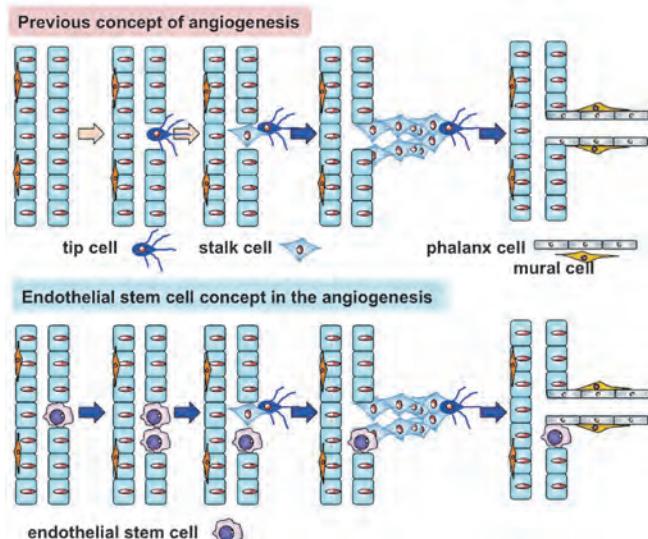


図2 血管新生と血管内皮幹細胞

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を発見したことに立脚し (Naito, *EMBO J* 2012), 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。

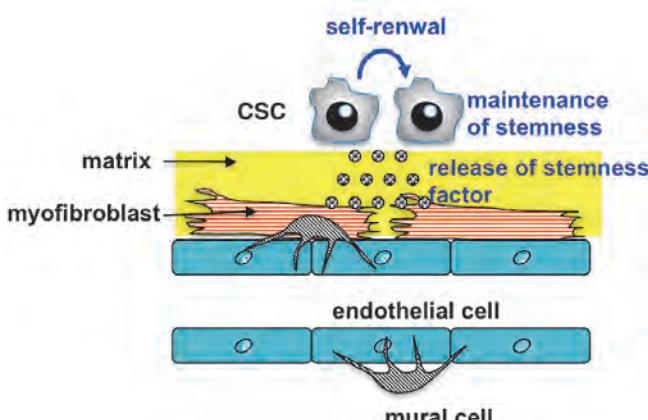


図3 がん幹細胞の血管ニッチ

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 (Nagahama, *Cancer Res* 2010)、CSC が腫瘍内成熟血管を生態学的適所（ニッチ）としていることを解明した (Matsui, *Am J Pathol* 2013)。そして血管ニッチにおける、がん幹細胞の幹細胞性維持に CD44 が関与していることを見いだした (Kinugasa, *Stem Cells* 2014)。

## 最近の代表的な論文

- CD44 expressed on cancer-associated fibroblasts is a functional molecule supporting the stemness and drug resistance of malignant cancer cells in the tumor microenvironment. Kinugasa Y, Matsui T, Takakura N. *Stem Cells*. 2014 Jan;32(1):145-56.
- microRNA-125b inhibits tube formation of blood vessels through translational suppression of VE-cadherin. Muramatsu F, Kidoya H, Naito H, Sakimoto S, Takakura N. *Oncogene*. 2013 Jan 24;32(4):414-21.
- A role for endothelial cells in promoting the maturation of astrocytes through the apelin/APJ system in mice. Sakimoto S, Kidoya H, Naito H, Kamei M, Sakaguchi H, Goda N, Fukamizu A, Nishida K, Takakura N. *Development*. 2012 Apr;139(7):1327-35.
- Identification and characterization of a resident vascular stem/progenitor cell population in preexisting blood vessels. Naito H, Kidoya H, Sakimoto S, Wakabayashi T, Takakura N. *EMBO J*. 2012 Feb 15;31(4):842-55.
- The apelin/APJ system induces maturation of the tumor vasculature and improves the efficiency of immune therapy. Kidoya H, Kunii N, Naito H, Muramatsu F, Okamoto Y, Nakayama T, Takakura N. *Oncogene*. 2012 Jul 5;31(27):3254-64.

## 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（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) 細胞内マグネシウムの制御とシグナル伝達制御、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。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. 1)。

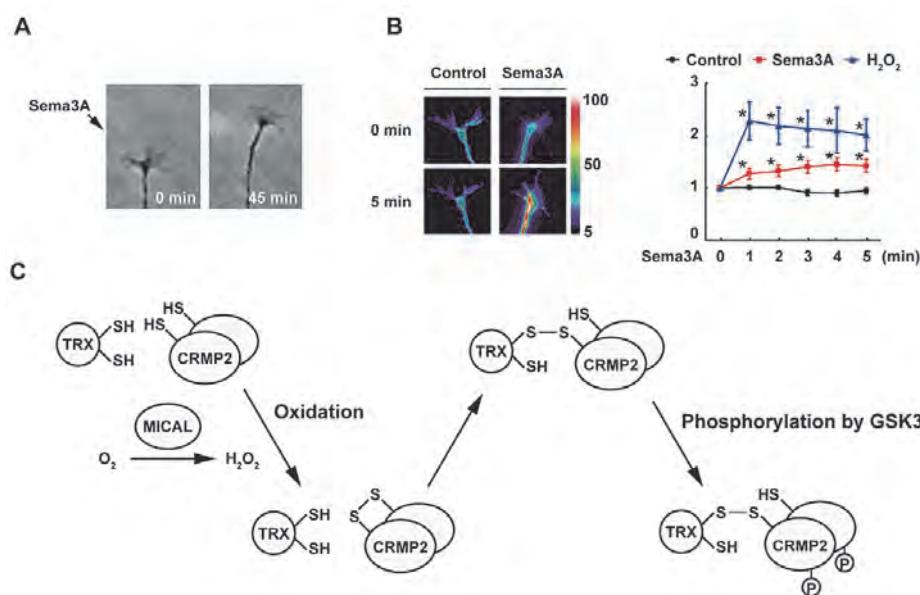


Fig. 1: CRMP2 oxidation in Semaphorin signaling

(A) Repulsive guidance of axons by Semaphorin 3A (Sema3A). (B) Increase of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in growth cones of neurons by Sema3A. (C) Schematic illustration of the mechanism of Semaphorin signaling via CRMP2 oxidation. Sema3A stimulation generates  $\text{H}_2\text{O}_2$  and oxidizes CRMP2. Oxidized CRMP2 transiently forms protein complexes with TRX, which induces CRMP2 phosphorylation by GSK3.

## (2) 細胞内マグネシウムの制御とシグナル伝達制御

細胞内で S-S 結合を作る蛋白質として、チロシンホスファターゼドメインを持つ機能未知分子 PRL を見つけた。PRL は悪性度の高いがんで高発現しており、がん転移を促すことが知られている。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  $Mg^{2+}$  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た。この結合は PRL の酸化還元状態依存性に起こっており、PRL は細胞内マグネシウム量を調節していることが明らかとなった。また、個体レベルにおいて、内在性 MagEx は腸の上皮細胞に強く発現しており、その細胞膜の基側部に局在していた。MagEx の遺伝子欠損マウスを作製したところ、腸からのマグネシウム吸収が大きく妨げられていた。さらに、MagEx は歯のエナメル質を作る上皮細胞（エナメル芽細胞）にも強く発現し、MagEx 遺伝子欠損マウスではエナメル質形成不全が生じていた (Fig. 2)。MagEx による  $Mg^{2+}$  排出が全身や局所におけるマグネシウム量の適切な制御に重要であり、その異常がさまざまな疾患の原因になっていることが明らかになってきた。

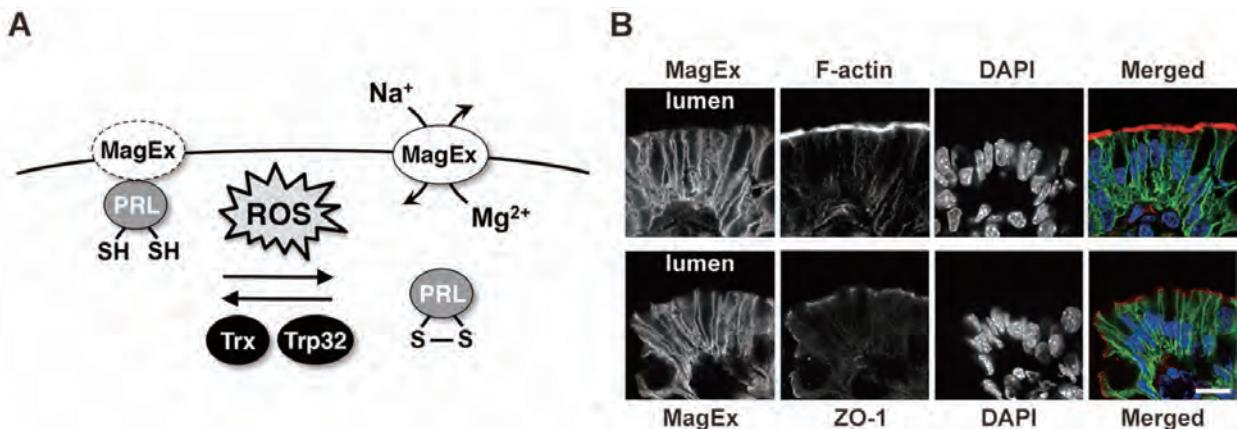


Fig. 2: Redox regulation of the intracellular  $Mg^{2+}$  level by MagEx  
(A) MagEx stimulates  $Na^+$ / $Mg^{2+}$ -exchange and decreases the intracellular  $Mg^{2+}$  level. PRL directly binds to MagEx and inhibits its  $Mg^{2+}$ -transporting function in a manner dependent on its redox state. Oxidized PRL is reversibly reduced by S-S bond-reducing enzymes, such as Trx and Trp32. (B) Localization of endogenous MagEx at the basolateral membrane of the epithelial cells in the intestine.

## 最近の代表的な論文

- Basolateral  $Mg^{2+}$  extrusion via CNNM4 mediates transcellular  $Mg^{2+}$  transport across epithelia: a mouse model. Yamazaki D, Funato Y, Miura J, Sato S, Toyosawa S, Furutani K, Kurachi Y, Omori Y, Furukawa T, Tsuda T, Kuwabata S, Mizukami S, Kikuchi K, Miki H. *PLoS Genet.* 2013 Dec;9(12):e1003983.
- Oligomeric peroxiredoxin-I is an essential intermediate for p53 to activate MST1 kinase and apoptosis. Morinaka A, Funato Y, Uesugi K, Miki H. *Oncogene.* 2011 Oct 6;30(40):4208-18.
- Thioredoxin mediates oxidation-dependent phosphorylation of CRMP2 and growth cone collapse. Morinaka A, Yamada M, Itofusa R, Funato Y, Yoshimura Y, Nakamura F, Yoshimura T, Kaibuchi K, Goshima Y, Hoshino M, Kamiguchi H, Miki H. *Sci Signal.* 2011 Apr 26;4(170):ra26.
- Nucleoredoxin sustains Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by retaining a pool of inactive dishevelled protein. Funato Y, Terabayashi T, Sakamoto R, Okuzaki D, Ichise H, Nojima H, Yoshida N, Miki H. *Curr Biol.* 2010 Nov 9;20(21):1945-52.
- Par1b/MARK2 phosphorylates kinesin-like motor protein GAKIN/KIF13B to regulate axon formation. Yoshimura Y, Terabayashi T, Miki H. *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  
 特任教授 医学博士 木村 英作  
 特任准教授 博士(工学) ニリアン・マリー・パラックパック・ケリヘロ

助教 博士(理学) 有末 伸子  
 助教 博士(医学) 東岸 任弘  
 特任研究員 博士(理学) 八木 正典  
 特任研究員 Ph.D ジョティスワラ・レディ・エデウラ

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。

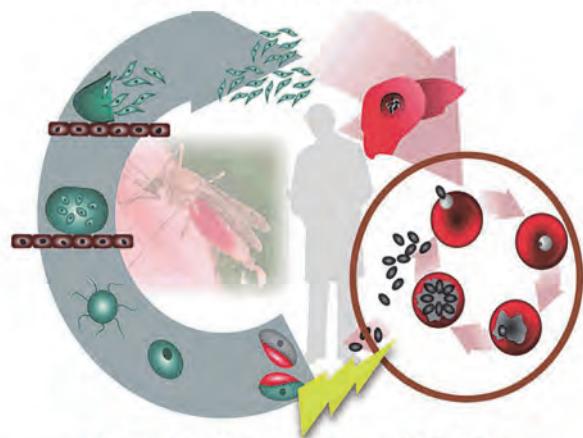
### (1) 組換え SERA 蛋白質によるマラリアワクチンの開発

我々はこれまでに熱帯熱マラリア原虫の SERA5(Serine Repeat Antigen, 120kD) 抗原分子に着目してワクチン開発を進めてきた(文献1,2)。ウガンダのマラリア高度流行地域に住む児童を対象として疫学調査を行った結果、SERA5 の N-末端ドメインに対する抗体価を持つ児童は全く発熱をしておらず、児童の血中マラリア原虫率と抗 SERA-IgG 抗体価に極めて明瞭な負の相関関係が認められた。組換え SERA5 の N-末端ドメインタンパク質、SE36、と水酸化アルミニウムゲルを混合したマラリアワクチン臨床治験製剤(BK-SE36)を(財)阪大微生物病研究会と協力して生産し、2010年から2011年にかけてウガンダにおいて140名の被験者が参加した第Ib相臨床試験を実施した。成人男女を対象としたステージ1で安全性を確認し、その後に6-20歳の若年層を対象としたステージ2でさらに安全性を確認した。これらの接種者をその後1年間にわたつてマラリア感染の状況を観察した結果、ワクチンを接種しなかった対照群に比べて72%( $p=0.003$ )の発症防御効果を確認した(文献2)。マラリアワクチンの開発を困難なものとしている主たる理由は抗原遺伝子の多型性にあるが、SERA 遺伝子は抗原変異を示さず抗原多型も極めて少なく(文献4)、広く効果が期待できる。今後さらに高次の臨床試験を実施して流行地域で利用されるワクチンの開発を進める。



