

戦略的創造研究推進事業  
－CRESTタイプ－

研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」

研究領域中間評価用資料

平成18年3月17日

## 1. 戦略目標

### 「先進医療の実現を目指した先端的基盤技術の探索・創出」

現在、ヒトゲノム計画の進展により、遺伝子の情報等遺伝子レベルでの生命現象が明らかになりつつあり、これらの知見を活用した新たな医療技術への期待が増大しつつある。

急速な高齢化社会を迎えて、今後の社会をより豊かで活力のあるものとするためには、現状では克服が困難な疾患に対する新たな医療技術等の技術革新が望まれている。

このため、戦略目標として「先進医療の実現を目指した先端的基盤技術の探索・創出」を設定し、DNA・たんぱく質工学技術、遺伝子ワクチン作製利用技術、ヒト幹細胞確立技術等の新しい医療技術の創出に向けた先端的基盤技術の探索・創出を進める。

なお、本戦略目標の下で行われることが想定される研究としては、例えば、DNA・たんぱく質・細胞工学技術の確立・高度化、遺伝子ワクチンの開発等が考えられる。

## 2. 研究領域

### 「免疫難病・感染症等の先進医療技術」(平成13年度発足)

— 遺伝子レベルでの発症機構の解明を通じた免疫難病・感染症の新たな治療技術の創製を目指して —

(領域の概要)

この研究領域は、再生医療や抗体工学等を含む先進医療のうち、免疫が関わる各種疾患(例えば免疫由来各種難病や各種感染症)に対する先進医療技術を中心とし、その他関連する先進医療技術も含め、次世代の医療技術の基礎と応用に関する研究を対象とするものです。

具体的には、免疫難病(自己免疫疾患やアレルギー等)の発症機構の遺伝子レベルでの解明とそれに基づいた新しい治療法、例えば抗体療法、遺伝子治療、DNAワクチン、幹細胞治療等の開発および結核、マラリア、エイズ等の細菌、原虫、ウイルス感染症に対する新しいワクチンや創薬の開発につながる基礎的研究を行う。

## 3. 研究総括

山西 弘一 (独立行政法人医薬基盤研究所 理事長)

(前研究総括) H13.4 ~ H16.11

岸本 忠三 (大阪大学大学院生命機能研究科 教授)

(総合科学技術会議 議員)

## 4. 採択課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	中間評価時 所属・役職	研究課題	研究費
平成 13年度	河岡 義裕	東京大学 教授	インフルエンザウイルス感染過程の解明とその応用	540
	瀬谷 司	北海道大学 教授	自然免疫とヒト難治性免疫疾患	337
	高井 俊行	東北大学 教授	IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服	484
	中西 憲司	兵庫医科大 教授	IL-18を標的とした自然型アトピー症の治療戦略	326
	三宅 健介	東京大学 教授	病原体糖脂質認識シグナル伝達機構の解明	464
平成 14年度	清野 宏	東京大学 教授	M 細胞の免疫生物学的解明とそれを標的とする粘膜ワクチンの開発	356
	小安 重夫	慶應義塾大 教授	病原微生物の宿主免疫系との共生戦略の解明による治療・制御法の開発	486
	阪口 薫雄	熊本大学 教授	獲得免疫における高親和性抗体の産生機構と感染症防御への応用	256
	鎮西 康雄	三重大学 教授	マラリア感染成立の分子基盤の解明と新たな感染阻止法の創出	424
	宮島 篤	東京大学 教授	肝臓における造血・免疫機構の解明と肝疾患治療への応用	330
平成 15年度	菊谷 仁	大阪大学 教授	セマフォリンによる免疫調節機構の解明と免疫制御への応用	455
	坂口 志文	京都大学 教授	制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発	458
	笹川 千尋	東京大学 教授	病原細菌の粘膜感染と宿主免疫反応抑制機構の解明による新治療・制御法の開発	245
	山中 伸弥	京都大学 教授	真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立	217
			<b>総研究費</b>	5416

## 5. 研究総括のねらい

免疫学は20世紀後半の生命科学分野で最も進展した領域の一つである。生体の免疫系を調節する細胞、分子の働きは、いまやコンピューターグラフィックをみるように解明されている。その成果は、例えば移植臓器の拒絶を防ぐ薬やリウマチに画期的効果を発揮する抗体等、実際の医療の場で大きな役割を演じている。さらに自然免疫研究の発展に伴う新たな発想のワクチンの進展や、ヒトの免疫系遺伝子を組み込んだマウスの作製等も免疫・アレルギー、感染症、癌の分野で新しい治療法や新しい医療の開発につながることを期待される。

また、近年のヒト胚性幹細胞(ES細胞)の確立は、移植医療に画期的な展開をもたらそうとしている。そして、ヒトやウイルス・細菌・原虫などの病原体の全ゲノム配列がほぼ解読された今、ゲノム情報にもとづいた蛋白質の構造と機能の解析が進んでいこうとしている。これらの展開は、21世紀の医学、医療に革命的变化をもたらすことが予想されている。

この領域では、免疫系や血液系の異常により引き起こされる難病や腫瘍、アレルギー・アトピー、種々の感染症等に対する新しい治療法や発症予防法の開発、原理に立脚した新しい医薬品の創出等に直接つながっていく可能性をもった基礎的研究を展開することを計画した。

## 6. 選考方針

日本の生命科学は着実に発展を遂げている。そのなかでも免疫学は次々と世界をリードする研究成果を上げている。その成果は、免疫・アレルギー、感染症、癌に対する画期的な治療法や医療の創製につながることを期待される。本研究領域では、その画期的な先進医療の実現を目指して、“ちょっと遅れて流行を追う”というような研究ではなく、ユニークで創造性に富み、しかもその研究成果が新しい診断・治療技術の開発につながっていくような、研究者の個性の現れたロマンのある研究提案を期待した。

選考は、研究の背景、独創性、新規性、研究の進め方、研究体制等の点から質疑応答を行い、提案課題の採択に関する検討を行った。採択に際しては、研究内容がユニークで創造性に富んだものであること、かつ研究計画が具体的に示され5年間で目標達成が十分に見込めること、加えて先端的医療技術の創出に繋がる成果が期待され、社会に貢献すると考えられるものに重点をおいた。採択された課題は、いずれも国際的に見て非常に高いレベルのものであり、研究成果は世界をリードする先進医療の実現への貢献が十分に期待できるものであった。

## 7. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザーとしては、免疫学、ウイルス学の分野で先端的研究を行っており、国際的にも高い業績をあげ、かつ広い視野を持つ、本来なら研究代表者に推薦したい方々であるが、この領域の発展のために、この分野の研究者を指導・育成して頂ける、下記の方々をお願いした。

領域アドバイザー名	所属	役職	任期
審良 静男	大阪大学	教授	平成13年4月～平成21年3月
内山 卓	京都大学	教授	平成13年4月～平成21年3月
笹月 健彦	国立国際医療センター	総長	平成13年4月～平成21年3月
高津 聖志	東京大学	教授	平成13年4月～平成21年3月
野本 明男	東京大学	教授	平成13年4月～平成21年3月

## 8. 研究領域の運営について

### 1) 採択課題に期待するもの

- 採択に際しては、研究内容がユニークで創造性に富んだものであること、かつ研究計画が具体的に示され5年間で目標達成が十分に見込めること、加えて先端医療技術の創出に繋がる成果が期待され、社会に貢献すると考えられるものに重点をおいた。

### 2) 研究の進捗状況の把握

- 研究開始後は、毎年「研究成果報告会」を開催し、研究代表者全員から、研究成果を報告頂き、採択時の目標からの進捗状況と今後の進め方を討議した。アドバイザーからも積極的な意見を頂き、研究計画に反映できるように配慮した。
- 研究成果報告会には、研究代表者だけでなく、共同研究者にも積極的に参加していただき、口頭発表だけでなく、ポスター発表も同時に開催し、活発な議論の場を設定した。研究チーム内だけでなく、研究チーム間の研究者間の競争と協調の相乗効果を重視し、より高いレベルの成果の達成を期待した。
- 16年度からは、毎年、公開シンポジウムを開催し、一般の方々にも多数参加頂いた。
- また、17年度には、研究総括が研究現場を訪問し、研究進捗状況を聞き、必要なアドバイスとともに研究の健全な進展を図った。

### 3) 評価と今後の研究に向けての助言

- 各研究課題の研究推進に向けての研究費の配分は、毎年実施した「研究成果報告会」での評価結果をもとに、研究実施報告および研究現場訪問などの結果も加味し、研究の進展状況を勘案して行ってきた。
- 研究費の配分は、研究の進展状況と今後の飛躍的発展が期待できる研究課題に対し、積極的に重点配分を行ってきた。一方、研究の方向性、進捗状況が当初計画と比較し問題がある場合には、研究計画の修正、研究の方向性などを助言し、研究の健全な進展を図ってきた。

## 9. 研究の経過と所見

本研究領域では、免疫系の異常により引き起こされる「免疫難病」と、種々の病原微生物に起因する「感染症」等に対する新しい治療法や発症予防法の開発に直接つながっていく可能性をもった基礎的研究を展開している。これまでの研究成果を、研究対象の主軸を置く研究分野から、1) 病原微生物側からの感染症の制御、2) 生体の防御機構からの免疫難病の制御、に分けて、以下に記載する。

### 9-1) 感染症の制御に向けて

#### インフルエンザウイルスの感染過程の解明とその応用(河岡チーム)

**(背景)** ウイルス感染症は、社会に多大な被害を及ぼしている。特に、インフルエンザは、その流行が社会全体の死亡率上昇につながる重要な伝染病である。世界中で 2000 万人もの死者を出したスペイン風邪のように、ひとたび世界的流行が起ると、社会に膨大な被害を及ぼしている。

**(成果)** 河岡チームは、インフルエンザウイルスの感染過程を細胞および個体レベルで明らかにし、得られた結果をウイルス感染症克服に応用することを目指している。インフルエンザウイルスをモデルとし、その人工合成法を駆使して、感染細胞におけるウイルス増殖ならびに感染動物における病原性発現機構の解明を行った。