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

熱帯熱マラリア原虫の生活環



抗 SE36 抗体はメロゾイトを攻撃する。

図2：SE36 マラリアワクチンによって誘導された抗 SERA 抗体によるマラリア原虫殺滅の作用点



図3：SE36 マラリアワクチン治験製剤：  
(財)阪大微生物病研究会観音寺研究所においてGMP条件を遵守して生産された。

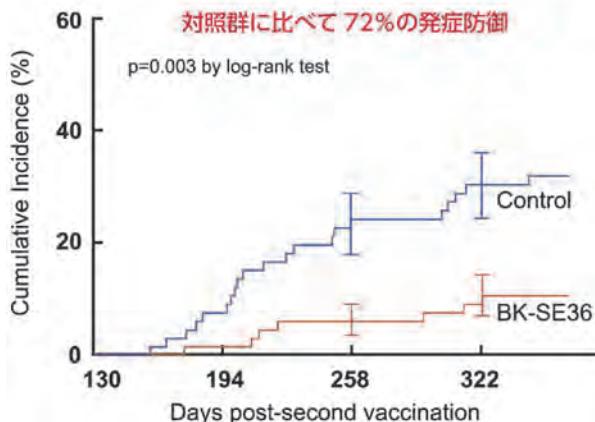
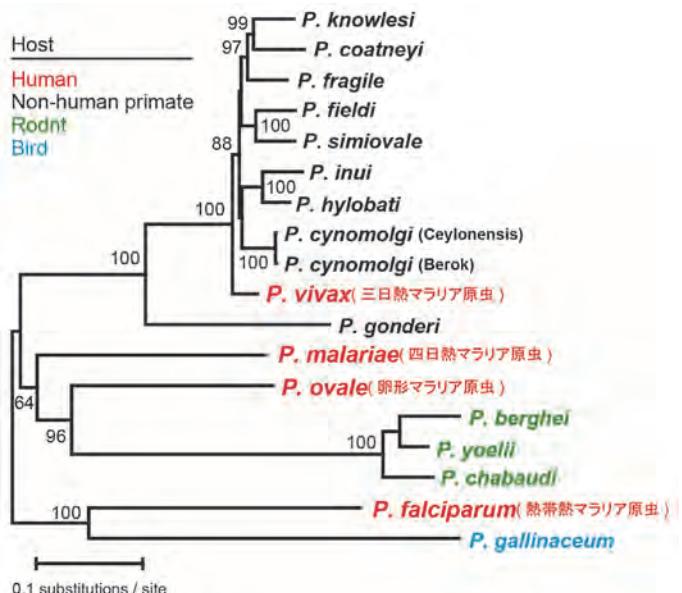


図4：Kaplan-Meierプロットによるワクチン接種群、非接種群のマラリア発症の比較

## (2) マラリア原虫の進化過程の解明

マラリア原虫は、複雑な生活環、宿主免疫応答の回避機構、宿主特異性など、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（文献4, 5）。これらの研究からの成果はワクチン開発の現場でも有效地に利用されている。

図5：アピコプラストゲノムコードの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。



## 最近の代表的な論文

- Protective epitopes of the *Plasmodium falciparum* SERA5 malaria vaccine reside in intrinsically unstructured N-terminal repetitive sequence. Yagi M, Bang G, Tougan T, Palacpac NM, Arisue N, Aoshi T, Matsumoto Y, Ishii KJ, Egwang TG, Druilhe P, Horii T. *PLoS One*. 2014 Jun 2;9(6):e98460.
- Phase 1b randomized trial and follow-up study in Uganda of the blood-stage malaria vaccine candidate BK-SE36. Palacpac NM, Ntege E, Yeka A, Balikagala B, Suzuki N, Shirai H, Yagi M, Ito K, Fukushima W, Hirota Y, Nsereko C, Okada T, Kanoi BN, Tetsutani K, Arisue N, Itagaki S, Tougan T, Ishii KJ, Ueda S, Egwang TG, Horii T. *PLoS One*. 2013 May 28;8(5):e64073.
- TLR9 adjuvants enhance immunogenicity and protective efficacy of the SE36/AHG malaria vaccine in nonhuman primate models. Tougan T, Aoshi T, Coban C, Katakai Y, Kai C, Yasutomi Y, Ishii KJ, Horii T. *Hum Vaccin Immunother*. 2013 Jan 4;9(2):283-90.
- Geographic differentiation of polymorphism in the *Plasmodium falciparum* malaria vaccine candidate gene SERA5. 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. *Vaccine*. 2012 Feb 21;30(9):1583-93.
- The *Plasmodium* apicoplast genome: conserved structure and close relationship of *P. ovale* to rodent malaria parasites. Arisue N, Hashimoto T, Mitsui H, Palacpac NM, Kaneko A, Kawai S, Hasegawa M, Tanabe K, Horii T. *Mol Biol Evol*. 2012 Sep;29(9):2095-9.

## 遺伝子機能解析分野

### 研究グループ

教授（兼） 薬学博士 伊川 正人 助教 理学博士 宮田 治彦  
 特任准教授（兼） 薬学博士 磯谷 綾子 助教（兼） 生命科学博士 佐藤 裕公  
 助教 医学博士 藤原 祥高

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しつつある。我々は生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オワンクラゲの GFP 遺伝子を組み込んだグリーン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 1～3）。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（KO）マウスを作製し、それらが精子膜タンパク質（ADAM3）の品質管理に必須であること、ADAM3 を失った KO 精子は子宮から卵管に移行できずに雄性不妊になることを明らかにしてきた（図 2, #5）。最近では GPI アンカータンパク質である TEX101 が ADAM3 の存在に必須であることを明らかにした（#3）。また、我々が以前同定した精子側の融合因子である IZUMO1（*Nature*, 2005）に蛍光タンパク質を付加したトランスジェニック（Tg）マウス精子のライブイメージング観察により、受精（精子 - 卵子の融合）の瞬間の観察に成功した（図 3, #4）。

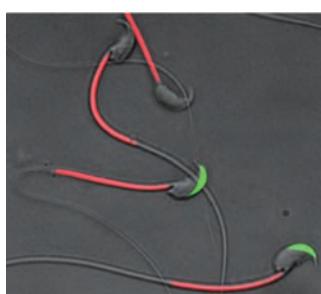


図 1) 頭部の先体が GFP、尾部のミトコンドリアが RFP でラベルされたトランスジェニックマウス精子の写真。先体反応により先体内の GFP を放出することで、精子は受精可能になる。

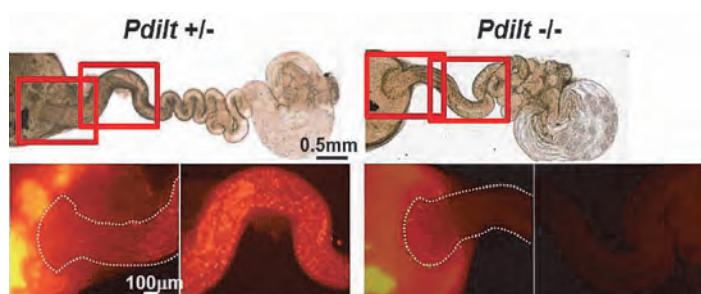


図 2) ADAM3 が消失した *Pdilt* ノックアウトマウス精子は子宮から卵管へ移行できず、雄性不妊の原因となる。

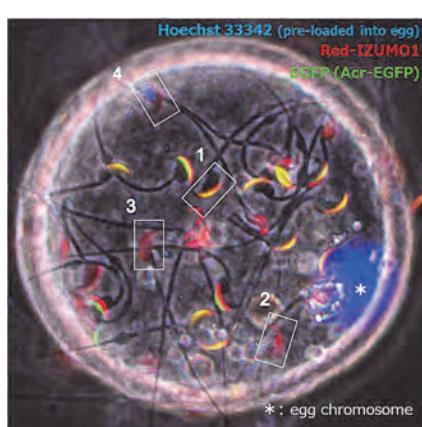


図 3) 卵細胞膜上に結合した Red-IZUMO1 トランスジェニックマウス精子の写真。先体反応により GFP を消失した精子（2, 3）は IZUMO1（赤色蛍光）の局在が変化する。卵子と融合した精子の核は青色蛍光を呈し（4）、融合直後の精子の蛍光消失が、融合の特異点を示している。

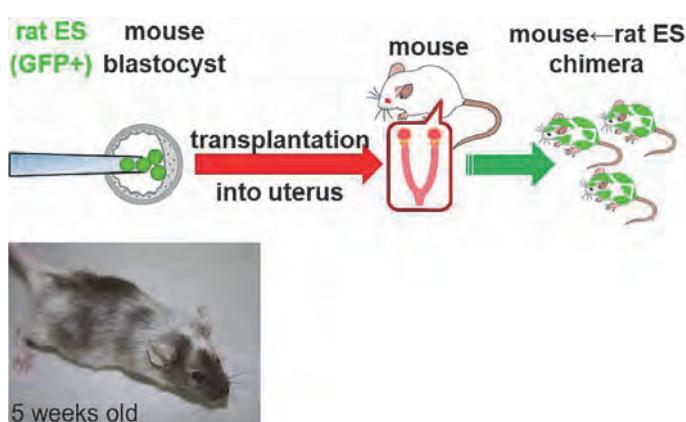


図 4) 我々が樹立した GFP 蛍光を持つラット ES 細胞をマウス胚盤胞へ注入して作製したマウスとラットのキメラ動物。毛色の白い部分がマウス、有色部分がラット由来の細胞で構成されている。

この他にも、我々は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盤にのみ遺伝子操作できる方法を考案し (*Nat Biotechnol*, 2007)、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の開発にも成功した (*PNAS*, 2011)。また、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 4, *Genes Cells*, 2011）、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 (#2)。最近では、新たな遺伝子改変技術として注目を集めている CRISPR/Cas システムを用いて、遺伝子改変マウス・ラットの作製に成功した (#1)。今後も、遺伝子組換え動物作製の効率化を目指して開発・研究を進めていく。

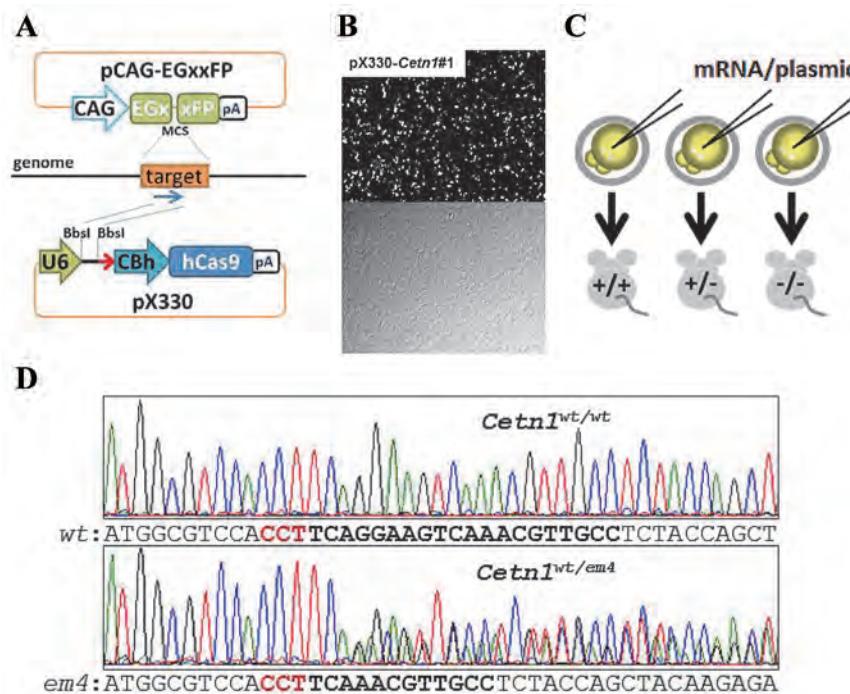


図 5)

A. ヌクレアーゼ活性の高い gRNA 配列を簡便に調べるために、GFP を指標にした培養細胞検定系を構築した。

B. pCAG-EGxxFP に *Cetn1* 遺伝子領域を挿入したプラスミドに加え、gRNA と Cas9 ヌクレアーゼを同時に発現する pX330 を HEK293T 細胞へ遺伝子導入後 48 時間の蛍光写真（上：GFP、下：明視野）。C. GFP 蛍光が観察できた pX330-Cetn1#1 プラスミドを環状のまま、マウス受精卵へ注入して、*Cetn1* 遺伝子欠損マウスを作製した。

D. CRISPR/Cas9 の特徴として、PAM 配列（赤字）より 3 塩基上流で DNA 二本鎖切断を起こす。その結果、8 塩基欠失の変異マウスが得られた。

(WT; 野生型、em4; 変異型)

## 研究支援

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、感染動物実験施設と共同で行っている。これまでにトランスジェニックマウス、ノックアウトマウスはそれぞれ 400 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、1000 ライン以上の受精卵や精子の凍結保存も支援実績を有している。

## 最近の代表的な論文

- Generation of mutant mice by pronuclear injection of circular plasmid expressing Cas9 and single guided RNA. Mashiko D, Fujihara Y, Satouh Y, Miyata H, Isotani A, Ikawa M. *Sci Rep*. 2013 Nov 27;3:3355.
- MiR-200b and miR-429 Function in Mouse Ovulation and Are Essential for Female Fertility. Hasuwa H, Ueda J, Ikawa M, Okabe M. *Science*. 2013 Jul 5;341(6141):71-3.
- Expression of TEX101, regulated by ACE, is essential for the production of fertile mouse spermatozoa. Fujihara Y, Tokuhiro K, Muro Y, Kondoh G, Araki Y, Ikawa M, Okabe M. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 May 14;110(20):8111-6.
- Visualization of the moment of mouse sperm-egg fusion and dynamic localization of IZUMO1. Satouh Y, Inoue N, Ikawa M, Okabe M. *J Cell Sci*. 2012 Nov 1;125(Pt 21):4985-90.
- Testis specific PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male fertility. Tokuhiro K, Ikawa M, Benham AM, Okabe M. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 March 6;109 (10):3850-3855.

## 遺伝情報研究グループ

研究グループ 準教授 理学博士 三輪 岳志

循環器系で特異的に発現している疾患に関する遺伝子について遺伝子組換え動物を含めたモデル動物を利用して分子生物学的解析を行っている。特に、心不全の約半数を占める心左室の拡張不全の病態解明と発症メカニズムの解析を進めるとともに、血管特異的に発現する遺伝子の発現調節機構の解明を行っている。

- 1) 食塩感受性高血圧ダールラットを用いて拡張不全の典型的病態モデルケースを作製した。その解析から高血圧患者で増加する血清内因性ジギタリス様物質の  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger に対する影響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（3）。また、拡張不全の患者やモデルラットでは IL-16 の血中濃度が上昇しており、心臓特異的に IL-16 を発現させると心左室における線維化と硬化度の上昇がみられ（図 1）、IL-16 が拡張不全に大いに影響していることを見出した（1）。
- 2) 血管平滑筋細胞における組織特異的遺伝子発現調節機構の解析をヒト血管平滑筋  $\alpha$ -アクチン（SmaA）に関して行い、特異性を重要な作用する領域を同定するとともに（図 2）、急性炎症時に一過的に強発現し、病態悪化との相関性がある遺伝子マーカーの SmaA の発現機構とその病変での発現の意義を解析している。

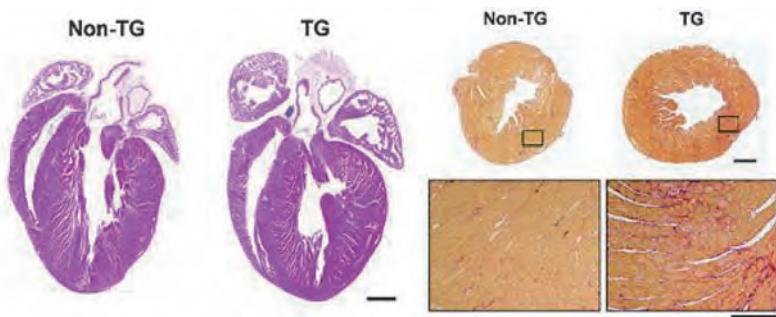


図 1  $\alpha$ -MHC プロモーター下で IL-16 を心臓特異的に強発現させたトランスジェニックマウス (TG) における心臓の肥大化 (左図) と心左室における線維化の亢進 (右図) を示す。

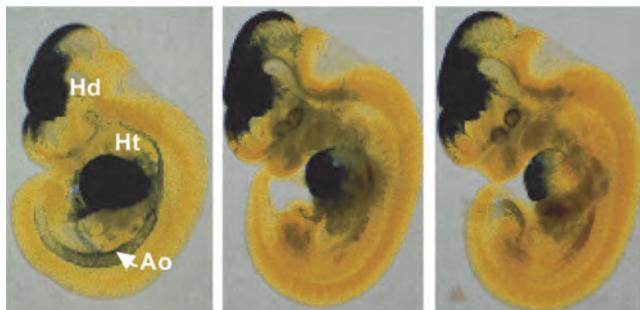


図 2 血管平滑筋  $\alpha$ -アクチン遺伝子プロモーターに塩基変異を持つもの（中央と右）は正常（左）に対してマウス胎児で大動脈（Ao）での発現のみが阻害されるので、これらの塩基の両配列が血管組織特異的遺伝子発現に必須である。

### 最近の代表的な論文

1. Tamaki S, Mano T, Sakata Y, Miwa T, et.al. Interleukin-16 promotes cardiac fibrosis and myocardial stiffening in heart failure with preserved ejection fraction. *PLoS One*. 2013 Jul 19;8(7):e68893.
2. Tsukamoto Y, Mano T, Sakata Y, Miwa T, et.al. A novel heart failure mice model of hypertensive heart disease by angiotensin II infusion, nephrectomy, and salt loading. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013 Dec 1;305 (11):H1658-67.
3. 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*. 2012, 11, 1408-1416.



## 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	博士（薬学）	中村 昇太
教授（兼）	薬学博士	高木 達也	助教（兼）	博士（薬学）	川下 理日人
助教	博士（理学）	後藤 直久			

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

### （1）大規模ゲノム情報解析

現在までに数多くの生物種のゲノム配列が決定されているが、これらのゲノム配列やそれに付随する遺伝子、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（図 1）。また、インフルエンザウイルスの進化を網羅的なゲノム配列解析で追っている（図 2）。

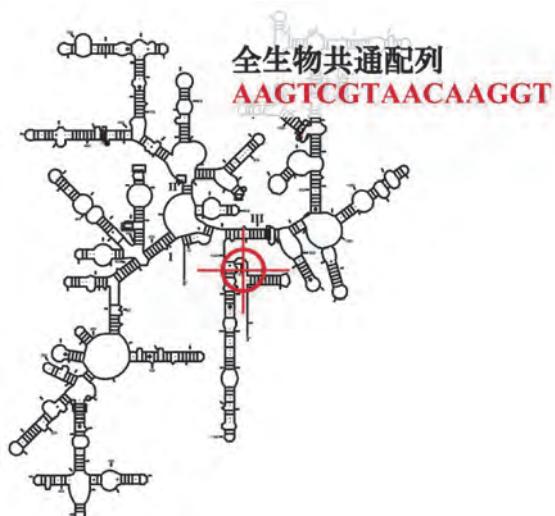


図 1 266 種のゲノム配列解析により明らかとなった全生物のゲノムの保存配列。

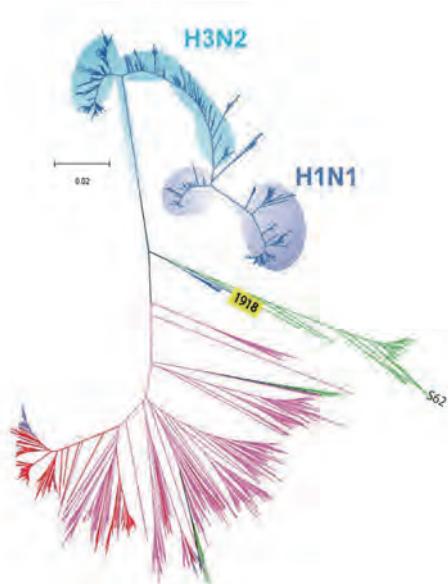


図 2 インフルエンザウイルスゲノムの網羅的な情報解析。

## (2) 次世代シーケンサーによるゲノム情報解析

近年実用化された次世代シーケンサーでは、1生物のゲノム全体を決めることも可能なほど大量の塩基配列を一度に決定することができる。当研究室は次世代シーケンサーが 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）。

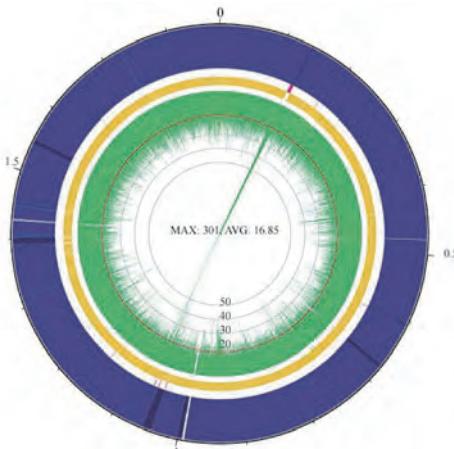


図3 次世代シーケンサーによるゲノム解析。  
1回のシーケンシングでゲノムのほぼ全領域を  
解読することが可能。



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

## (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。

## 最近の代表的な論文

1. Tachibana S, Sullivan SA, Kawai S, Nakamura S, Kim HR, Goto N, Arisue N, Palacpac NM, Honma H, Yagi M, Tougan T, Katakai Y, Kaneko O, Mita T, Kita K, Yasutomi Y, Sutton PL, Shakhbatyan R, Horii T, Yasunaga T, Barnwell JW, Escalante AA, Carlton JM, Tanabe K. Plasmodium cynomolgi genome sequences provide insight into Plasmodium vivax and the monkey malaria clade. *Nat Genet*. 2012 Sep;44(9):1051-5.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.

## 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査している。

#### 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、病原体ゲノムを増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。