これまでに、インフルエンザウイルスの 8 本に分節したゲノムは、選択的にウイルス粒子に取り込まれること、そして各 RNA 分節のウイルス粒子への取り込みに必要な機構を明らかにした。この結果を基に、インフルエンザとパラインフルエンザウイルスの両方の防御抗原を発現するウイルスを作製し、この組み換えウイルスが多価ワクチンとして有効であることを実証した。また、スペイン風邪ウイルスの病原性発現には、HA 遺伝子が重要であることを解明した。さらに、エボラウイルスの粒子形成並びに病原性発現に関わる要因についても明らかにした。

**(今後)** これらの成果は、感染症領域で世界をリードするものであり、抗ウイルス薬開発のターゲットを提示し、新しい概念のワクチンならびにワクチンベクターの創製につながるものである。特に、病原性の強いウイルスに対するワクチンの創製への応用が期待できるとともに、他のウイルス感染症研究のモデルとなる可能性など、今後の更なる成果が期待される。

#### マラリア感染成立の分子基盤の解明と新たな感染阻止法の創出(鎮西チーム)

**(背景)** マラリアは、世界の最も重要な感染症の一つですが、その対策は困難を極めている。マラリアの蚊から人への伝播は、原虫の特殊なステージであるスポロゾイトが肝臓へ感染することにより成立する。

**(成果)** 鎮西チームは、マラリア原虫の肝臓感染ステージであるスポロゾイトと肝内型原虫に着目して、新たな感染阻止法を開発することを目指している。

これまでに、各感染ステージの EST データベースを構築し肝臓感染ステージに特異的に発現する遺伝子を同定するとともに、遺伝子欠損原虫を作出して機能解析を行った。この結果、蚊の吸血から肝細胞感染に至る過程で必須となる多くの新規分子を見出した。特に、スポロゾイトの細胞通過能とそれに関与する原虫分子が感染の成立に重要な役割を持つことを明らかにした。またスポロゾイトによる肝細胞の認識に関与する複数の分子を明らかにした。

**(今後)** 新たに発見された原虫がコードしているタンパクは感染阻止のための標的分子として有望である。今後、これらのスポロゾイトの肝臓感染過程に重要な機能を持つ分子が、抗マラリア薬や感染阻止ワクチンの有力な候補となり、マラリア根絶技術に発展することを期待したい。

#### 病原細菌の粘膜感染と宿主免疫反応抑制機構の解明とその応用(笹川チーム)

**(背景)** 赤痢菌を初めとする粘膜病原細菌は、下痢疾患を引き起こし、毎年多くの人命が失われている。粘膜病原細菌の感染は、菌の分泌性機能タンパク質(エフェクター)と宿主因子の相互作用により進行する。

**(成果)** 笹川チームは、赤痢菌をモデルとして、菌の細胞侵入、細胞内増殖、細胞間拡散機構、お

よびその間に発動される自然免疫の回避機構を明らかにするとともに、この知見をもとに赤痢ワクチンの開発を目指している。

これまでの研究により、赤痢菌の細胞侵入に中心的な役割を果たすエフェクターを同定し菌の侵入機構を解明した。また細胞質内で赤痢菌はオートファジーを回避するとともに、その間誘導される炎症反応を抑制する能力を備えていることを示した。さらに、マクロファージへ侵入した赤痢菌から遊離されるリポDが caspase-1/TLR4 非依存的に細胞死および炎症を誘導することを示した。この知見を利用して、マクロファージへ効率よく侵入するが細胞質へ移行不能な赤痢ワクチン株を作成し、その弱毒化と感染防御免疫誘導能を従来型のものと比較している。

(今後)赤痢菌が分泌する一群のエフェクターの解明を通し、それらの感染成立に至る役割を分子レベルで明らかにすることにより、安全な赤痢ワクチン等、新しい治療・制御法、新たな感染症治療法の基盤技術への発展と波及効果が期待できる。

#### 病原微生物の宿主免疫系との共生戦略の解明による治療・制御法の開発(小安チーム)

(背景)病原微生物は、宿主の免疫反応に巧みに干渉し、感染を成立・持続させる。感染の成立は病原体と宿主のせめぎ合いであり、宿主は感染の成立を防ぐために免疫機構を作動させる。

(成果)小安チームは、病原微生物と宿主免疫担当細胞の相互作用の解析を通じて病原微生物の共生戦略の分子機構を解明し、新たな治療法の開発に資することを目指す。特に感染の検知から獲得免疫へ橋渡しをする細胞として樹状細胞に注目し、ヘリコバクターと腸管病原性大腸菌(EPEC)を取り上げて研究を進め、これまでにヘリコバクターの感染が腸管のパイエル板で検知されることを初めて明らかにした。また、EPEC がエフェクター分子 EspH によって樹状細胞の PI3K 経路を抑制して IL-12 の発現を亢進し、自らに有利な Th1 環境を宿主に誘導することを *in vitro* と *in vivo* の両方から明らかにした。

(今後)腸管における樹状細胞の機能の重要性を示しており、今後は樹状細胞の機能を精査するとともに、樹状細胞を対象に抗原提示やサイトカイン発現を介して人為的に免疫系に介入することで新たな治療法の開発に貢献することを期待している。

#### M細胞の免疫生物学的解明とそれを標的とする粘膜ワクチンの開発(清野チーム)

(背景)感染防御機構の第一線バリアである粘膜免疫の誘導・制御は、腸管パイエル板と鼻咽頭関連リンパ組織(NALT)が司令塔的役割を果たしている。しかし、パイエル板や NALT に存在する抗原取り込み専門細胞「M細胞」については、未解明である。

(成果)清野チームは、パイエル板や鼻咽頭関連リンパ組織に抗原取り込み細胞として存在する M細胞の特異的抗原分子を同定する研究を進めてきた。

この過程で世界に先駆けて、新しい腸管粘膜面からの抗原取り込みの場としての「Villous M cell・絨毛M細胞」の存在を発見した。現在までにM細胞はパイエル板などの粘膜関連リンパ組織だけに発達・存在すると考えられてきた定説を覆す結果を発表する事が出来た。今後の粘膜ワクチン開発に向けては、抗原送達の新規標的細胞として考慮していかなければならない。さらに、パイエル板M細胞と絨毛M細胞の免疫生物学的詳細を明らかにする為、M細胞特異的モノクローナル抗体樹立に向けて、研究を展開しその候補抗体の確立に成功し、その認識抗原同定など研究を推進している。また DNA マイクロアレイ法および *in situ* hybridization 法による包括的遺伝子発現比較により 98 個の M細胞特異的遺伝子候補群の中から合計8つの M細胞特異的遺伝子を同定した。現在、これら分子の蛋白発現確認及び機能解析のためノックアウトマウスの作出を行なっている。

(今後)今後、本研究計画で樹立した M細胞特異的抗体に結合させたワクチン抗原の M細胞標的運搬性についても検討を進めており、M細胞標的型粘膜ワクチン開発へ向けての大きな第一歩を踏み出した。

#### 獲得免疫における高親和性抗体の産生機構と感染症防御への応用(阪口チーム)

(背景)外界の病原微生物に対する獲得免疫反応は、末梢のリンパ組織において、抗原と特異的で高親和性に結合する抗体を産生することによって、重篤な感染症から我々を守っている。この獲得免疫反応をくぐり抜ける病原体が現れ、現代医学の緊急の課題となっている。

(成果)阪口チームは、「抗原特異的な抗体親和性の亢進」に焦点をあて、その機構を明らかにし、

高親和性抗体産生機能の飛躍的な上昇を企図した新しい分子治療戦略を展開している。これまでに、胚中心 B 細胞で GANP(germinal center-associated nuclear protein) RNA プライマーゼが高親和性抗体産生に必須であることを示した。その機序が V 領域遺伝子変異のレベルの機能と高親和性 B 細胞が選別される際の機能とによって構成されていた。抗原の侵入に反応してリンパ細胞の増殖、遺伝子再構成、細胞の生存と死が変動する。GANP 機能の破綻は、重篤なリンパ腫や様々な腫瘍の発症を引き起こした。GANP トランスジェニックマウスが高親和性抗体産生の新しい技術となり、この技術が様々な感染症に対する新しい武器となることを例示した。**(今後)** 今後、この GANP 分子を遺伝子導入したトランスジェニックマウスは、これまで作製が困難であった高親和性抗体の産生を可能とする技術として、共同研究、共同開発が活発に始められつつある。重篤で難治とされているさまざまな感染症から我々を防御する方策を提示するものとして、今後の発展が期待できる。

### 病原体糖脂質認識シグナル伝達機構の解明(三宅チーム)

**(背景)** エンドトキシンは、病原体糖脂質の中で最も強く免疫機構を活性化し、多くの疾患と関連するだけでなく、それ自体がエンドトキシンショックを引き起こします。エンドトキシンショックは治療薬がなく、特に病院での死因として重大で(本邦約 12 万人/年、米国 10 万人以上/年)、しかも増加傾向にある。

**(成果)** 三宅チームは、自然免疫病原体認識分子 Toll-like receptor(TLR)による病原体成分認識機構の解明を目指し、TLR を標的とした TLR の制御法の開発を目指している。具体的には、TLR4/MD-2 による LPS 認識機構の解明と共に、TLR4/MD-2 に対する抗体を用いて、エンドトキシンショックの新たな治療法の可能性を探っている。

これまで、TLR4/MD-2 と LPS との結合、その後の TLR4 の clustering を示してきた。さらに TLR4 に会合する新規分子 RPAT4A が、TLR4 の細胞表面への発現を制御することも示した。また TLR4 に対する抗体を用いて、LPS で誘導される肝細胞アポトーシスを予防することに成功した。この抗体は agonistic であるが、LPS とは異なる作用を有しており、その違いを明らかにすることで、新たな治療法の可能性を探る。

**(今後)** 今後、TLR による病原体認識機構の解明が進むことが期待したい。エンドトキシンショックの治療法については、抗体の作用機序を明らかにすることが第 1 であり、その結果から、ヒト応用への展望が開けると考えられる。同時に、エンドトキシンショックの治療につながるものが重要であり、採択時の目標に向けて一層の進展を望みたい。