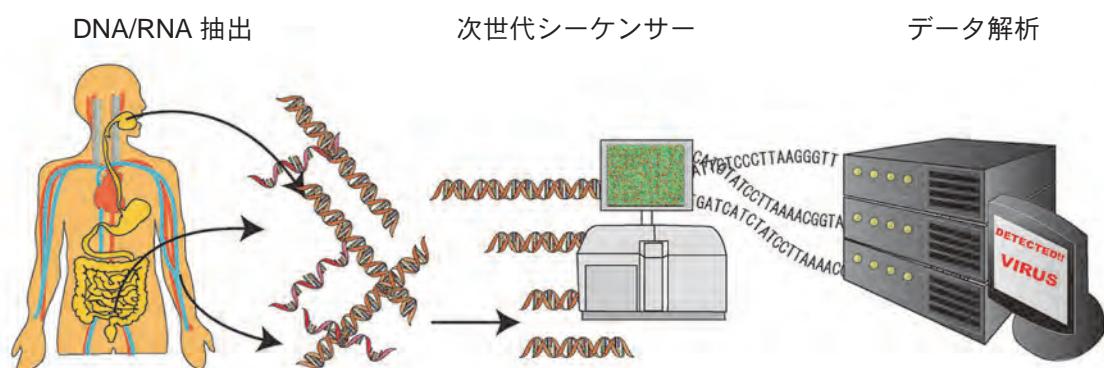


図1：次世代シーケンサーによる感染症のメタゲノミック診断



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

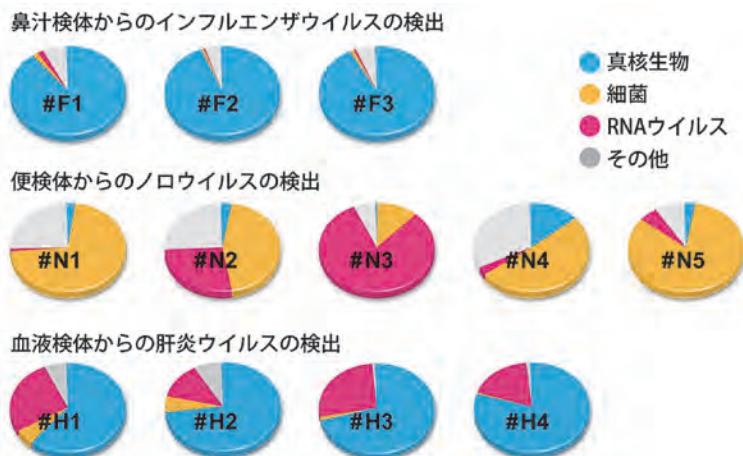


図3：ウイルス感染例で検出された生物種の分布

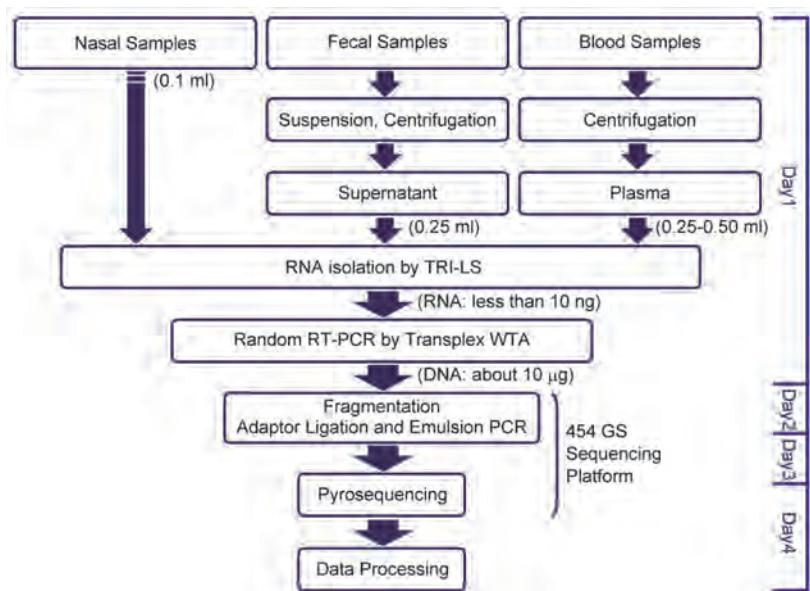


図4：RAPID の標準プロトコール

## 最近の代表的な論文

- Masahata K, Umemoto E, Kayama H, Kotani M, Nakamura S, Kurakawa T, Kikuta J, Gotoh K, Motooka D, Sato S, Higuchi T, Baba Y, Kurosaki T, Kinoshita M, Shimada Y, Kimura T, Okumura R, Takeda A, Tajima M, Yoshie O, Fukuzawa M, Kiyono H, Fagarasan S, Iida T, Ishii M, Takeda K. Generation of colonic IgA-secreting cells in the caecal patch. *Nat Commun.* 2014 Apr;10:3704.
- Yonogi S, Matsuda S, Kawai T, Yoda T, Harada T, Kumeda Y, Gotoh K, Hiyoshi H, Nakamura S, Kodama T, Iida T. BEC, a novel enterotoxin of Clostridium perfringens found in human clinical isolates from acute gastroenteritis outbreaks. *Infect Immun.* 2014 Mar 24.
- Imai A, Gotoh K, Asano Y, Yamada N, Motooka D, Fukushima M, Kanzaki M, Ohtani T, Sakata Y, Nishi H, Toda K, Sawa Y, Komuro I, Horii T, Iida T, Nakamura S, Takashima S. Comprehensive metagenomic approach for detecting causative microorganisms in culture-negative infective endocarditis. *Int J Cardiol.* 2014 Mar 15;172 (2):e288-9.
- Seki M, Gotoh K, Nakamura S, Akeda Y, Yoshii T, Miyaguchi S, Inohara H, Horii T, Oishi K, Iida T, Tomono K. Fatal sepsis caused by an unusual Klebsiella species that was misidentified by an automated identification system. *J Med Microbiol.* 2013 May;62(Pt 5):801-3.
- Monira S, Nakamura S, Gotoh K, Izutsu K, Watanabe H, Alam NH, Nakaya T, Horii T, Ali SI, Iida T, Alam M. Metagenomic profile of gut microbiota in children during cholera and recovery. *Gut Pathog.* 2013 Feb 1;5(1):1.

## 臨床感染症学研究グループ1

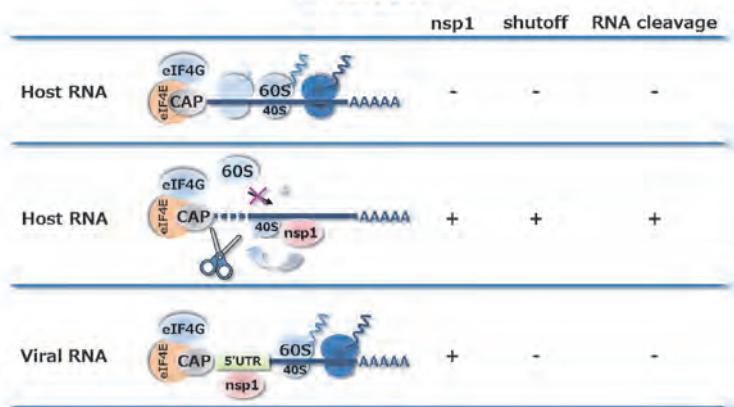
### 研究グループ

特任准教授 医学博士 神谷 亘  
特任研究員 獣医学博士 坂井 祐介

### 研究内容

当研究グループでは呼吸器に感染するコロナウイルスのうち、特に重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS コロナウイルス :SARS-CoV)について研究を行っている。SARS コロナウイルスは感染細胞内で 9 つのウイルス由来の mRNA を合成する。非構造タンパク質(nsp タンパク質)はウイルスゲノムの約 2/3 を占め、ウイルスの複製に関与するばかりでなく、細胞に様々な影響を与えることが知られている。Nsp タンパク質は、合計 16 個産生され、その中でも特に nsp1 タンパク質についての解析を行っている。Nsp1 タンパク質は細胞質内で 40S リボゾームと結合して宿主のタンパク質合成を特異的に阻害する。さらに、リボゾームとの結合を介して mRNA の分解を促進する。この二つの作用により宿主のタンパク質合成を強力に抑制する。Nsp1 タンパク質は自身の RNA ゲノム中に存在する非翻訳領域(UTR)と特異的に結合することで、ウイルス由来 RNA と宿主由来 RNA の区別を行い、宿主の RNA からのタンパク質合成のみを選択的に抑制する。さらに、私たちのグループでは、他の nsp タンパク質についての解析を進めることで、SARS コロナウイルスの病原性発現機序の全貌を明らかにしようとしています。また、2013 年に中東で発生した MERS コロナウイルスについても解析を推し進めているところです。

### Model of SARS-CoV nsp1-mediated shutoff



図：SARS コロナウイルス nsp1 タンパク質による shutoff のモデル。  
Nsp1 タンパク質は、40S リボゾームと結合してタンパク質合成阻害と RNA 分解を促進する。一方、ウイルス由来の RNA に対しては、UTR と結合することで、宿主由来の RNA との区別を行い、宿主由来の RNA に対して選択的に抑制を行う。

### 最近の代表的な論文

- Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 facilitates efficient propagation in cells through a specific translational shutoff of host mRNA. Tanaka T, Kamitani W, DeDiego ML, Enjuanes L, Matsuura Y. *J Virol.* 2012 Oct;86(20):11128-37.
- A two-pronged strategy to suppress host protein synthesis by SARS coronavirus Nsp1 protein. Kamitani W, Huang C, Narayanan K, Lokugamage KG, Makino S. *Nat Struct Mol Biol.* 2009 Nov;16(11):1134-40.
- Suppression of host gene expression by nsp1 proteins of group 2 bat coronaviruses. Tohya Y, Narayanan K, Kamitani W, Huang C, Lokugamage K, Makino S. *J Virol.* 2009 May;83(10):5282-8.
- Rift Valley fever virus NSs protein promotes post-transcriptional downregulation of protein kinase PKR and inhibits eIF2alpha phosphorylation. Ikegami T, Narayanan K, Won S, Kamitani W, Peters CJ, Makino S. *PLoS Pathog.* 2009 Feb;5(2):e1000287.

## 臨床感染症学研究グループ2

### 研究グループ

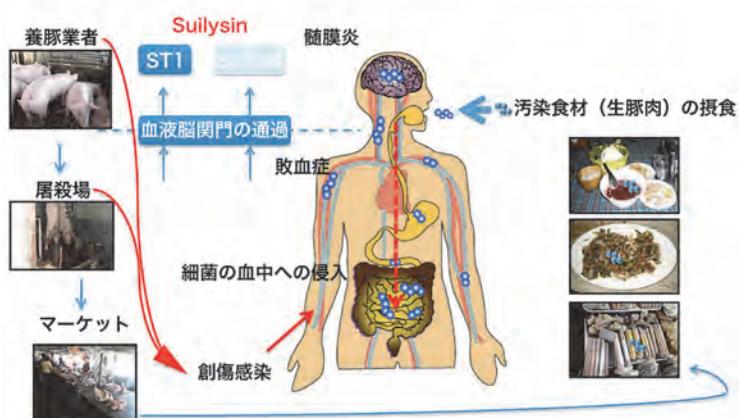
招へい教授 医学博士 大石 和徳  
 特任講師 医学博士 明田 幸宏  
 特任研究員 医学博士 竹内 壇

### 研究・活動内容

当研究グループでは、1) 肺炎球菌やインフルエンザ菌（b型菌、無莢膜型菌を含む）等による侵襲性細菌感染症、細菌性肺炎の診断・病態解析、予防に関する研究 2) 豚レンサ球菌感染症の疫学・病態研究、3) 新規ワクチン抗原の開発、4) 薬剤耐性菌による院内感染対策や感染症診断のための手法開発とこれを用いた臨床研究、5) 病原細菌のタンパク質分泌メカニズムに関する研究、などを中心として、さらにタイ国等の国外研究者とも共同して臨床・公衆衛生上重要な様々な感染症に対して、疫学、臨床研究や基礎研究的アプローチを駆使してその発症・病態メカニズムを明らかにすることで、治療・予防法の確立を目指すべく研究をおこなっています。最近では現行肺炎球菌ワクチンの免疫原性評価サロゲートマーカーの提案や東南アジアで問題となっている豚レンサ球菌感染による髄膜炎発症メカニズム（図）を明らかにしています。

また当研究グループは大阪大学微生物病研究所・医学部による熱帯感染症医師研修コース運営に携わっており、これまでに多くの感染症を志す若手医師の育成を行っています。

### 豚レンサ球菌感染症 発症機構



図：タイにおける豚レンサ球菌感染症 発症メカニズム (Emerg Infect Dis 2011, J Infect Dis 2014)

### 最近の代表的な論文

- Hamaguchi S, Hirose T, Matsumoto N, Akeda Y, Irisawa T, Seki M, Hosotsubo H, Yamamoto K, Tasaki O, Oishi K, Shimazu T, Tomono K. Neutrophil extracellular traps in bronchial aspirates: a quantitative analysis. *Eur Respir J.* 2014 (In press).
- Tamura K, Matsubara K, Ishiwada N, Nishi J, Ohnishi H, Suga S, Ihara T, Chang B, Akeda Y, Oishi K; Japanese IPD Study Group. Hyporesponsiveness to the infecting serotype after vaccination of children with seven-valent pneumococcal conjugate vaccine following invasive pneumococcal disease. *Vaccine.* 2014 (In press).
- Takeuchi D, Akeda Y, Nakayama T, Kerdsin A, Sano Y, Kanda T, Hamada S, Dejsirilert S, Oishi K. The Contribution of Suilysin to the Pathogenesis of *Streptococcus suis* Meningitis. *J Infect Dis.* 2014 (In press).
- Kerdsin A, Dejsirilert S, Sawanpanyalert P, Boonmark A, Noithachang W, Sriyakum 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.

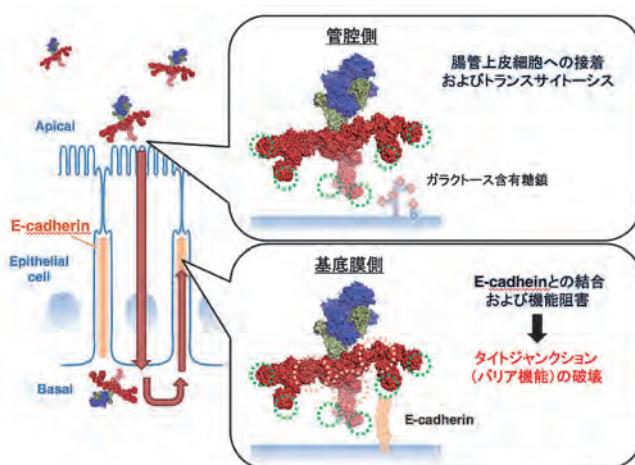
## 感染症国際研究センター（感染細胞生物学研究グループ）

### 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

特任研究員 理学博士 油谷 雅広

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。当研究グループは、腸管上皮細胞バリアを巧妙に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を研究対象として、本毒素の構造と機能の分子レベルの解析を中心に行っている。



ボツリヌス神経毒素複合体（B型 16S 毒素）の腸管上皮バリア通過機構のモデル図  
 管腔側のボツリヌス神経毒素複合体（B型 16S 毒素）は、HA 成分により腸管上皮細胞膜上のガラクトース含有糖鎖に結合し、transcytosis により基底膜側へ移行する。その後、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。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

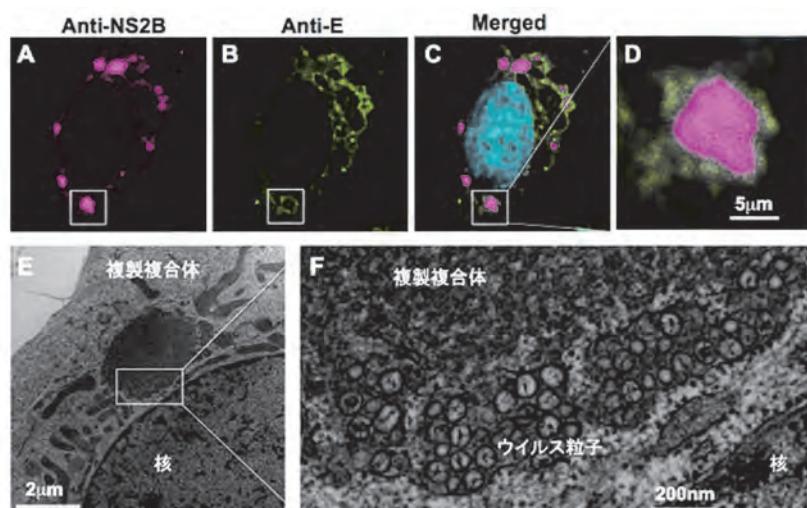
- Amatsu S<sup>1</sup>, Sugawara Y<sup>1</sup>, Matsumura T, Yutani M, Kitadokoro K, and Fujinaga Y. Crystal structure of botulinum whole hemagglutinin reveals a huge triskelion-shaped molecular complex. *J Biol Chem.* 2013; 288(49): 35617-25.  
<sup>1</sup>These authors contributed equally.
- Fujinaga Y, Yo Sugawara, Takuhiro Matsumura. Uptake of Botulinum Neurotoxin in the Intestine. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2013; 364: 45-59 [総説]
- 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]
- 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
- 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. <sup>1</sup>These authors contributed equally.

## 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、複製オルガネラ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「巢食う」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 (HCV) 及びフラビウイ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, マゼンダ), 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. Fujita, N.<sup>†</sup>, Morita, E.<sup>†</sup>, Itoh, T., Tanaka, A., Nakaoka, M., Osada, Y., Umemoto, T., Saitoh, T., Nakatogawa, H., Kobayashi, S., Haraguchi, T., Guan, J.L., Iwai, K., Tokunaga, F., Saito, K., Ishibashi, K., Akira, S., Fukuda, M., Noda, T., Yoshimori, T. Recruitment of the autophagic machinery to endosomes during infection is mediated by ubiquitin. *J Cell Biol.* 2013 <sup>†</sup>These authors contributed equally
2. Morita, E., Arii J, Christensen D, Votteler J, Sundquist WI. Attenuated protein expression vectors for use in siRNA rescue experiments. *Biotechniques*. 2012 Aug;0(0):1-5.
3. Morita, E., Sandrin, V., McCullough, J., Katsuyama, A., Hamilton, IB., Sundquist, WI. ESCRT-III protein requirements for HIV-1 budding. *Cell Host Microbe*. 2011, 3:235-42.
4. Morita, E., Colf, LA., Karren, MA., Sandrin, V., Rodesch, CK., Sundquist, WI. 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.
5. Bajorek, M. <sup>†</sup>, Morita, E. <sup>†</sup>, Skalicky, JJ, Morham, SG., Babst, M., Sundquist, WI. Biochemical analyses of human IST1 and its function in cytokinesis. *Mol Biol Cell*. 2009, 20(5):1360-73. <sup>†</sup>These authors contributed equally.

## 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  
 特任助教 薬学博士 松田 重輝  
 特任研究員 Chonchanok Theethakaew, Ph.D

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。

### 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し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。

### 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

- Okada R, Zhou X, Hiyoshi H, Matsuda S, Chen X, Akeda Y, Kashimoto T, Davis BM, Iida T, Waldor MK, Kodama T. The *Vibrio parahaemolyticus* effector VopC mediates Cdc42-dependent invasion of cultured cells but is not required for pathogenicity in an animal model of infection. *Cell Microbiol.* 2014 Jun;16(6):938-47.
- Matsuda S, Okada N, Kodama T, Honda T, Iida T. A cytotoxic type III secretion effector of *Vibrio parahaemolyticus* targets vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase subunit c and ruptures host cell lysosomes. *PLoS Pathog.* 2012 Jul 19;8(7):e1002803.
- 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.
- 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 Nov 21;2:228.
- 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.



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。

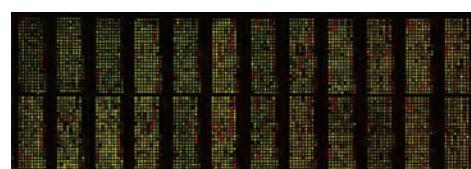


図 2. DNA マイクロアレイによる病原細菌の遺伝子レパートリの解析。

## ウイルス複製研究グループ

### 研究グループ

特任准教授 医学博士 小林 剛  
特任講師 獣医学博士 金井 祐太

### 研究内容

#### 1) 腫瘍溶解性レオウイルスを用いた癌治療に関する研究

哺乳類オルソレオウイルス (MRV) は、10 分節の 2 本鎖 RNA をゲノムとして持ち、レオウイルス科のモデルウイルスとして研究されています。MRV は Ras 経路が活性化した腫瘍細胞で選択的に増殖し、腫瘍細胞を溶解することから、頭頸部癌、大腸癌、乳癌、膵臓癌等の治療を目的とした、腫瘍溶解性ウイルスとして研究が進んでいます。MRV の癌治療研究は、これまで野生型の MRV を用いて行われてきましたが、殺腫瘍効果の観点から改良が望まれています。私達は MRV で応用が困難であったウイルス遺伝子の改変技術（リバースジェネティクス系）を導入・駆使することで、遺伝子改変 MRV を作出し、より安全で治療効果の高い腫瘍溶解性 MRV の開発研究を行っています。

#### 2) 高病原性レオウイルスに関する研究

コウモリは SARS コロナウイルス、ニパウイルス、エボラウイルス、狂犬病ウイルスなど多くの致死的感染を引き起こす人獣共通感染症のレゼルボアとして注目されています。1968 年にコウモリから分離された *Pteropine orthoreovirus* (PRV) については、これまでヒトや動物の疾患との関連性は報告されていませんでしたが、2007 年、東南アジアで重篤な呼吸器症状を呈した患者において、PRV 感染 (Melaka 株) が初めて報告されました。この報告以降、他のアジア諸国においても、同様の感染者が相次いで報告され、日本国内においては、私達のグループが、東南アジアから帰国後、重篤な急性呼吸器症状を呈した患者から、PRV の分離を行いました。これらの報告は、コウモリを起源とするレオウイルスが種の壁を越え、ヒトに感染伝播した結果と推察され、新興感染症としての PRV の感染制御基盤の確立が望まれています。私達は、PRV における予防・治療法の確立を目指し、PRV の複製機構、病態発現機序の解明を行っています。

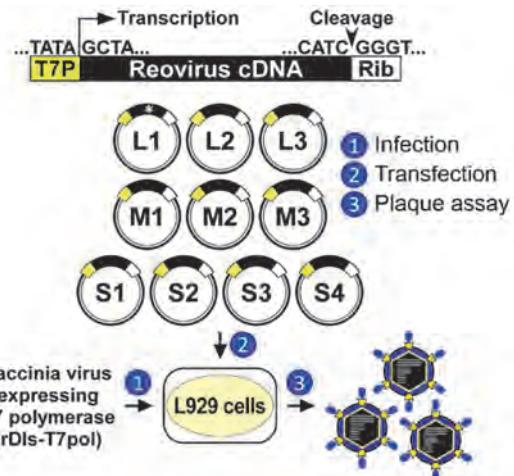


図1 レオウイルスにおけるリバースジェネティクス系

### 最近の代表的な論文

1. A plasmid-based reverse genetics system for mammalian orthoreoviruses driven by a plasmid-encoded T7 RNA polymerase. Komoto S, Kawagishi T, Kobayashi T, Ikizler M, Iskarpatyoti J, Dermody TS, Taniguchi K. *J Virol Methods*. 2014 Feb;196:36-9.
2. Nonstructural protein  $\sigma 1s$  mediates reovirus-induced cell cycle arrest and apoptosis. Boehme KW, Hammer K, Tollefson WC, Konopka-Anstadt JL, Kobayashi T, Dermody TS. *J Virol*. 2013 Dec;87(23):12967-79.
3. The reovirus sigma1s protein is a determinant of hematogenous but not neural virus dissemination in mice. Boehme KW, Frierson JM, Konopka JL, Kobayashi T, Dermody TS. *J Virol*. 2011 Nov;85(22):11781-90.
4. An improved reverse genetics system for mammalian orthoreoviruses. Kobayashi T, Ooms LS, Ikizler M, Chappell JD, Dermody TS. *Virology*. 2010 Mar 15;398(2):194-200.
5. Identification of functional domains in reovirus replication proteins muNS and mu2. Kobayashi T, Ooms LS, Chappell JD, Dermody TS. *J Virol*. 2009 Apr;83(7):2892-906

## 感染症学・免疫学融合研究グループ

### 研究グループ

准教授 博士(理学) 永井 宏樹  
 特任講師 博士(理学) 久堀 智子  
 特任研究員 Andree Marie Hubber, Ph.D  
 特任研究員 Xuan Thanh Bui, Ph.D

特任研究員 大倉亜貴子  
 特任研究員 山田 雅代

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注入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。

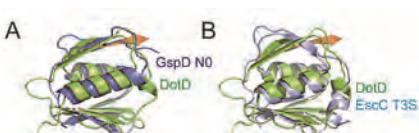


図 1 DotD は多様な細菌分泌系に保存される構造モチーフを持つ、T4SS 外膜コアタンパク質である

### (2) エフェクターの機能とその制御

エフェクタタンパク質の機能を知ることは、細菌による病原性の分子基盤を理解するために必須です。私達は他に先駆けてレジオネラでは最初のエフェクター RalF を同定した他、最近では E3 ユビキチンリガーゼとしての機能を持つ LubX が、実は別のエフェクターの負の時間的制御を司る、これまでに例をみないタイプのエフェクタタンパク質、メタエフェクターであることをつきとめています。



図 2 エフェクターを制御するメタエフェクター LubX

### (3) レジオネラと自然宿主である自由生活性アメーバ

レジオネラの特徴のひとつは、自然宿主アメーバとの相互作用の歴史のなかで、ヒトに対する病原性を獲得してきたことがあります。このような病原菌誕生のメカニズムを明らかにするため、レジオネラと自然宿主の相互作用の解析を進めています。

### 最近の代表的な論文

- Hubber A, Kubori T, \*Nagai H. Modulation of the ubiquitination machinery by *Legionella*. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2014;376, 227-247
- Hori JI, Pereira MS, Roy CR, \*Nagai H, Zamboni DS. Identification and functional characterization of K(+) transporters encoded by *Legionella pneumophila* kup genes. *Cell Microbiol.* 2013; 15, 2006-2019
- Nagai H and Kubori T. 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.

## 病原微生物資源室

### 研究グループ

特任教授（兼） 医学博士 飯田 哲也  
講師 医学博士 児玉 年央

病原細菌の収集・保存・提供を行っている。本研究所における菌株保存事業の歴史は古く、1934年微研設立と同時に細菌血清学部門内でスタートし、約40年後に文部省から研究所附置施設として認可を受けた。2002年からは文科省のナショナルバイオリソースプロジェクトに参画し、2005年、感染症国際研究センター内の病原微生物資源室として位置づけられた。感染症法の改正に伴って臨床分離株を保存しない国内の施設が増えたことなどから、その受け皿となる病原微生物保存施設として中核的な機能を担うことが期待されている。歴史的な経緯からこれまで腸管感染原因菌を中心に菌株の収集・保存を行ってきたが、今後は腸管感染微生物に限らず重要な病原細菌を網羅していく方針である。また医療現場からの相談や依頼に応じて原因病原体の同定や型別解析なども行い現場へフィードバックするとともに、菌株保存法についての情報提供を行っている。提供菌株はHP (<http://rceid.biken.osaka-u.ac.jp>) で公開されている。



## 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月に開催しているあわじしま感染症・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。

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と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。

### 研究テーマ

准教授 医学博士 村上 良子

研究テーマ

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 欠損症のスクリーニングと発症機序の解明

### 最近の代表的な論文

1. *PIGA mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features.* M. Kato\* H. Saitsu\* Y. Murakami\* K. Kikuchi, Watanabe, M. Iai, K. Miya, R. Matsuura, R. Takayama, C. Ohba, M. Nakashima, Y. Tsurusaki, N. Miyake, S. Hamano, H. Osaka, K. Hayasaka, T. Kinoshita, N. Matsumoto. *Neurology.* 2014 *in press* (\*equally contribution).
2. *Mutations in PGAP3 impair GPI-anchor maturation and lead to intellectual disability with hyperphosphatasia and additional phenotypic features.* Howard MF\* Murakami Y\* Pagnamenta AT, Haas CD, Fischer B, Hecht J, Keays DA, Knight SJL, Kölsch U, Krüger U, Leiz S, Maeda Y, Mitchell D, Mundlos S, Philipp JA, Robinson PN, Kini U, Taylor JC, Horn D, Kinoshita T, Krawitz PM. *Am J Hum Genet.* 2014;94(2):278-87 (\*equally contribution).
3. *Glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor deficiency caused by mutations in PIGW is associated with West syndrome and hyperphosphatasia with mental retardation syndrome.* Chiyonobu T, Inoue N, Morimoto M, Kinoshita T, Murakami Y. *J Med Genet.* 2014; 51(3): 203-7.
4. *Case report with vitamin B6 responsive epilepsy due to inherited GPI deficiency.* Kuki, I., Y. Takahashi, Okazaki, Ebara, N. Inoue, T. Kinoshita, Y. Murakami. *Neurology.* 2013;81(16):1467-9.
5. *Deregulated expression of HMGA2 is implicated in clonal expansion of PIGA deficient cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria.* Murakami Y, Inoue N, Shichishima T, Ohta R, Noji H, Maeda Y, Nishimura J, Kanakura Y, Kinoshita T. *Br J Haematol.* 2012 Feb;156(3):383-7.