### 自然免疫とヒト難治性免疫疾患(瀬谷チーム)

**(背景)** Toll 様受容体(TLR)は、自然免疫の活性化と引き続く獲得免疫の形成に重要な役割を果たしている。

**(成果)** 瀬谷チームは、ウイルスや細菌に対するヒト TLR を介した自然免疫の観点から免疫応答機構を体系的に解析し、その結果を難治性免疫疾患の病因・病態の解明に反映させることを目指している。

これまでに、微生物の認識レセプター(TLR, 10 種)をヒトで同定し、それらを弁別認識する単クローン抗体を作製した。それらの機能解明から TLR を介した抗がん免疫、抗ウイルス免疫の起動メカニズムをヒトの系で解析した。遺伝子欠損マウスで得られた各種 TLR の生理機能がヒトで再現できることを樹状細胞と RNAi/レンチウイルスの発現系で検証した。マウス移植がんの系で、BCG-CWS は樹状細胞を CTL 誘導型に活性化したのに対し、polyI:C は NK 活性化型の樹状細胞を誘導し、がんを退縮させた。また、IFN- $\beta$  は TLR3 で誘導されたが BCG-CWS (TLR2/4) では誘導されなかった。これらの相違は adapter 分子(MyD88 vs TICAM-1)とそれに続くシグナル経路が異なることに起因した。TLR3 の IFN 誘導経路は一部のヒトウイルス抑制に有効であった。

**(今後)** これらの結果は、癌、ウイルス感染による難治性疾患への応用の可能性を示したものである。特に、癌のアジュバント療法、または樹状細胞療法などの臨床応用を見据えた研究の今後の発展が大いに期待できる。

## 9-2) 免疫難病の制御に向けて

### IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服(高井チーム)

**(背景)** IgL 受容体 (Immunoglobulin-like receptor, IgLR) は、ペアで免疫系を正と負の両方向に制御するレセプター群である。

**(成果)** 高井チームは、Fc レセプターや PIR などに代表されるイムノグロブリン様受容体群 (IgLRs, immunoglobulin-like receptors), とりわけ抑制性の IgLRs による未知の免疫制御機構が、どのようにアレルギーや自己免疫疾患など様々な免疫難病に寄与しているかについて解析を進めている。

これまでに、PIR が MHC クラス I 分子を認識し、T 細胞レセプター、NK 細胞レセプターとは異なる、新たな自己認識システムを構築し、移植免疫やアレルギーにおいて重要な制御分子であること、さらに骨髄系細胞の分化に IgLRs が機能することが必須であることを見いだした。またアレルギーや自己免疫疾患にも、エフェクター細胞上の PIR と MHC クラス I 分子の結合によりこれらが制御されていることも明らかになりつつある。

**(今後)** 今後は、さらに免疫難病の成因への寄与をヒト PIR の機能解析を取り入れながら解明し、免疫難病の理解と免疫難病の克服につながる新しい局面の打開と新規治療法の構築を目指している。たとえばヒト PIR は活性化型も抑制型も複数あり、これらの発現量の多寡により個人の免疫特性が決定されていることも考えられる。ヒト PIR のタイピング、発現制御機構に関して前臨床の基礎データの集積を進める。これを基に、創薬のターゲットとしての PIR の有用性を確認しつつ、トランスレショナルサイエンスを重視した態勢で PIR を含めた IgLRs の制御に基づく治療法の構築を期待したい。

### IL-18 を標的とした自然型アトピー症の治療戦略(中西チーム)

**(背景)** アレルゲン/IgE の関与なしに起こるアトピー性皮膚炎、あるいは感染が引き金となって発症する気管支喘息が存在する。

**(成果)** 中西チームは、アレルゲンに対する IgE 応答がアトピー症の原因であるという医学界の従来の定説に対して、IgE 応答を必要としない「自然型アトピー症」の重要性を指摘し、異常な IL-18 応答がその原因であることを明らかにし、その有効な治療法の樹立を目指している。

これまでに、微生物感染により分泌される IL-18 が、Th1 と Th2 炎症性サイトカインの両者を産生する Super Th1 細胞の分化・活性化を強力に誘導し、その結果、局所における病的炎症が進展することを証明した。気道感染を契機に増悪する難治性気管支喘息や、黄色ブドウ球菌局所感染が原因あるいは増悪因子となるアトピー性皮膚炎での、IL-18 を標的とした治療応用が有望である。

**(今後)** これまでの研究結果は、臨床応用に向けて着実に進展している。今後、IL-18 を標的とした完全ヒト抗体による治療戦略のさらなる進展を期待している。

### セマフォリンによる免疫調節機構の解明と免疫制御への応用(菊谷チーム)

**(背景)** 神経軸索のガイダンス因子として知られるセマフォリン分子は、免疫系においても免疫反応の成立や調節に重要な役割を果たしている。

**(成果)** 菊谷チームは、セマフォリン分子による免疫制御機構の解明とそれを基盤にした免疫病治療法開発の可能性を探ることを目的として行っている、

これまでに以下の成果を得た。1) Sema4D が CD72 を介して B 細胞や樹状細胞の活性化を調節することを示した。2) Sema4A が Tim2 分子を介して T 細胞初期活性化と Th1 細胞分化を制御していることを示した。3) マウスモデルを用いて、Sema4A が自己免疫疾患やアレルギー病治療の分子標的になりうることを示した。4) Sema6D が Plexin-A1 を介して心臓形態形成、樹状細胞活性化、破骨細胞分化を制御することを示した。

**(今後)** 今後、これまでの成果を発展させ、免疫制御機構の理解を飛躍的に進めると同時に、免疫病の革新的な治療法の開発に繋がるものと大いに期待される。

### 制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発(坂口チーム)

**(背景)** 制御性 T 細胞は、自己に対する免疫不応答の成立・維持に積極的に関与している。特に、内在性 CD25+CD4+制御性 T 細胞は、正常個体の末梢に生理的に存在し、免疫応答を抑制的に制御する。CD25+CD4+制御性 T 細胞の機能異常は自己免疫病、アレルギーなどの免疫疾患の直

接的原因となり得る。

**(成果)**坂口チームは、制御性T細胞の産生機構、抑制機能を、分子、細胞、個体レベルで解明する。最近の成果として、転写因子 Foxp3 が、ヒトでも制御性T細胞のマスター制御遺伝子であることを証明し、Foxp3 遺伝子の導入により正常T細胞を制御性T細胞に転換できることを示した。また、Interleukin-2 (IL-2)は、内在性制御性T細胞の維持に不可欠なサイトカインであり、従って CD25 (IL-2 受容体  $\alpha$  鎖)は、この細胞集団の単なるマーカーでなく、その機能に不可欠の分子であることを示した。

**(今後)**今後、制御性T細胞の操作による様々な免疫疾患の治療、予防をめざす。これまでの成果から、自己免疫疾患、慢性感染症、アレルギー、腫瘍免疫、移植免疫への応用に発展することが期待される。

#### 肝臓における造血・免疫機構の解明と肝疾患治療への応用(宮島チーム)

**(背景)**肝臓は、成体における主要な代謝器官であると同時に、免疫組織であり、生体防御の前線でもある。また、胎生期では最も主要な造血組織である。

**(成果)**宮島チームは、胎生肝臓および成体肝臓を構成する細胞の表面抗原に対する抗体を作成し、これらの細胞を分離して分子細胞生物学的に研究することで、最終的に治療への応用を目指している。

造血幹細胞が最も活発に増幅する胎生肝臓での造血機構の解析から、胎生肝臓造血において、肝芽細胞が造血支持細胞であることを明確に示した。さらに、成体骨髓造血幹細胞とは増殖性の異なる造血幹細胞が胎児肝臓に存在することを示し、これを使った新たな造血幹細胞増幅法開発の可能性を検討している。また、肝疾患の病態解明に向けて、肝臓を構成する細胞種の分離法を開発し、成体肝臓の障害抑制能を示すサイトカインの作用機序の解析を進めている。

**(今後)**今回見出した造血幹細胞の前駆細胞集団は、従来の造血幹細胞とは異なる移植のソースとなる細胞として、発生・再生科学の面から医療への応用につながることを期待している。今後は、このツールを用いて、各種肝炎モデルでの非実質細胞の機能解析が進展し、肝疾患治療への応用への基礎技術となることを期待したい。

#### 真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立(山中チーム)

**(背景)**ヒト胚性幹細胞(ES 細胞)は、若年性糖尿病や脊髄損傷など多くの疾患に対する移植療法の資源として期待されている。また ES 細胞から分化させた各種細胞を薬剤のスクリーニング、薬効や毒性の評価に用いることも期待されている。しかしヒト ES 細胞は受精卵を破壊して樹立するため、倫理的観点からの反対論も多い。

**(成果)**山中チームは、患者自身の体細胞を初期化し、ES 細胞に類似した多能性幹細胞の樹立を目標としている。

これまでの研究で、マウスにおいては少数の因子の組み合わせにより体細胞から ES 類似細胞を樹立できることを見いだした。

**(今後)**今後は、ヒト細胞に同技術を適用し、倫理的問題や拒絶反応の無い多能性幹細胞、および同細胞に由来する分化細胞を提供することを目指す。患者自身の体細胞から多能性幹細胞を樹立し、若年性糖尿病、脊髄損傷、心筋疾患など多くの難病に対する拒絶反応の無い細胞移植療法の実現を期待したい。

## 10. 総合所見

### 1) 戦略目標の現実化に向けて(現時点までの研究結果・経過)

- ・ 本領域は、戦略目標として「先進医療の実現を目指した先端的基盤技術の探索・創出」の現実化を目標に設定された。
- ・ 採択された課題は、いずれも国際的に見て非常に高いレベルのものであり、戦略目標の達成が十分に見込め、その研究成果は世界をリードする先進医療の実現への貢献が十分に期待できるものであった。
- ・ 同時に、免疫に関わる各種疾患(免疫由来各種難病や各種感染症)に対する先進医療技術の基礎と応用に関する研究を対象とするもので、研究領域の目的をほぼ覆うことができたと認識している。
- ・ 研究開始後は、毎年、年度末に研究成果報告会を開催し、全ての研究課題について、その1年で行った研究成果、特に未発表のデータを中心とする最新の成果を報告頂いている。
- ・ 討議には、総括、領域アドバイザー、研究代表者だけでなく、共同研究者も積極的に参加した。口頭発表だけでなく、ポスター発表も同時に開催し、活発な討議と意見交換を行っている。
- ・ 研究チーム内だけでなく、研究チーム間の研究者の間で、研究目標達成に向けた競争と協調の相乗効果を重視し、より高いレベルの成果の達成を図った。
- ・ また、研究現場を訪問し、直接研究の現状の率直な報告を受け、必要な意見交換・助言を行うとともに、より研究支援が必要な課題については、積極的な支援を行って、進展を図った。
- ・ これらの研究進捗状況の評価をもとに、当初計画から大きく進展し更なる発展が期待できる課題には、積極的な研究支援を図った。また、逆に、戦略目標から外れ、好ましくない方向へ進んでいると評価された課題には、研究計画の変更をお願いし、研究予算にも反映させ、戦略目標の達成に焦点を向けていただいた。
- ・ 現段階では、これらの経過を経て、「先進医療の実現を目指した先端的基盤技術の探索・創出」に向けて、概ね順調に推移していると考えている。