## ゲノム生化学研究グループ

### 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ゲノム機能解析法の開発とその応用

転写やエピジェネティック制御をはじめとするゲノム機能発現の分子機構の解析は、従来、主に遺伝学的解析や試験管内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るか、できたとしても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-biased 解析を目指し、新規方法論として、insertional chromatin immunoprecipitation (ChIP) (iChIP) 法と engineered DNA-binding molecule-mediated ChIP (enChIP) 法から構成される遺伝子座特異的 ChIP 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 (LexA BE) 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) 必要があれば、ホルムアルデヒド等でクロスリンク後、超音波処理または制限酵素処理等によりゲノム 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、複合体中の蛋白質・DNA・RNA を同定、という手順による (図左)。

enChIP 法は、(i) zinc-finger 蛋白質や transcription activator-like (TAL) effector 蛋白質、不活性型 Cas9 蛋白質 (dCas9) とガイド RNA (gRNA) の複合体を用いた CRISPR システム等からなるタグ付き標的 DNA 配列結合分子の解析対象細胞への発現、(ii) 必要があれば、ホルムアルデヒド等でクロスリンク後、超音波処理または制限酵素処理等によりゲノム DNA を断片化、(iii) 上記タグを認識する抗体による免疫沈降により、DNA- 蛋白複合体を単離、(iv) クロスリンクをはずし、複合体中の蛋白質・DNA・RNA を同定、という手順による (図右)。

遺伝子座特異的 ChIP 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。遺伝子座特異的 ChIP 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、遺伝子座特異的 ChIP 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。

### 最近の代表的な論文

1. Identification of telomere-associated molecules by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP). Fujita T, Asano Y, Ohtsuka J, Takada Y, Saito K, Ohki R, Fujii H. *Sci Rep.* 2013 Nov 8;3:3171.
2. Efficient isolation of specific genomic regions and identification of associated proteins by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP) using CRISPR. Fujita T, Fujii H. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Sep 13;439(1):132-6.
3. Direct identification of insulator components by insertional chromatin immunoprecipitation. Fujita T, Fujii H. *PLoS One.* 2011;6(10):e26109
4. Insertional chromatin immunoprecipitation: a method for isolating specific genomic regions. Hoshino A, Fujii H. *J Biosci Bioeng.* 2009 Nov;108(5):446-9.
5. Regulation of Fas-mediated immune homeostasis by an activation-induced protein, Cyclon. Saint Fleur S, Hoshino A, Kondo K, Egawa T, Fujii H. *Blood.* 2009 Aug 13;114(7):1355-65.

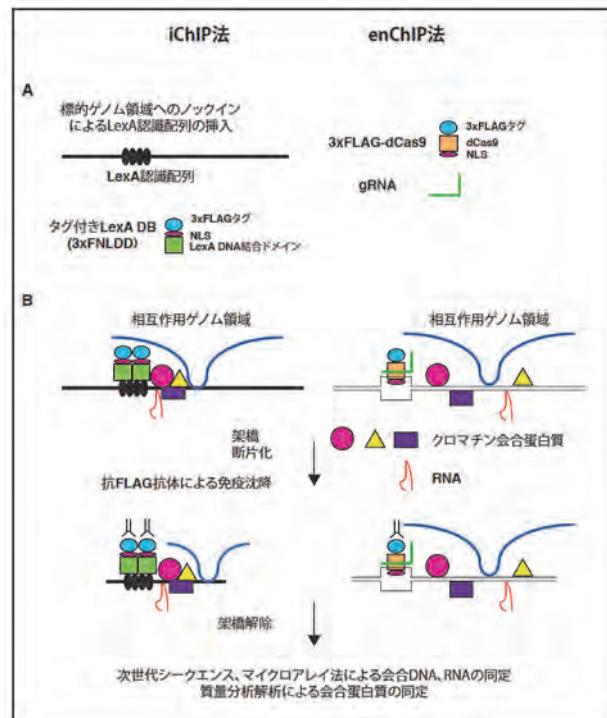


図 . 遺伝子座特異的クロマチン免疫沈降法  
iChIP 法と enChIP 法から構成される。

## 生殖細胞グループ

研究グループ 準教授 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

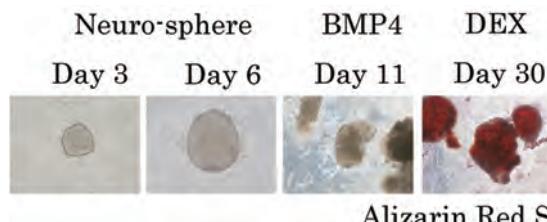
哺乳動物精子核は、半数体ゲノムがプロタミンによって高度に凝縮しており、一部にヒストンが残る。精子クロマチンの中で、体細胞型のヒストンを持つ領域の重要性を解析している。

### 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。

#### 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.



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。

# 日本・タイ新興・再興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」）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 部門体制となり、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

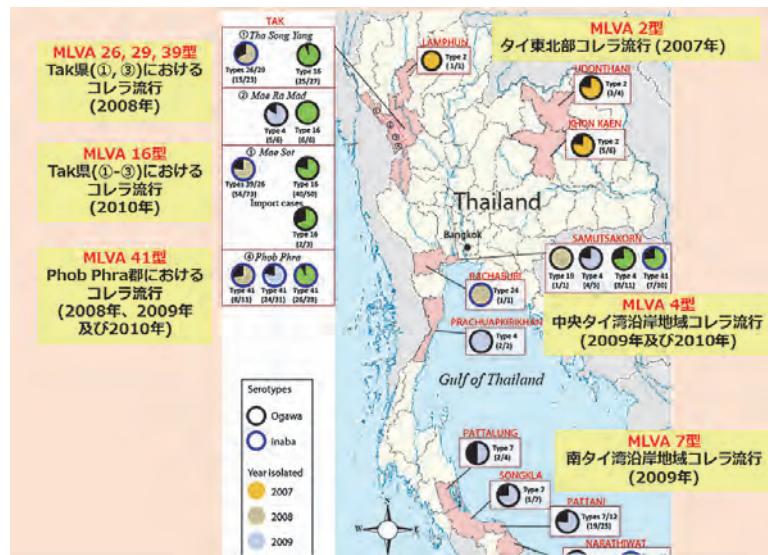
### 研究グループ

特任教授	歯学博士	浜田 茂幸
特任助教	博士(医学)	岡田 和久
特任研究員	博士(環境学)	井上健太郎
派遣研究員	博士(熱帯医学)	Mathukorn Na-Ubol
派遣研究員	博士(医学)	Warawan Wongboot

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く、今後とも発展的に継続する。

タイで、高い死亡率を示す感染症としては古くから肺炎、結核、急性下痢症等が挙げられている。最近では、従来病原性が弱いとされていたブタレンサ球菌のように新たな病型と比較的高い致死率を示す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標とする。



MLVA型から見たタイ国内におけるコレラ菌 O1 の地理的拡散と経時的变化 (2007 年～2010 年)

### 主な研究課題

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

### 最近の代表的な論文

1. Okada K, Roobthaisong A, Swaddiwudhipong W, Hamada S, Chantaroj S. *Vibrio cholerae* O1 Isolate with Novel Genetic Background, Thailand-Myanmar. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(6):1015-17.
2. Takeuchi D, Akeda Y, Nakayama T, Kerdsin A, Sano Y, Kanda T, Hamada S, Dejsirilert S, Oishi K. The Contribution of Sulysin to the Pathogenesis of *Streptococcus suis* Meningitis. *J Infect Dis.* 2013 first published online.
3. 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.
4. Takeuchi D, Kerdsin A, Pienprasing A, Loetthong P, Samerchea S, Luangsuk P, Khamisara K, Wongwan N, Areeratana P, Chiranairadul P, Lertchayanti S, Petcharat S, Yowang A, Chaiwongsen 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.
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):135-9.

## 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
特任准教授	医学博士 本村 和嗣
特任講師	獣医学博士 田中 淳
派遣研究員	理学博士 Nitchakarn Noranate
派遣研究員	理学修士 Chris Verathamjamras
派遣研究員	理学修士 Uranan Tumkosit
派遣研究員	理学修士 Michittra Boonchan

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蚊媒介性感染症、血液媒介性感染症、および腸管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ニアを対象とし、本ウイルスの疫学的、分子生物学的、および免疫学的基礎研究を推進している。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している。腸管感染症では、患者および環境水から検出されるノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスの分子疫学解析から、タイで流行するウイルスの遺伝学的な特徴を明らかにすると共に、その制御法の開発を推進している。

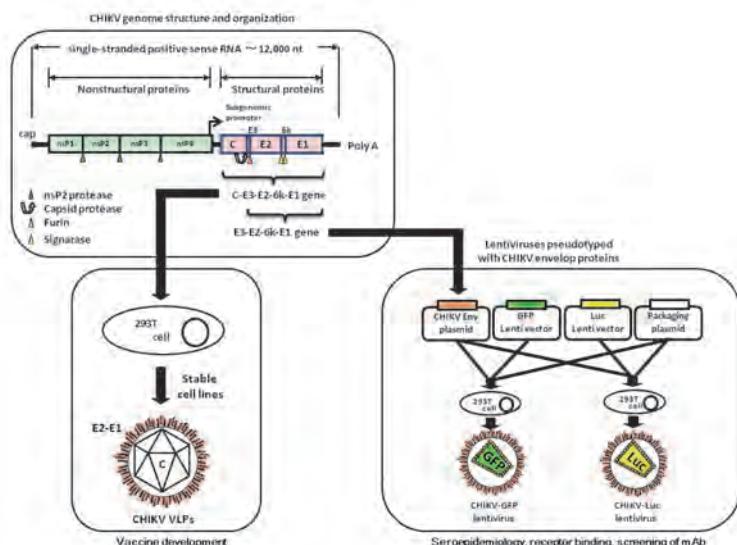


図 1. チクングニアウイルス (CHIKV) の遺伝子構造と研究課題。CHIKV (BSL3) はプラス 1 本鎖 RNA を遺伝子にもつ直径約 60-70 nm の球形ウイルスである。構造タンパクの全領域を発現することによって、形態学的にも、抗原性においてもネイティブな CHIKV と変わらない中空粒子 (virus-like particles, VLPs) を産生させることができる。また、膜タンパク E3, E2, 6k, および E1 を発現するベクター、レンチウイルスパッケージングベクター、およびレポーターとしてルシフェラーゼを発現するベクターを同時に 293T 細胞にトランسفエクションしてショードレンチウイルス (BSL2) を作製した。これを用いた中和実験が可能であることが示された (文献 3)。

### 最近の代表的な論文

- Characterization of human immunodeficiency virus type 1 CRF01\_AE env genes derived from recently infected Thai individuals. Chaitaveep N, Utachee P, Nakamura S, Chuanchitra T, Ekpo P, Takeda N, Pattanapanyasat K, Kameoka M. *Microbes Infect.* 2014 Feb;16(2):142-52.
- CRF01\_AE-specific neutralizing activity observed in plasma derived from HIV-1-infected Thai patients residing in northern Thailand: comparison of neutralizing breadth and potency between plasma derived from rapid and slow progressors. Sapsutthipas S, Tsuchiya N, Pathipavanich P, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P, Takeda N, Isarangkura-na-ayuthaya P, Kameoka M. *PLoS One* 2013; 8: e53920.
- Development of a Pseudotyped Lentiviral Vector-Based Neutralization Assay for Chikungunya Virus Infection. Kishishita N, Takeda N, Anuegoonpipat A, Anantapreecha S. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1389-95.
- Poly (I:C), an agonist of toll-like receptor-3, inhibits replication of the Chikungunya virus in BEAS-2B cells. Li YG, Siripanyaphinyo U, Tumkosit U, Noranate N, A AN, Pan Y, Kameoka M, Kurosu T, Ikuta K, Takeda N, Anantapreecha S. *Virology* 2012; 9: 114.
- 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. Utachee P, Nakamura S, Isarangkura-Na-Ayuthaya P, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Ikuta K, Auwanit W, Kameoka M. *J Virol* 2010; 84: 4311-20.