### 2) 領域を設けたことによる効果と意義

- ・ 領域の研究成果報告会や評価会は、同一の戦略目標の現実化に向けた活発な討議が行われ、競争と協調の相乗効果が生まれ、有効に実施することができた。
- ・ 本報告会は、免疫学分野の研究者と微生物学分野の研究者が垣根を越えた非常に有意義な議論の場となった。その結果、感染症の制御に向けて、病原微生物側に軸足をおいた研究と宿主側の免疫系に軸足をおいた研究者の共同研究へと発展し、競争と協調の相乗効果が期待できる研究体制に発展している。
- ・ また、各研究課題の研究推進に向けての研究費の配分、追加配分も、研究実施報告だけでなく、毎年実施した「研究成果報告会」等での評価結果をもとに、研究の進展状況を勘案して、積極的に行うことができた。
- ・ 特に、研究の進展状況と今後への飛躍的発展が期待できる研究課題に対しては、研究費を積極的に重点配分することができた。
- ・ また、研究目標や研究の進展状況に問題のある課題には大幅な減額を行い、一層の努力を促すとともに、研究計画の修正、研究の方向性などを指摘し、研究の健全な進展を図ってきた。
- ・ これらの対応ができたのは、CRESTの枠組みでなければ出来ない柔軟な研究支援体制によるものと認識している。

### 3) 今後への期待と展望

- いくつかの研究課題で、免疫系や血液系の異常により引き起こされる難病や腫瘍、アレルギー・アトピー、種々の感染症等に対する新しい治療法や発症予防法の開発、原理に立脚した新しい医薬品の創出等に直接つながっていく成果が生まれつつある。
- 今後とも、終了時点で実用化につながる先端的基盤技術の創出がひとつでも多く達成されているように、適宜アドバイスをを行い、当初目標の達成に向けた支援を積極的に行っていく予定である。
- また、終了時点では、先端的医療技術の創出に繋がる研究成果は特許等で十分に知的財産権を保護したうえで、その成果を判りやすく示し、アピールして行きたい。

領域評価資料 添付資料(CRESTタイプ)  
研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」

## 1. 応募件数・採択件数

採択年度	応募件数	面接件数	採択件数
平成13年度	52	11	5
平成14年度	45	12	5
平成15年度	52	11	4
採 択 数 計			14

## 2. 主要業績

## 2-1 外部発表及び特許出願

研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」外部発表及び特許出願(H13～H17.9)  
(研究代表者毎)

		論文発表		口頭ポスター発表		特許出願 バイドール非適用		特許出願 バイドール適用	
		国内	国外	国内	国外	国内	国外	国内	国外
H 13 年 度	河岡	20	61	94	54	1	0	0	0
	瀬谷	26	50	74	14	3	2	2	0
	高井	0	28	29	18	4	0	0	0
	中西	15	56	113	43	6	2	2	0
	三宅	0	22	63	28	2	1	0	0
H 14 年 度	清野	0	35	9	36	1	0	0	1
	小安	2	21	53	11	0	0	2	0
	阪口	0	17	25	8	0	0	0	0
	鎮西	0	6	7	14	0	0	1	0
	宮島	0	29	41	25	2	0	2	0
H 15 年 度	菊谷	0	6	3	4	0	0	0	0
	坂口	21	45	56	44	0	0	3	0
	笹川	0	5	4	1	0	0	0	0
	山中	0	11	36	12	00	0	2	0
領域合計		84	392	607	312	19	5	14	1

研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」外部発表及び特許出願(H13～H17.9)  
(年度毎)

	論文発表		口頭ポスター発表		特許出願 バイドール非適用		特許出願 バイドール適用		
	国内	国外	国内	国外	国内	国外	国内	国外	
H13	5	5	19	3	0	0			
H14	20	43	95	29	7	1			
H15	23	85	137	65	11	1	1	0	
H16	23	184	258	171	1	3	8	0	
H17	13	75	98	44	0	0	5	1	
領域合計		84	392	607	312	19	5	14	1

## 2-2 代表的な発表論文

**研究課題名: インフルエンザウイルスの感染過程の解明とその応用****研究代表者: 河岡義裕**

1) Kobasa D, Takada A, Shinya K, Hatta M, Halfmann P, Theriault S, Suzuki H, Nishimura H, Mitamura K, Sugaya N, Usui T, Murata T, Maeda Y, Watanabe S, Suresh M, Suzuki T, Suzuki Y, Feldmann H, Kawaoka Y. Enhanced virulence of influenza A viruses with the haemagglutinin of the 1918 pandemic virus. *Nature* 431:703-707, 2004.

スペイン風邪は世界で2千万人から4千万人の犠牲者を出した。何故スペイン風邪ウイルスがそのような強い病原性を発揮したかを明らかにするために、スペイン風邪のHAとNA遺伝子を持つウイルスを人工合成し、マウスにおける病原性を調べた。その結果、スペイン風邪の強い病原性発揮にはHAが重要で、スペイン風邪ウイルスのHAを持つウイルスはマウスに出血性の肺炎を引き起こした。スペイン風邪ウイルスのHAには、他のウイルスのHAと比較して特に変わったところはなく、未知のメカニズムによりこのHAがウイルスに強い病原性を付与していることが示唆された。

2) Le QM, Kiso M, Someya K, Sakai YT, Nguyen TH, Nguyen KHL, Pham ND, Nguyen HH, Yamada S, Muramoto Y, Horimoto T, Takada A, Goto H, Suzuki T, Suzuki Y, Kawaoka Y. Emergence of an oseltamivir-resistant H5N1 influenza A virus. *Nature* 437:1108, 2005.

オセルタミビルはインフルエンザの特効薬として知られ、パンデミックに備え、世界各国がその備蓄を始めている。私たちは、オセルタミビル治療患者から分離されたH5N1ウイルスを解析し、本剤耐性ウイルスが出現していることを初めて見出した。動物実験において、オセルタミビルは本剤耐性ウイルスの増殖を抑えることができなかったが、もうひとつの抗インフルエンザ薬であるザナミビルはその増殖を抑えた。以上の結果は、H5N1ウイルスによるパンデミックが起きた際には、オセルタミビル耐性ウイルスが問題となる可能性を示唆するとともに、ザナミビルの備蓄も検討する必要があることを示した。

3) Noda T, Sagara H, Yen A, Takada A, Kida A, Cheng RH, Kawaoka Y. Architecture of ribonucleoprotein complexes in influenza A virus particles. *Nature* 439: 490, 2006.

ウイルスが増殖するためにはそのゲノムがウイルス粒子に取り込まれなくてはならない。インフルエンザウイルスはそのゲノムが8つの分節に分かれており、これらの分節がどのようにウイルス粒子に取り込まれているかは謎であった。電子顕微鏡を用いてウイルスの粒子構造を解析することにより、インフルエンザウイルスのゲノムは、8つの分節がひとつのセットとして規則正しくウイルス粒子に取り込まれることを明らかにした。この結果は、8つの分節の集合ならびにウイルス粒子への取り込みのステップが抗ウイルス薬開発のためのターゲットになることを示した。

**研究課題名: 自然免疫とヒト難治性免疫疾患****研究代表者: 瀬谷司**

1) Oshiumi, H., M. Matsumoto, K. Funami, and T. Seya. 2003. A novel adapter molecule that participates in Toll-like receptor-mediated interferon-beta induction. *Nature Immunol.* 4: 161-167.

TLR3, TLR4のtype I IFN誘導経路はその当時不明であった。我々はyeast two-hybrid法でヒトTLR3の細胞内領域に特異的に結合する分子を同定した。この分子はTLR3の細胞内ドメインと相同なモチーフを含み、N末、C末に長い伸張領域をもつ特有なアダプター分子であった。N末かTLRの相同領域に変異を入れるとIFN誘導能は抑えられた。また、この分子をsiRNAノックダウンするとTLR4

のIFN誘導能も阻害された。以上からこの分子がTLR3/4によるIFN誘導を司るアダプター分子と同一し、TIR-containing adapter molecule (TICAM)-1と名付けた。

2) Akazawa T., H. Masuda, Y. Saeki, M. Matsumoto, K. Takeda, S. Akira, I. Azuma, K. Toyoshima, and T. Seya. 2004. Adjuvant-mediated tumor regression and tumor-specific CTL induction are impaired in MyD88-deficient mice. *Cancer Res.* 64: 757-764.

マウス移植がんの系でTLR2/4のリガンド、BCG-CWSが腫瘍退縮効果を発揮するメカニズムを解明した。TLR2/4はMyD88を共通のアダプターとして使い、がん抗原とBCG-CWS投与により効率よく腫瘍特異的CTLを誘導した。従って、MyD88は従来報告されたcytokine誘導の他にcross-primingも惹起する。MyD88欠損マウスで腫瘍特異的CTLが誘導されないことを示してTLR2/4-MyD88依存性のcross-priming系の存在を証明した。

3) Shingai, M., N. Inoue, M. Okabe, T. Akazawa, Y. Miyamoto, M. Ayata, K. Honda, M. Kurita-Taniguchi, M. Matsumoto, H. Ogura, T. Taniguchi, and T. Seya. 2005. A mouse model for wild-type measles virus infection: CD11c-positive dendritic cells are nidus for systemic viral spreading. *J. Immunol.* 175: 3252-3261.

麻疹ウイルス(negative-strand RNA virus)野外株がtype I IFNを誘導しにくいためにヒト樹状細胞を標的細胞として選択的に感染することを示してきた。本研究は麻疹ウイルスレセプターを発現するTGマウスを作製し、感染動物モデルとした結果を示した。1. 野外株はヒト細胞にIFN- $\beta$ を誘導しないが、麻疹ウイルスレセプター(CD46/CD150)発現マウス細胞にIFN- $\beta$ を誘導した。2. その結果、マウス個体では野外株感染が極めて成立しにくかった。3. マウス細胞の麻疹ウイルス感染はIFN- $\alpha/\beta$ レセプターをノックアウトしたCD46+/CD150+/IFNAR-の樹状細胞で始めて観察された。以上のことはIFN- $\alpha/\beta$ がnatural tropismを担っており、antiviral innate defenseの要であることを示唆する。

## 研究課題名: IgL受容体の理解に基づく免疫難病の克服

研究代表者: 高井俊行

1) Nakamura A, Kobayashi E, Takai T. Exacerbated graft-versus-host disease in *Pir b<sup>+</sup>* mice. *Nature Immunol.* 5 (6): 623-629 (2004)

B細胞、樹状細胞、マクロファージ、マスト細胞上に発現する新規イムノグロブリン様受容体(IgLR)分子群であるPIRの生理機能、およびそのアレルギーや自己免疫疾患との関係について解明すべく、PIRの生理的リガンドがMHCクラスI分子である証拠を見出し、このレセプター・リガンド相互作用が生理的に重要であることを証明する知見を得た。PIRはマウスMHCクラスI分子とおよそ $10^{-6}$ Mの $K_d$ 値で結合し、また広い特異性を持つ。PIR-B欠損マウスに野生型マウスの脾臓細胞を移入することで誘導されるGVHDはコントロールマウスよりも重症化し、致死的となることなどのデータから、樹状細胞の制御を行っていることが示唆された。即ち、移植免疫におけるPIRの制御の理解の重要性が示されたことになる。

2) Koga, T., Inui, M., Inoue, K., Kim, S., Suematsu, A., Kobayashi, E., Iwata, T., Ohnishi, H., Matozaki, T., Kodama, T., Taniguchi, T., Takayanagi, H., Takai, T. ITAM-mediated costimulatory signals cooperate with RANKL for bone homeostasis. *Nature* 428, 758-763 (2004)

慢性関節リウマチにおける骨軟骨破壊のメカニズムの一つとして、破骨細胞の分化と異常活性化が挙げられる。しかしながら破骨細胞の分化プロセス、活性化プロセスにどのような分子機構がはたらいているのかについては十分に理解されていない。これまで破骨細胞の分化には骨芽細胞などから提供されるRANKL(receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand)が必要十分と考えられていたが、我々は本論文においてRANKL以外に多数のIgLR群が活性化する必要があることを示した。この成果により、慢性関節リウマチ患者の破骨細胞のはたらきの制御は、IgLRを介する活性化経路を人為的に修飾することで達成で

きる可能性が指摘される。

3) Ujike, A., Takeda, K., Nakamura, A., Ebihara, S., Akiyama, K., Takai, T. Impaired dendritic cell maturation and increased  $T_H2$  responses in PIR-B<sup>-/-</sup> mice. *Nature Immunol.* 3, 542-548 (2002)

新規な IgLR である PIR を発見し、その抑制型である PIR-B 遺伝子欠損マウスの解析から、PIR-B が B 細胞を負に制御するだけでなく、樹状細胞の機能制御を通じて Th1/Th2 バランスの制御を行っていることを見出した。PIR-B 欠損マウスは抗体産生が Th2 型に傾く傾向にあることなど、樹状細胞の機能制御に深く関わっており、この制御により免疫難病の克服につながる新規治療法が開発できる端緒が示された。

### 研究課題名:「IL-18 を標的とした自然型アトピー症の治療戦略」

研究代表者:中西憲司

1) IL-18 contributes to the spontaneous development of atopic dermatitis-like inflammatory skin lesion independently of IgE/stat6 under specific pathogen-free conditions. Konishi, H., Tsutsui, H., Murakami, T., Nakano, H., Yamanaka, K., Yumikura-Futatsugi, S., Tanaka, M., Iwakura, Y., Fuchs, E. V., Okamura, H., Suzuki, N., Nakanishi, K. and Mizutani, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99, 11340-11345. 2002.

要旨:表皮細胞から多量の IL-18 が分泌するように遺伝子改変したマウス(KCASP1Tg)はアトピー性皮膚炎を自然発症する。IgE の産生に必要な IL-4 シグナル分子である Stat6 遺伝子を欠損した KCASP1Tg は、KCASP1 と同様にアトピー性皮膚炎を発症した。しかし、IL-18 遺伝子を欠損したマウスは皮膚炎を完全回避した。これらのことから、皮膚局所での IL-18 過剰分泌は、IgE 応答を必要としない内因性アトピー性皮膚炎の原因であることを証明した。これを「自然型アトピー性皮膚炎」と提唱した。

2) Nonredundant roles for CD1d-restricted natural killer T cells and conventional CD4<sup>+</sup> T cells in the induction of immunoglobulin E antibodies in response to interleukin-18 treatment of mice. Yoshimoto, T., Min, B., Sugimoto, T., Hayashi, N., Ishikawa, Y., Sasaki, Y., Hata, H., Takeda, K., Okumura, K., Van Kaer, L., Paul, W. E. and Nakanishi, K. *J. Exp. Med.* 197, 997-1005. 2003.

要旨:IL-18 は IL-12 と協調して Th1 応答を誘導する。一方、IL-18 と IL-2 の生体内投与は、CD4 陽性細胞、IL-4、Stat6 分子依存性に多クローン性の IgE 産生を誘導する。NKT 細胞欠損マウス、あるいは conventional T 細胞欠損マウスは、IL-18 と IL-2 を同時に投与されても IgE を産生しない。IL-2+IL-18 刺激を受けると、NKT 細胞は CD40L の発現を増強するとともに IL-4 の産生を誘導する。NKT 細胞と conventional T 細胞が相互に協調して、IgE 産生を誘導すると考えられる。

3) Interleukin 18 acts on memory T helper cells type 1 to induce airway inflammation and hyperresponsiveness in a naive host mouse. Sugimoto, T., Ishikawa, Y., Yoshimoto, T., Hayashi, N., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. *J. Exp. Med.* 199, 535-545. 2004.

要旨:Th1 応答は Th2 応答を阻止する。ところが動物実験では Th2 細胞と Th1 細胞の混在は気管支喘息病態を増悪する。我々は、抗原と IL-18 で刺激された Th1 細胞が IFN- $\gamma$  のみならずアレルギー病態に関与する IL-13 や種々のケモカインを産生することを見出した。更に、Th1 細胞を移入したマウスに、抗原と IL-18 を点鼻したところ、抗原点鼻だけでは誘導されない気管支喘息が誘発された。また、気道過敏性の誘導に IFN- $\gamma$  が、アレルギー性炎症の増強に IL-13 が関与することが示めされた。

**研究課題名: 病原体糖脂質認識シグナル伝達機構の解明****研究代表者: 三宅健介**

1) Essential role of MD-1 in lipopolysaccharide responsiveness and Toll-like receptor 4 distribution. Nagai, Y., S. Akashi, M. Nagafuku, M. Ogata, Y. Iwakura, S. Akira, T. Kitamura, A. Kosugi, M. Kimoto, and K. Miyake. *Nat. Immunol.* 3:667-672. 2002.

我々は MD-2 という分子をクローニングし、MD-2 という分子は TLR4 に会合し、TLR4 による LPS 応答性を制御する分子であるということを示してきた。今回、MD-2KO マウスを作成し、MD-2 がいないと LPS 応答性がまったく欠損していることを示した。LPS を投与してもサイトカイン産生が認められず、グラム陰性菌感染に高い感受性を示した。この結果から、MD-2 が LPS 応答に必須であることを個体レベルで証明した。

2) Lipopolysaccharide Interaction with Cell Surface Toll-like Receptor 4-MD-2: Higher Affinity than that with MD-2 or CD14. S Akashi, S Saitoh, Y Wakabayashi, T Kikuchi, N Takamura, Y Nagai, Y Kusumoto, K Fukase, S Kusumoto, Y Adachi, A Kosugi, K Miyake. *J. Exp. Med.* 2003, 198: 1035-1042.

あらたに作製した TLR4/MD-2 に対するモノクローナル抗体を用いて LPS と TLR4/MD-2 との細胞レベルでの直接結合を証明することに成功し、この解析系を用いて LPS 拮抗剤も LPS と同様に TLR4/MD-2 に結合することを明らかにした。

3) Lipid A antagonist, lipid IVa, is distinct from lipid A in interaction with Toll-like receptor 4 (TLR4)-MD-2 and ligand-induced TLR4 oligomerization. Saitoh S, Akashi S, Yamada T, Tanimura N, Kobayashi M, Konno K, Matsumoto F, Fukase K, Kusumoto S, Nagai Y, Kusumoto Y, Kosugi A, Miyake K. *Int Immunol.* 16:961-969. 2004

TLR4 は LPS を認識してから TLR4 同士の多量体を形成することをはじめて生化学的に明らかにした。この TLR4 の多量体の形成がシグナル伝達を開始する上で重要な役割を果たしており、そのアンタゴニストは TLR4 に結合するものの多量体を形成させないことで作用していることを明らかにした。

**研究課題名: M細胞の免疫生物学的解明とそれを標的とした粘膜ワクチンの開発****研究代表者: 清野 宏**

1) Intestinal villous M cells: An antigen entry site in the mucosal epithelium. Jang, M-H., Kweon, M-N., Iwatani, K., Yamamoto, M., Terahara, K., Sasakawa, G., Suzuki, T., Nochi, T., Yokota, Y., Hiroi, T., Tamagawa, H., Iijima, H., Kunisawa, J., Yuki, Y., and Kiyono, H. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101: 6110-6115 (2004)