## マヒドン・大阪感染症センター (MOCID)

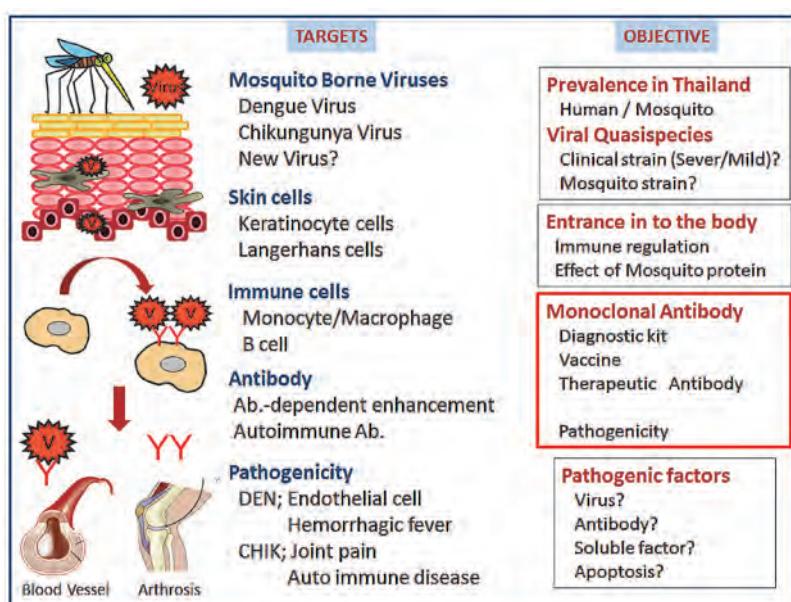
### 研究グループ

センター長 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	
派遣研究員 医学博士 Orapim Puiprom	
派遣研究員 理学修士 Panjaporn Chaichana	
派遣研究員 理学修士 Nantarat Chantawat	

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マ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. Low levels of antibody-dependent enhancement in vitro using viruses and plasma from dengue patients. Chaichana P, Okabayashi T, Puiprom O, Sasayama M, Sasaki T, Yamashita A, Ramasoota P, Kurosu T, Ikuta K. *PLoS One*. 2014 Mar 18;9(3):e92173.
2. Antibody germline characterization of cross-neutralizing human IgGs against 4 serotypes of dengue virus. Pitaksajjakul P, Benjathummarak S, Pipattanaboon C, Wongwit W, Okabayashi T, Kuhara M, Misaki R, Fujiyama K, Ramasoota P. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Mar 14.
3. Detection and characterization of enteric viruses in flood water from the 2011 thai flood. Ngaosuwankul N, Thippornchai N, Yamashita A, Vargas RE, Tunyong W, Mahakunkijchareon Y, Ikuta K, Singhasivanon P, Okabayashi T, Leaungwutiwong P. *Jpn J Infect Dis*. 2013;66(5):398-403
4. Characterization of chikungunya virus infection of a human keratinocyte cell line: role of mosquito salivary gland protein in suppressing the host immune response. Puiprom O, Morales Vargas RE, Potiwat R, Chaichana P, Ikuta K, Ramasoota P, Okabayashi T. *Infect Genet Evol*. 2013 Jul;17:210-5.
5. Dengue virus neutralization and antibody-dependent enhancement activities of human monoclonal antibodies derived from dengue patients at acute phase of secondary infection. Sasaki T, Setthapramote C, Kurosu T, Nishimura M, Asai A, Omokoko MD, Pipattanaboon C, Pitaksajjakul P, Limkittikul K, Subcharoen A, Chaichana P, Okabayashi T, Hirai I, Leaungwutiwong P, Misaki R, Fujiyama K, Ono K, Okuno Y, Ramasoota P, Ikuta K. *Antiviral Res*. 2013 Jun;98(3):423-31.

## デングワクチン（阪大微生物病研究会）寄附研究部門

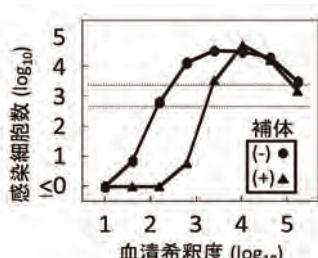
### 研究グループ

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

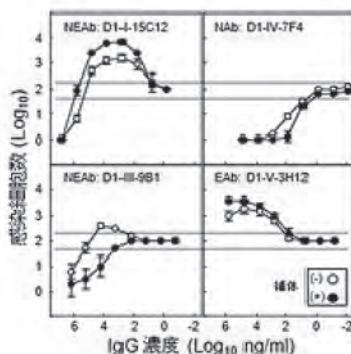
一般財団法人阪大微生物病研究会から大阪大学微生物病研究所への寄附により、2011年度からタイ王国のマヒドン大学熱帯医学部内に、デングワクチン（阪大微生物病研究会）寄附研究部門が発足した。

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、(1) デング熱・デング出血熱の発症機序および防御機構を解明する研究、(2) デングウイルスの病原性、伝播や進化に関する研究と共に、(3) 種々の戦略によるデングワクチン開発の基礎研究を行っている。具体的には、デング患者血液や分離ウイルスを用いて免疫応答を調べると共に、組換え技術を用いてデングウイルス粒子表面蛋白の機能や免疫原性を解析している。これらの研究により、ワクチンの防御効力を評価する免疫学的指標の推定や質の高いワクチン抗原の作製を目指している。



世界初のデングワクチン効力評価（2012年）の結果、WHOが推奨するVero細胞を用いた中和試験の改良が必要と言われるようになった。我々は、Fcγレセプターを有するK562細胞を用いたアッセイ系を確立し、防御に関わる抗体価をより正しく表す試みを行っている。デング患者血清を用いると、上図のようにデング1型ウイルス感染細胞数が対照( $10^3$  PFU/ml)より低い中和活性と、より高い増強活性が濃度依存的に示された。そして、補体依存性と非依存性の両者の抗体の存在が認められた。



デング1型ウイルスを抗原として作製したマウスモノクローナル抗体は、多くが中和と増強活性の両者を濃度依存的に示したが（NEAb）、中和活性のみを示す抗体（NAb）や増強活性のみを示す抗体（EAb）も認められた。ワクチン開発を困難にしている障害の1つに増強活性の誘導による重症化の懸念があるが、NAbを多く誘導するエピトープを持つ抗原が、より安全で効果的なワクチン開発に貢献すると考えている。

### 最近の代表的な論文

1. A mouse monoclonal antibody against dengue virus type 1 Mochizuki strain targeting envelope protein domain II and displaying strongly neutralizing but not enhancing activity. Yamanaka A, Kotaki T, Konishi E. *J Virol.* 2013 Dec;87(23):12828-37.
2. Genetic and evolutionary analysis of cell-fusing agent virus based on Thai strains isolated in 2008 and 2012. Yamanaka A, Thongrungkiat S, Ramasoota P, Konishi E. *Infect Genet Evol.* 2013 Oct;19:188-94.
3. Comparison of infection-neutralizing and -enhancing antibody balance induced by two distinct genotype strains of dengue virus type 1 or 3 DNA vaccines in mice. Sjatha F, Takizawa Y, Kotaki T, Yamanaka A, Konishi E. *Microbes Infect.* 2013 Nov;15(12):828-36.
4. Memory B cells: a proposed new immunological correlate for protective efficacy of Japanese encephalitis vaccine. Konishi E. *Expert Rev Vaccines.* 2013 Aug;12(8):871-3.
5. A review of successful flavivirus vaccines and the problems with those flaviviruses for which vaccines are not yet available. Ishikawa T, Yamanaka A, Konishi E. *Vaccine.* 2014 Mar 10;32(12):1326-37.

## 感染動物実験施設

### 研究グループ

施設長	薬学博士	伊川 正人	特任准教授(兼)	薬学博士	磯谷 綾子
助教	生命科学博士	佐藤 裕公	助教(兼)	医学博士	藤原 祥高
助教(兼)	理学博士	宮田 治彦			

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
2012-2013	41	159	377
total	469	488	1848

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

1. Nagi-Miura N, Okuzaki D, Torigata K, Sakurai MA, Ito A, Ohno N, Nojima H. CAWS administration increases the expression of interferon  $\gamma$  and complement factors that lead to severe vasculitis in DBA/2 mice. *BMC Immunol.* 2013 Sep 24;14:44.
2. Muso E, Okuzaki D, Kobayashi S, Iwasaki Y, Sakurai MA, Ito A, Nojima H. Ficolin-1 is up-regulated in leukocytes and glomeruli from microscopic polyangiitis patients. *Autoimmunity*. 2013 Dec;46(8):513-24.
3. Okuzaki D, Kimura S, Yabuta N, Ohmine T, Nojima H. LeukoCatch, a quick and efficient tool for the preparation of leukocyte extracts from blood. *BMC Clin Pathol.* 2011 Aug 17;11:9.
4. Okuzaki D, Fukushima T, Tougan T, Ishii T, Kobayashi S, Yoshizaki K, Akita T, Nojima H. Genopal<sup>TM</sup>: a novel hollow fibre array for focused microarray analysis. *DNA Res.* 2010 Dec;17(6):369-79.
5. 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.

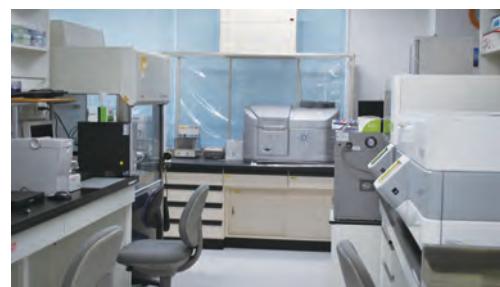


図1：高密度超小型DNAアレイ解析システム



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

#### <遺伝子改変動物作製部門>

教授(兼)	薬学博士	伊川 正人
特任准教授	農学博士	山縣 一夫
特任助教	生命科学博士	上田 潤

#### <動物維持・管理部門>

招へい教授	医学博士	山村 研一
特任准教授(兼)	薬学博士	磯谷 綾子
助教(兼)	理学博士	宮田 治彦

#### <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	荒瀬 尚
教授(兼)	医学博士	木下タロウ

#### <生体応答解析部門>

教授(兼)	医学博士	菊谷 仁
教授(兼)	理学博士	野島 博
教授(兼)	医学博士	高倉 伸幸
教授(兼)	理学博士	岡田 雅人
助教(兼)	医学博士	藤原 祥高

#### <共同研究推進部門>

招へい教授	理学博士	岩倉洋一郎
招へい教授	医学博士	吉田 進昭
助教(兼)	理学博士	後藤 直久
助教(兼)	生命科学博士	佐藤 裕公

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疾患に関与している。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、それぞれが特化した分野の遺伝子改変マウスの作製を行う。得られた遺伝子改変マウスは各機関が連携した効率的な解析システムにかけることにより疾病との連関を明らかにする。

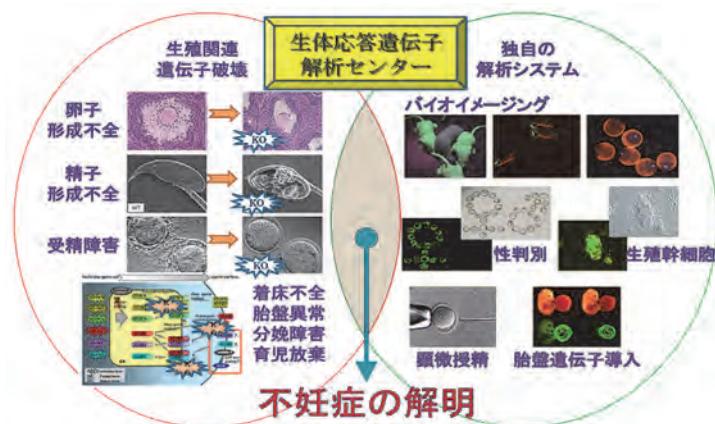


図1 不妊症の解明に向けたストラテジー

### 最近の代表的な論文

- Generation of mutant mice by pronuclear injection of circular plasmid expressing Cas9 and single guided RNA. Mashiko D, Fujihara Y, Satoh Y, Miyata H, Isotani A, Ikawa M. *Sci Rep.* 2013 Nov 27;3:3355.
- Mir-200b and miR-429 Function in Mouse Ovulation and Are Essential for Female Fertility. Hasuwa H, Ueda J, Ikawa M, Okabe M. *Science.* 2013 Jul 5;341(6141):71-3.
- Expression of TEX101, regulated by ACE, is essential for the production of fertile mouse spermatozoa. Fujihara Y, Tokuhiro K, Muro Y, Kondoh G, Araki Y, Ikawa M, Okabe M. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 May 14;110(20):8111-6.
- Visualization of the moment of mouse sperm-egg fusion and dynamic localization of IZUMO1. Satoh Y, Inoue N, Ikawa M, Okabe M. *J Cell Sci.* 2012 Nov 1;125(Pt 21):4985-90.
- Testis specific PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male fertility. Tokuhiro K, Ikawa M, Benham AM, Okabe M. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 March 6;109(10):3850-3855.