パイエル板の特殊上皮層に存在する M 細胞は、腸管管腔から抗原を取り込む重要な細胞である。これまで、粘膜免疫機構の門戸はパイエル板 M 細胞のみと考えられてきたが、本研究成果は小腸絨毛において新規 M 細胞を発見し、「絨毛 M 細胞」と命名した。この絨毛 M 細胞は、LT $\alpha$  欠損、TNF/LT $\alpha$  欠損、Id2 欠損等のパイエル板欠損マウスにも存在し、腸内細菌や GFP 発現サルモネラ菌などを取り込み、抗原特異的免疫反応を誘導した。このように、絨毛 M 細胞はパイエル板によらずに抗原特異的免疫反応を誘導する引き金となる新たな粘膜免疫担当細胞である。

2) NALT- versus Peyer's-patch-mediated mucosal immunity. Kiyono H and Fukuyama S. *Nat Rev Immunol.* 4: 699-710 (2004)

鼻腔や腸管といった粘膜面からの抗原感作は粘膜系と全身系に免疫を誘導し、侵入抗原に対し二段構えの防御機構を構築する。鼻咽頭関連リンパ組織 (NALT) やパイエル板 (PP) は抗原取り込み

活性を持つM細胞をはじめ、粘膜免疫誘導組織として働く免疫担当細胞集団を保持している。しかしながらその組織形成は、発生誘導時期や機能分子において NALT と PP とは異なっており、特に NALT の場合未解明の部分が多く今後、粘膜免疫誘導の循環帰巣経路 (CMIS) の概念を利用した粘膜ワクチンの開発・応用を考えた場合、両者の組織形成メカニズム相違の解明は、経鼻・経口ワクチンをはじめとするM細胞を標的としたワクチンの開発において重要である。

3) Prenatal blockage of lymphotoxin  $\beta$  receptor and TNF receptor p55 signaling cascade resulted in the acceleration of tissue genesis for isolated lymphoid follicles in the large intestine. Kweon MN, Yamamoto M, Rennert PD, Park EJ, Lee AY, Chang SY, Hiroi T, Nanno M, and Kiyono H. *J Immunol.* 174: 4365-4372 (2005)

M細胞が存在する粘膜関連二次リンパ組織形成においてリンフォトキシン (LT) や TNF は必須の分子である。本研究ではマウス胎生期に二次リンパ組織形成の阻害分子である LT  $\alpha$  R-Ig または TNFR55-Ig を投与することで、大腸におけるM細胞を有する孤立リンパ小節 (ILF) の数が増加していることを明らかにした。これら二種の抗体を同時に投与した場合には大腸特異的に ILF の分化形成を促進しており、さらにこの大腸 ILF の形成は腸内細菌の影響を受けなかった。また ILF 数が増加した大腸粘膜固有層中において、IgA 産生細胞数とその抗体産生が上昇した。これらの結果は大腸での ILF 形成における LT  $\alpha$  R および TNFR55 関与のユニーク性を示すとともに、同組織を介した大腸における免疫誘導機構の存在を示唆した。

## 研究課題名: 病原微生物の宿主免疫系との共生戦略の解明による治療・制御法の開発

研究代表者: 小安重夫

1) Suzue, K., Asai, T., Takeuchi, T. and Koyasu, S. (2003) *In vivo* role of IFN- $\gamma$  produced by antigen presenting cells in early host defense against intracellular pathogens. *Eur. J. Immunol.* 33:2666-2675.

研究代表者らは樹状細胞が自らが生産するインターロイキン12 (IL-12) に反応してオートクリン機構で  $\gamma$  型インターフェロン (IFN- $\gamma$ ) を生産することを示してきた。本研究では樹状細胞由来の IFN- $\gamma$  が *in vivo* の個体レベルでも機能するかを検討した。IFN- $\gamma$  の生産が著しく傷害されているマウスに樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞を移植することでリステリア感染初期の IFN- $\gamma$  発現が回復し、感染抵抗性を獲得することを示し、確かに樹状細胞由来のが感染防御に機能することを示した。

2) Suzuki, H., Matsuda, S., Terauchi, Y., Fujiwara, M., Ohteki, T., Asano, T., Behrens, T. W., Kouro, T., Takatsu, K., Kadowaki, T. and Koyasu, S. (2003) PI3K and Btk differentially regulate B cell antigen receptor mediated signal transduction. *Nat. Immunol.* 4:280-286.

研究代表者らはクラス IA-PI3K が B 細胞の分化やシグナル伝達に重要な機能を持つことを示してきたが、本研究では B 細胞抗原受容体下流において PI3K と Tec ファミリーチロシンキナーゼ Btk が独立に NF- $\kappa$ B 経路の活性化に必須の役割を果たすことを明らかにした。この研究から、「B 細胞抗原受容体下流のシグナル伝達系において PI3K が Btk の上流で機能する」というこれまでの定説の再検討が迫られている。

3) Imai, J., Hasegawa, H., Maruya, M., Koyasu, S., and Yahara, I. (2005) Exogenous antigens are processed through the endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) in cross-presentation by dendritic cells. *Int. Immunol.* 17:45-53.

樹状細胞は細胞外から取り込んだ抗原を MHC クラス I 経路に提示するクロスプレゼンテーションという機能を持つ。クロスプレゼンテーションにおいては取り込まれた膜胞内の抗原がいかんして細胞質へ移行するかが最大の関心事であった。本研究ではこの分子機構を明らかにすることを旨とし、取り込まれた抗原が小胞体へ移行すること、小胞体からは Sec61/VCP 複合体を介して抗原が細胞質へ移行す

る事を示し、クロスプレゼンテーションに小胞体品質管理機構(ERAD)が重要な役割を果たすことを明らかにした。

### 研究課題名:獲得免疫における高親和性抗体の産生機構と感染症防御への応用

研究代表者:阪口 薫雄

1) Germinal center-associated nuclear protein contributes to affinity maturation of B cell antigen receptor in T cell-dependent responses. Kuwahara K, Fujimura S, Takahashi Y, Nakagata N, Takemori T, Aizawa S, Sakaguchi N. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 27;101:1010-1015, 2004.

GANP が胚中心 B 細胞で高親和性抗体産生に必要であるということを初めて実証した。*Ganp* 遺伝子を B 細胞で破壊した変異マウスを作製し、T 細胞依存性抗原で刺激した際に高親和性抗体が産生され無いことが明らかになった。骨髄における B 細胞の分化、B 細胞の数、抗体産生機能においては異常が見られない。また末梢のリンパ組織における胚中心の形成やクラススイッチにおいては明らかな異常が認められないことから、抗体産生の高次機能に関与することが判明した。顕著な結果として抗原特異的な刺激による V 領域の突然変異が著しく減少した。

2) Generation of high-affinity antibody against T cell-dependent antigen in the *Ganp* gene-transgenic mouse. Sakaguchi N, Kimura T, Matsushita S, Fujimura S, Shibata J, Araki M, Sakamoto T, Minoda C, Kuwahara K. J. Immunol. 174:4485-94, 2005.

GANP 分子の高親和性抗体産生誘導における機能を確実にするために、遺伝子過剰発現による実験で証明した。*Ganp* 遺伝子を B 細胞で過剰に発現したマウスを作製し、T 細胞依存性抗原に対する高親和性抗体産生における機能亢進が認められるかどうかを検証した。個々の抗体産生細胞の親和性を細胞融合による単クローン性抗体産生細胞を樹立して調べた。その結果、通常に比べて100倍以上( $K_D$  値)の高親和性の抗体が得られた。また、その技術を用いてエイズウイルスに対する高親和性単クローン抗体を作製した。

3) Protein phosphatase subunit G5PR is needed for inhibition of B cell receptor-induced apoptosis. Xing Y, Igarashi H, Wang X, Sakaguchi N. J. Exp. Med. 202:707-719, 2005.

胚中心における高親和性の抗体を選別する根拠として BCR 信号伝達に関わる機能分子 G5PR を同定し、命名した。G5PR は GANP と結合し蛋白質脱リン酸化制御する。G5PR は胚中心 B 細胞で BCR 刺激によって6時間後から発現する、そして BCR 信号の細胞死シグナルを回避する機能を有している。このことが遺伝子破壊マウスによって明らかになった。G5PR の発現は BTK 信号によって制御され、G5PR の機能は JNK 経路、Bim 活性化経路に及ぶことを示し、末梢リンパ組織に高親和性 B 細胞、自己反応性 B 細胞の選別の場が存在することが示唆された。この結果から G5PR の機能の破綻が自己免疫疾患を発症の原因解明に重要であることが考えられた。

### 研究課題名:マラリア感染成立の分子基盤の解明と新たな感染阻止法の創出

研究代表者:鎮西康雄

1) Cell-passage activity is required for the malarial parasite to cross the liver sinusoidal cell layer. Ishino T, Yano K, Chinzei Y, Yuda M. *PLoS Biol.* 2, E4 2004

マラリア原虫スポロゾイトはホストの細胞に侵入する際に「通過」とよばれる「細胞を通り抜ける」侵入様式を示す。われわれは SPECT(Sporozoite Microneme Protein Essential for Cell Traversal) と名付けた遺伝子が、スポロゾイトの「細胞通過」に必須であることを見出した。SPECT ノックアウト原虫を用いた解

析の結果、スポロゾイトの細胞通過能は類洞壁を越えてスポロゾイトが肝臓内部に侵入するために必要であることが明らかになった。この事実は「通過」に関わる原虫蛋白がマラリア原虫のヒトへの感染に必須であり、マラリア感染防御のための有望な標的であることを意味している。

2) Essential role of membrane-attack protein in malarial transmission to mosquito host. Kadota K, Ishino T, Matsuyama T, Chinzei Y, Yuda M. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101, 16310-16315. 2004

マラリア原虫は宿主の組織に侵入するさいその細胞を通過する。マラリア原虫のライフサイクルの中で「細胞通過能」をもったステージは、蚊の中腸上皮細胞に侵入するオオキネート及びヒトの肝臓に感染するスポロゾイトの2つのステージである。われわれはこの2つのステージに共通してパーフォリン様分子が発現していることを見いだした。このうちオオキネートに発現しているパーフォリン様分子(MAOP と命名)が蚊への感染に必須であることを報告したのがこの論文である。この発見はパーフォリン様分子がマラリア感染防御法の有力なターゲットであることを示唆している。

3) Two proteins with 6-cys motifs are required for malarial parasites to commit to infection of the hepatocyte. Ishino T, Orito Y, Chinzei Y, Yuda M. *Mol. Microbiol.* 58, 1264-1275. 2005

蚊の吸血によって放出されたスポロゾイトは、血流により運ばれて肝類洞に達し、類洞壁を「通過」して肝実質に侵入する。ここで肝実質細胞に出会うと細胞侵入様式を「寄生」へと切り替え、肝実質細胞に感染する。この論文は P36 および P36p という2つの分子が、スポロゾイトが肝実質細胞を認識し「寄生」へとコミットするために必要であることを明らかにしたものである。この二つの分子は肝実質細胞を認識するのに必要であることが証明された初めての分子であり、マラリア原虫スポロゾイトの肝細胞への感染を阻止するための有望な標的である。

## 研究課題名: 肝臓における造血・免疫機構の解明と肝疾患治療への応用 研究代表者: 宮島篤

1) Tanimizu N, M. Nishikawa, H. Saito, T. Tsujimura, and A. Miyajima. Isolation of hepatoblasts based on the expression of Dlk/Pref-1. *J. Cell Sci.* 116: 1775-1786, 2003.

肝芽細胞は肝細胞と胆管上皮細胞への分化能を持つ細胞であるが、その実態は不明であった。本研究では、胎児肝臓に発現する膜抗原の検索からDlk/Pref1が未分化肝細胞に発現し、Dlk抗体により分離した細胞がin vitroで増殖し肝細胞と胆管上皮に分化することを示した。さらに、Dlk陽性細胞を移植すると肝臓に正着し肝細胞となった。したがって、胎生肝臓中のDlk陽性細胞が肝芽細胞であることが示された。

2) Tanimizu N. and Miyajima A. Notch signaling controls hepatoblast differentiation by altering the expression of liver-enriched transcription factors. *J. Cell Sci.* 117, 3165-3173, 2004.

肝内胆管の形成不全を伴う遺伝性Alagille症候群の原因遺伝子としてJagged-1が同定されている。マウス胎児肝臓におけるNotchとそのリガンドの発現をしらべたところ、Notch2が未分化肝細胞に発現し、Jagged-1が門脈周辺にのみ発現していた。肝細胞と胆管上皮細胞への分化能をもつ肝芽細胞に発現するDlkという膜タンパク質に対する抗体を使って肝芽細胞を分離し、Notchを活性化すると肝細胞への分化が抑制され、逆に胆管上皮細胞への分化が促進されることを示し、Alagille症候群の胆管形成不全が肝芽細胞から胆管上皮への分化段階であることを強く示唆した。

3) Nakamura K., H. Nonaka, H. Saito, M. Tanaka, and A. Miyajima. Hepatocyte proliferation and tissue remodeling is impaired after liver injury in oncostatin M receptor knockout mice. *Hepatology* 39: 635-644, 2004.

オンコスタチンM(OSM)受容体欠損マウスの作製により、OSMR欠損マウスでは四塩化炭素による肝障害が増悪していることを見いだした。OSMは肝細胞に作用して細胞死を抑制し増殖を促進するのみならず、肝非実質細胞に作用してプロテアーゼの活性化を制御することで組織破壊を抑制していることを明にした。さらに、OSMを野生型マウスに投与することで肝障害が著しく緩和されたことから、OSMは肝炎治療薬となる可能性が示唆された。

## 研究課題名:セマフォリンによる免疫調節機構の解明と免疫制御への応用

研究代表者:菊谷 仁

1) Guidance of myocardial patterning in cardiac development by Sema6D reverse signaling.  
Toyofuku, T., H. Zhang, A. Kumanogoh, N. Takegaraha, M. Yabuki, K. Harada, M. Hori, and H. Kikutani.  
Nature Cell Biol., 6:1204-1211, 2004.

発生段階の心臓では心筋細胞の移動が成熟心臓の構築を決定する上で重要である。今回、我々は Sema6D と Plexin-A1 を介するシグナル伝達機構が心室に特徴的な2層構造の構築に重要であることを見いだした。Plexin-A1 が Sema6D に結合すると Sema6D の細胞質内の領域にチロシキナーゼである Abl kinase が結合し、もうひとつの結合蛋白質である Mena のリン酸化と離脱を起こす。この変化は心筋細胞の移動性を増加させる。この一連のシグナルにより心室の外周部に存在する心筋細胞が内腔へ移動し肉柱構造を形成し、心室の2層構造を構築する。

2) The FERM domain containing GEF protein FARP2 triggers signals for Sema3A-mediated axonal repulsion.  
Toyofuku, T., J. Yoshida, T. Sugimoto, H. Zhang, A. Kumanogoh, M. Hori, and H. Kikutani.  
Nature Neurosci.,8:1712-1719, 2005.

Sema3A 神経細胞の神経軸索の方向性を決定する。しかしその受容体である Plexin-A1 の細胞内シグナルは不明な点が多い。今回、我々は FARP2 が Plexin-A1 の細胞質内ドメインに結合することを見いだした。Sema3A 結合により FARP2 は Plexin-A1 より離脱し、2つのシグナル伝達機構を誘導する。ひとつは GEF 活性による Rac の増加とそれによる Plexin-A1 の R-Ras GAP 活性の誘導であり、もう一方は離脱した FARP2 が PIPKI  $\gamma$  661 と結合しそのキナーゼ活性の抑制とそれによるインテグリンの機能低下の誘導である。両シグナルは Sema3A に対する神経軸索の反発作用を相乗的に誘導する。

3) Non-redundant roles of Sema4A in the immune system: Defective T-cell priming and Th1/Th2 regulation in sema4A-deficient mice.  
Kumanogoh, A., T. Shikina, K. Suzuki, S. Uematsu, K. Yukawa, S. Kashiwamura, H. Tsutsui, M. Yamamoto, H. Takamatsu, E.P. Ko-Mitamura, N. Takegahara, S. Marukawa, I. Ishida, H. Morishita, D.V.R. Prasad, M. Tamura, M. Mizui, T. Toyofuku, S. Akira, K. Takeda, M. Okabe, and H. Kikutani. Immunity, 22:305-316, 2005.

Sema4A は膜型のセマフォリン分子であり T 細胞に対しての副刺激分子としての作用がこれまで明らかにされている。今回我々は Sema4A の生体内での役割を明らかにする目的で Sema4A 欠損マウスを作成した。Sema4A は従来から知られている樹状細胞における発現に加え Th1 特異的に発現が誘導された。Sema4A 欠損下では Th1 反応が低下していた。その一方で Th2 反応は逆に亢進していた。更に抗原パルスした樹状細胞の交差移入実験により、樹状細胞由来の Sema4A が抗原特異的な T 細胞プライミングに関与すること、Th1 細胞由来の Sema4A が Th1 反応促進に寄与していることが明らかとなった。

**研究課題名:制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発****研究代表者:坂口志文**

1)Ko, K., Yamazaki, S., Nakamura, K., Nishioka, T., Hirota, K., Yamaguchi, T., Shimizu, J., Nomura, T., Chiba, T., and Sakaguchi, S. Treatment of advanced tumors with agonistic anti-GITR mAb and its effects on tumor-infiltrating Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 202: 885-891, 2005.

制御性 T 細胞に高発現する機能分子である GITR [glucocorticoid-induced TNF receptor family-related gene]について、この分子に対する単クローン抗体である DTA-1 を用い、この抗体の投与により有効な腫瘍免疫を惹起できることを示した。また、無処置の腫瘍では、転写因子 Foxp3 を発現する内在性制御性T細胞が選択的に浸潤し、有効な腫瘍免疫応答を抑制している可能性を示した。抗 GITR 抗体投与は、ヒト癌の免疫療法として有効であろう。

2)Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S.: Homeostatic maintenance of natural Foxp3<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization *J. Exp. Med.* 201:723-735, 2005.

内在性制御性T細胞は、CD25 (IL-2 受容体  $\alpha$  鎖)を構成的に発現する。本論文では、IL-2 が、内在性制御性T細胞の維持に不可欠なサイトカインであり、従って CD25 分子は、この細胞集団の単なるマーカーでなく、高親和性 IL-2 受容体の必須の構成分子として、制御性T細胞機能に不可欠の分子であることを示した。さらに、血中 IL-2 を一定期間中和すると、制御性T細胞が減少し、自己免疫病が発症することを示した。

3)Yagi, H., Nomura, T., Nakamura, K., Kitawaki, T., Hori, S., Maeda, M., Onodera, M., Uchiyama, T., Fujii, S., and Sakaguchi, S.: Crucial role of *FOXP3* in the development and function of human CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Int. Immunol.* 16: 1643-1656, 2004. (International Immunology Outstanding Merit Award 受賞論文)

ヒトの制御性T細胞における Foxp3 の発現を解析し、それが内在性制御性T細胞に特異的に発現していることを示した。また、レトロウイルスにより Foxp3 遺伝子を正常T細胞に導入し、これを機能的に制御性T細胞に転換できることを示した。この結果は、既に報告したマウスを用いた実験結果 (Hori, S., Nomura, T., and Sakaguchi, S.: Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 299: 1057-1061, 2003)と合わせて、Foxp3 が制御性T細胞のマスター制御遺伝子であることを示す。

**研究課題名:病原細菌の粘膜感染と宿主免疫反応抑制機構の解明による新治療・制御法の開発****研究代表者:笹川千尋**

1)Ogawa, M., Yoshimori, T., Suzuki, T., Sagara, H., Mizushima, N., and Sasakawa, C. (2005) Escape of intracellular *Shigella* from autophagy. *Science*, 307: 727-731.

細胞内へ侵入した病原細菌はオートファジー(自食作用)により認識され分解される。本論文では、腸粘膜上皮細胞へ侵入する赤痢菌が細胞内でオートファジーにより認識されるが、それを回避し生存するための高度に発達したシステムを有していることを初めて明らかにした。これによって、結核菌等の細胞内へ感染する他の病原細菌の感染に対しても、オートファジーが自然免疫の一つとして重要な役割を果たしていることが明確となった。

2)Ohya, K., Handa, Y., Ogawa, M., Suzuki, M., and Sasakawa, C. (2005) IpgB1 is a novel *Shigella*

effector protein involved in bacterial invasion of host cells: Its activity to promote membrane ruffling via Rac1 and Cdc42 activation. *J. Biol. Chem.* 280: 24022-24034.