## 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ウイルス（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イルスの模型



図5：海洋堂製のSARSウイルスの模型



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 三木 裕明  
准教授 薬学博士 東山 真二助教 理学博士 齊藤 一伸  
特任助教（兼）理学博士 森松 美紀

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、分子間相互作用解析システム（Biacore）、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、研究者から依頼されたサンプルの解析を代行している。実験機器は益々複雑化しており、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、これらの受託業務は研究所において重要な役割を果たしている。



## 放射性同位元素実験室

/室長教授 理学博士 三木 裕明  
准教授 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<sup>137</sup>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、<sup>137</sup>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25年度の登録された放射線業務従事者は246名であった。



## 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。ヒト免疫不全ウィルス (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病原体等安全管理委員会で承認された実験室使用者の数は平成 24 年度 45 名、25 年度 53 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 博士（理学）三木 裕明

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 4 千冊、定期的に受入している雑誌は、欧文誌約 18 タイトル、和文誌約 23 タイトルである。2010 年以前の雑誌は、北館 1F の書庫に箱詰している。

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(Interlibrary 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。

世界トップレベル研究拠点

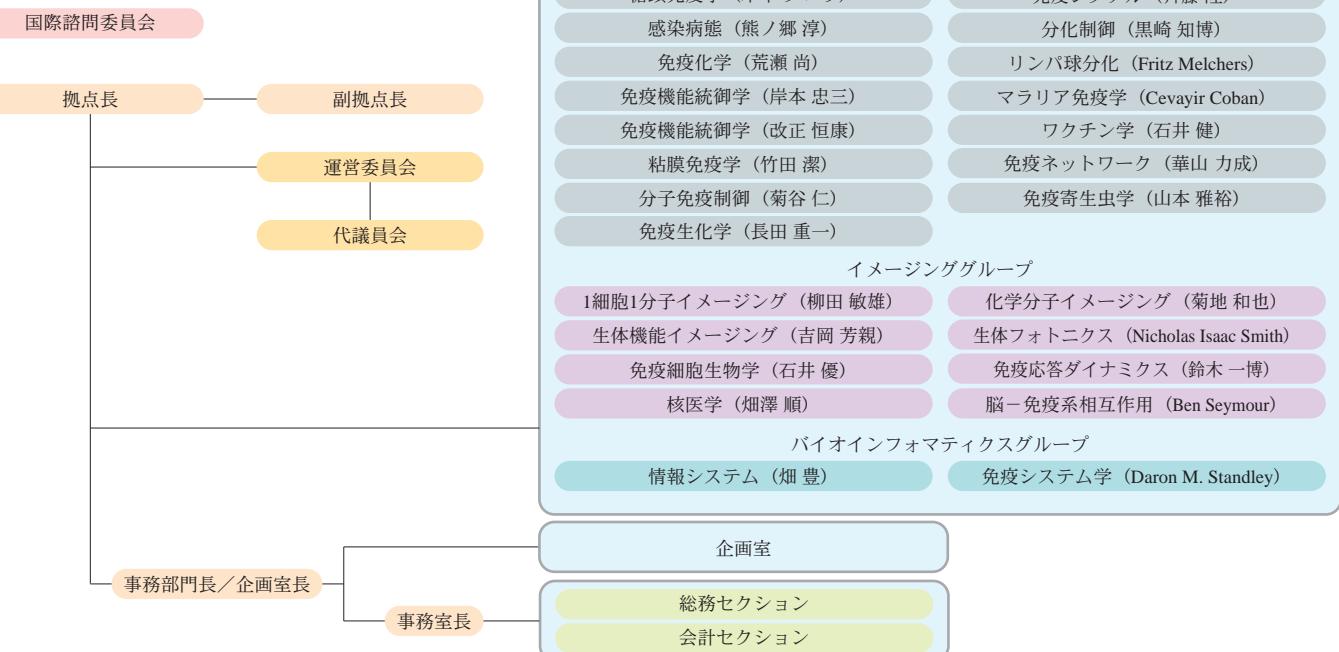
## 免疫学フロンティア研究センター

### ●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。

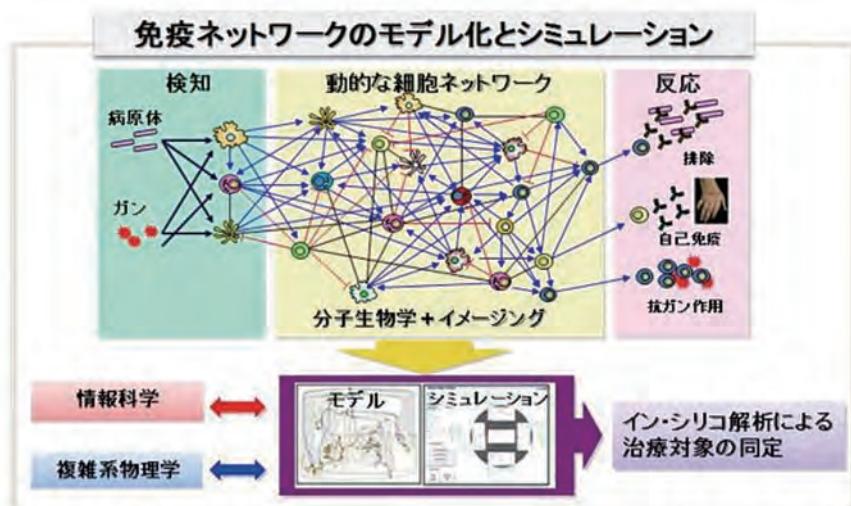
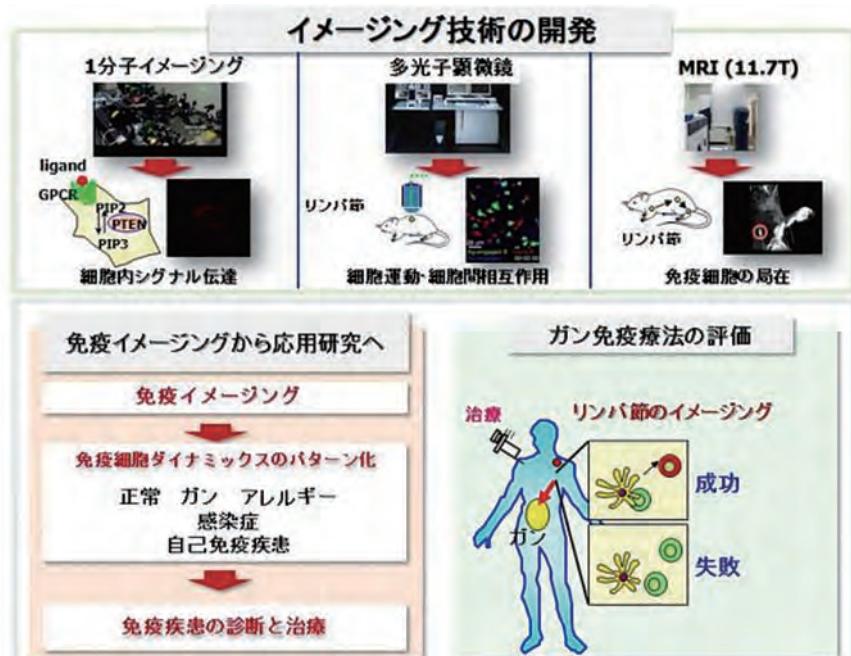
免疫学は、日本がリードしてきた領域の一つであり、その多くを山村雄一元総長や岸本忠三元総長をはじめとする大阪大学の研究者が成し遂げてきました。IFReCは、こうした免疫学研究をより発展させるため、免疫学とイメージング（画像化）技術、さらにバイオインフォマティクス（生体情報学）との融合研究を通して、動物生体内（*in vivo*）における免疫反応を可視化、あるいは予測することによる免疫系の動的な全貌を明らかにすることを目的としています。IFReCでは、20名以上の世界トップレベルの主任研究者を中心に、世界に類のない研究拠点の構築を目指しています。



## ●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はなく、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21年度	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度
人件費	859,673	887,150	863,168	877,581	932,979
物件費	548,947	704,408	567,143	477,809	527,783
計	1,408,620	1,591,558	1,430,311	1,355,390	1,460,762

### その他収入

(単位：千円)

区分	平成21年度	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度
受託研究費等	1,040,180	908,861	711,772	634,565	601,976
奨学寄附金	343,772	689,654	765,777	730,868	262,716
その他	2,090	4,506	4,082	4,283	4,426
計	1,386,042	1,603,021	1,481,631	1,369,716	869,118

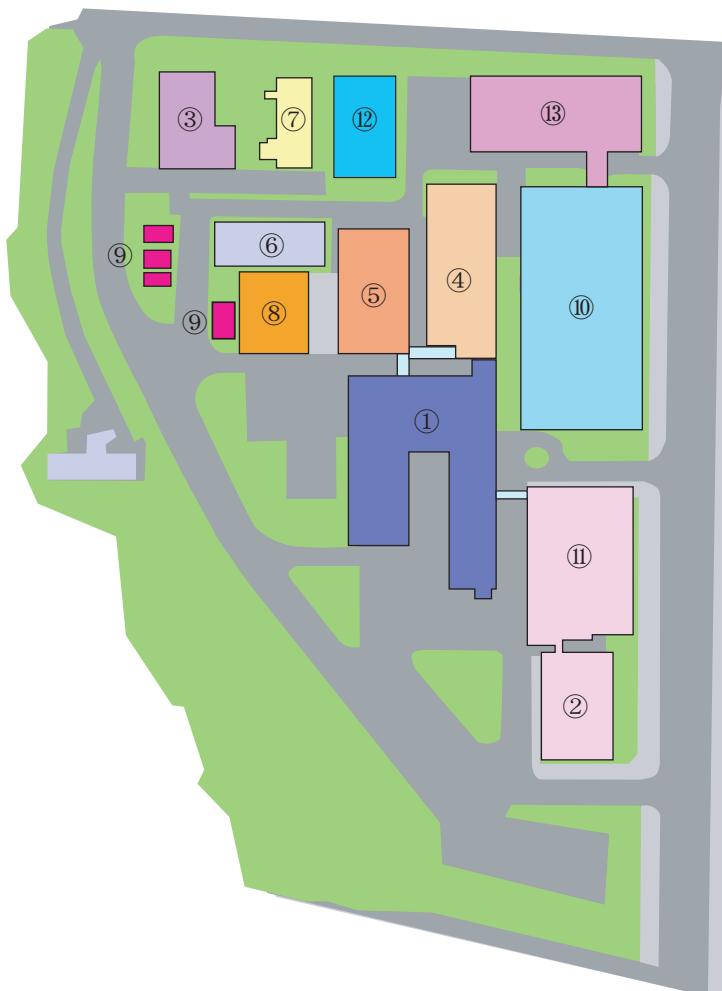
### 補助金等収入（間接経費を含む）

(単位：千円)

区分	平成21年度	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度
文部科学省 科学研究費補助金	688,999	453,744	466,212	439,280	436,020
厚生労働省 科学研究費補助金	118,789	107,632	87,913	130,669	245,040
厚生労働省老人保健事業 推進費等補助金	13,988	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)	120,037	85,441	74,992	76,651	0
計	941,813	646,817	629,117	646,600	681,060

敷地 ..... 36,036m<sup>2</sup>

建物 ..... 建面積 8,702m<sup>2</sup> 延面積 39,945m<sup>2</sup>



①本館（左）⑩融合型生命総合研究棟（右）



②南館



⑦感染症共同実験室・⑤⑥感染動物実験施設

建物名称	階数	建面積 (m <sup>2</sup> )	延面積 (m <sup>2</sup> )
①本館	7	1,706	6,397
②南館	2	409	945
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最先端感染症研究棟	9	973	7,448
⑫感染動物実験施設C棟	4	738	2,482
(免疫学フロンティア研究センター管理)			
⑬免疫学フロンティア研究センター棟	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



- 1 微生物病研究所
- 2 免疫学フロンティア研究センター
- 3 工学研究科
- 4 医学系研究科
- 5 生命機能研究科

- 6 医学部附属病院
- 7 本部事務機構
- 8 産業科学研究所
- 9 歯学部附属病院