多くの病原細菌が宿主細胞へ侵入・増殖し様々な疾患を引き起こす。細胞侵入の主要なメカニズムとして、赤痢菌やサルモネラの細胞侵入に代表されるラッフル型侵入がある。本研究により、赤痢菌の細胞侵入にともない誘導されるラッフル形成に中心的な役割を果たす菌のエフェクターとして IpgB1 を同定した。IpgB1は宿主細胞の Rac1・Cdc42を活性化してラッフル形成を促進し菌の細胞侵入に中心的な役割を果たしていることを示した。

3) Morita-Ishihara, T., Ogawa, M., Sagara, H., Yoshida, M., Katayama, E., and Sasakawa C. (2006) *Shigella* Spa33 is an essential C-ring component of type III secretion machinery. *J. Biol. Chem.* **281**: 597-607, 2006.

赤痢菌をはじめとするグラム陰性病原細菌の多くが病原因子(エフェクター)を分泌するための特殊な蛋白質分泌複合体(III型分泌装置)を備えている。III型分泌装置は、べん毛の分泌装置から進化・分化したもので、ニードルおよび基部から構成されている。本論文では、赤痢菌を材料として、III型分泌装置の基部の真下にさらにCリングとよばれる構造体があり、ニードル蛋白質およびエフェクターの分泌・輸送に必須であることを明らかにするとともに、Cリングの主要な構成成分として Spa33 を同定した。これにより、Spa33はグラム陰性菌の感染を阻止する薬剤の標的候補としても重要であることが示唆された。

## 研究課題名: 真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立

研究代表者: 山中 伸弥

1) Differential membrane localization of ERas and Rheb, Two Ras-related proteins involved in the PI3 kinase / mTOR pathway.

Takahashi K., Nakagawa M., Young S.G. and Yamanaka S. *J. Biol. Chem.*, **280**: 32768-74, 2005

私たちはES細胞において活性型癌遺伝子であるERasが特異的に発現していること、そしてERasはPI3キナーゼに結合し活性化することを報告したが、本論文においてはその細胞内局在を詳細に解析した。その結果、ERasはファルネシル化、メチル化、パルミトイル化という複数の脂質修飾により細胞膜に局在することがその機能に必須であることを明らかにした。一方、やはりRasファミリータンパク質であり、PI3キナーゼの下流で作用するRhebはファルネシル化とメチル化修飾は受けるがパルミトイル化修飾はされず、小胞体やゴルジ体といった細胞内膜に局在することを明らかにした。

2) Differential roles for SOX15 and SOX2 in transcriptional control in mouse embryonic stem cells. Maruyama M., Ichisaka T., Nakagawa M. and Yamanaka S. *J. Biol. Chem.* **280**: 24371 - 9, 2005

これまでES細胞においてはSox2が唯一のSox2ファミリータンパク質であると考えられていたが、本論文ではSox15もまたES細胞で高発現していることを見いだした。Sox2とSox15の初期発生やES細胞における役割を遺伝子ノックアウトにより解析した。Sox2は初期胚とES細胞における多能性細胞の維持に必須であることがわかった。一方、Sox15はSox2とは異なる標的遺伝子の調節を行うが、ノックアウトしても顕著な表現型は認められなかった。

3) mTOR is essential for Growth and Proliferation in Early Mouse Embryos and Embryonic Stem Cells. Murakami M., Ichisaka T., Maeda M., Oshiro N., Hara K., Edenhofer F., Kiyama H., Yonezawa K. & Yamanaka S. *Mol. Cell. Biol.* **24**: 6710-6718, 2004

ES細胞が高い増殖能を維持するためにはPI3キナーゼ経路が重要であるが、その下流因子はわかっていない。私たちはPI3キナーゼ経路により活性化されるセリンスレオニンキナーゼmTORの機能を

遺伝子ノックアウトにより解析した。その結果、mTOR は初期胚における細胞増殖必須であり、ノックアウトマウスは胎生早期に致死となることがわかった。また ES 細胞において mTOR を欠損させると、細胞増殖が低下することも明らかにした。

### 3. 受賞等

受賞者名	賞の名称	授与者名	受賞日(時期)
河岡義裕	野口英世記念医学賞	野口英世記念財団	2002年11月
高井俊行	第7回日本免疫学会賞	日本免疫学会	2004年12月
中西憲司	兵庫県科学賞	兵庫県	2005年11月
阪口薫雄	医学研究奨励賞	三井生命厚生事業団	2004年
桑原一彦:阪口	研究奨励賞	東京生化学研究会	2005年2月
菊谷 仁	第21回持田記念学術賞	持田記念医学薬学振興財団	2004年10月
熊ノ郷淳	第1回日本学術振興会賞	日本学術振興会	2005年3月
坂口志文	持田記念学術賞	持田記念医学薬学振興財団	2003年11月
坂口志文	William B. Coley Award	Cancer Research Institute	2004年
坂口志文	武田医学賞	武田科学振興財団	2005年11月
坂口志文	高峰記念三共賞	三共生命科学研究振興財団	2005年12月
山中伸弥	ゴールド・メダル賞	東京テクノ・フォーラム 21	2005年4月

### 4. シンポジウム等

シンポジウム名	日時	場所	入場者数	特記事項
第1回研究成果報告会	H14.12.17	千里ライフサイエンスセンター	非公開(総括、AD、研究代表者、JST 関係者)	発表:H13 採択研究代表者
第2回研究成果報告会	H15.12.17-18	千里ライフサイエンスセンター	非公開(総括、AD、研究代表者、研究者、JST 関係者)	発表:H13,14,15 採択研究代表者
第3回研究成果報告会	H16.17-18	東京コンファレンスセンター	公開・非公開(総括、AD、研究代表者、研究者、JST 関係者)	発表:H13,14,15 採択研究代表者
第4回研究成果報告会	H17.16-17	東京コンファレンスセンター	公開・非公開(総括、AD、研究代表者、研究者、JST 関係者)	発表:H13,14,15 採択研究代表者
第1回公開シンポジウム	H16.12.17	東京コンファレンスセンター	328名	発表:H13 採択研究代表者全員、及び H14,15 採択研究代表者の一部
第2回公開シンポジウム	H17.12.16	コクヨホール	323名	発表:H14 採択研究代表者全員、及び H13,15 採択研究代表者の一部

## 5. その他の重要事項(新聞・雑誌・テレビ等)

(新聞)

## \*河岡チームのCREST研究成果の紹介記事

インフルエンザに関する記事

- ①「スペイン風邪ウイルス再現」(2002年10月、読売)、②「インフルエンザ」(2002年11月、読売)、③「ウイルス合成 病原性を解明」(2002年11月、読売)、④「ウイルス増殖仕組み解明」(2003年1月、日経、読売、その他)、⑤「インフルエンザ猛威」,「鳥インフルエンザ」(2003年2月、読売)、⑥「抗ウイルス剤とワクチン」(2003年11月、毎日)、⑦「タミフル耐性ウイルス」(2004年4月、2005年2月、10月、日経、朝日、毎日)、⑧「ワクチン短期間作製手法」(2005年11月、日経)、⑧「ウイルス増殖の仕組みを解明」(2006年1月、日経、読売、他)

エボラウイルスに関する記事

- ①「エボラウイルス抗体利用して増殖」(2003年10月、読売)、②「エボラ類似ウイルス合成」(2003年12月、日経、他)、

インフルエンザに関するテレビ放映

- ① NHK「クローズアップ現代」(2004年2月、12月、2005年11月)、② NHK「サイエンスゼロ」(2005年1月)他。

## \*瀬谷チームのCREST研究成果の紹介記事

- ①「インターフェロンを活性化“伝令”たんぱく質発見」「免疫応答の関連たんぱく質発見」(2003年1月、産経、毎日、読売、日経、他に掲載)、②「インターフェロンを大量生成させるたんぱく質について」(2003年9月号、日経トレンディ)、③「がん免疫療法で新手法」(2004年9月、日経産業新聞)

## \*高井チームのCREST研究成果の紹介記事

- ①「骨髄移植:不適合反応を抑制する遺伝子発見」(2004年5月、NHKニュース、毎日、読売、河北新報、産経、共同通信など)

## \*中西チームの研究成果の紹介記事

- ①アトピー:原因物質がなくても発症する仕組み発見(2002年8月、毎日、中日)、②論文の引用数 日本勢、免疫・素材で健闘(中西)(2003年2月、日経)③日本のトップ研究者 論文引用調査から 免疫学「自然免疫」の構造を解明(中西憲司)(2003年2月、日経産業新聞)、③「世界が注目 日本の先端研究① 免疫 IL-18 で新領域開拓」(2003年3月、日経産業新聞)

## \*清野チームのCREST研究成果の紹介記事

- ①絨毛M細胞関連(2004年10月:朝日)、エイズ粘膜ワクチン関連(2005年7月:日経)、②花粉症緩和米ワクチン関連(2005年11月:朝日、読売)

## \*小安チームのCREST研究成果の紹介記事

- ①「抗体作る細胞 仕組みを解明」(2003年2月、日経)

## \*鎮西チームのCREST研究成果の紹介記事

- ①「マラリア発症予防に道」(2004年3月、朝日一面)、②「マラリア根絶に道」(2004年11月14日、朝日1面)、

## \*笹川チームのCREST研究成果の紹介記事

①「赤痢菌による新たな自然免疫回避機構を発見」(2004年11月、日経)

\* 山中チームのCREST研究成果の紹介記事

①X 染色体不活性化に関する研究で報道(2004年1月 読売他各紙)、②東京テクノロジーラム21 賞受賞を掲載(2005年4月、読売)

## 6. その他の添付資料

なし

## 7. 中間評価結果、事後評価結果

中間課題評価結果

平成13年度採択課題(平成16年中間課題評価実施)

[http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/eval/chukan/20050318/5\\_meneki/index.html](http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/eval/chukan/20050318/5_meneki/index.html)

平成14年度採択課題(平成17年中間課題評価実施)

[http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/eval/chukan/20060331/5\\_meneki/index.html](http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/eval/chukan/20060331/5_meneki/index.html)

以上