

戦略的創造研究推進事業
チーム型研究(CREST)
追跡評価用資料

研究領域
「免疫難病・感染症等の先進医療技術」

研究総括: 岸本 忠三

2014年5月

目次

要旨	1
第 1 章 追跡調査概要	2
1.1 研究領域概要	2
1.1.1 戦略目標	2
1.1.2 研究領域概要	2
1.1.3 研究総括	2
1.1.4 領域アドバイザー	2
1.1.5 研究課題および研究代表者	3
1.2 研究領域終了後の進展と波及効果	5
1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況	5
1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果	6
1.3 研究領域の展開状況（系譜図）	8
第 2 章 追跡調査	9
2.1 追跡調査について	9
2.1.1 調査の目的	9
2.1.2 調査の対象	9
2.1.3 調査の方法	9
2.2 研究成果概要	10
2.2.1 研究助成金から見た研究の発展状況	10
2.2.2 論文	14
2.2.3 特許	15
2.3 アウトカム	41
2.3.1 科学技術的アウトカム	41
2.3.2 社会・経済的アウトカム	46
第 3 章 各研究課題の主な研究成果および波及効果	48
3.1 2001 年度採択課題	48
3.1.1 インフルエンザウイルス感染過程の解明とその応用（河岡義裕）	48
3.1.2 自然免疫とヒト難治性免疫疾患（瀬谷司）	53
3.1.3 IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服（高井 俊行）	57
3.1.4 IL-18 を標的とした自然型アトピー症の治療戦略（中西憲司）	60
3.1.5 病原体糖脂質認識シグナル伝達機構の解明（三宅 健介）	64
3.2 2002 年度採択課題	67
3.2.1 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（清野宏）	67
3.2.2 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（小安重夫）	71
3.2.3 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（阪口薫雄）	

.....	75
3.2.4 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 (鎮西康雄)	79
3.2.5 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 (宮島篤)	82
3.3 2003 年度採択課題	86
3.3.1 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 (菊谷仁)	86
3.3.2 制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発 (坂口志文)	90
3.3.3 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 (笹川千尋)	94
3.3.4 真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立 (山中 伸弥)	98
第 4 章 科学技術イノベーションに資する研究成果の状況	102
4.1 インフルエンザ感染過程の解明とその応用 (河岡義裕)	102
4.1.1 研究の概要	102
4.1.2 研究成果の波及と展望	103
4.2 自然免疫とヒト難治性免疫疾患 (瀬谷司)	106
4.2.1 研究の概要	106
4.2.2 研究成果の波及と展望	107
4.3 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 (清野宏)	109
4.3.1 研究の概要	109
4.3.2 研究成果の波及と展望	109
4.4 「制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発」 (坂口志文)	112
4.4.1 研究の概要	112
4.4.2 研究成果の波及と展望	113
4.5 「真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立」 (山中伸弥)	115
4.5.1 研究の概要	115
4.5.2 研究成果の波及と展望	115

要旨

本資料は、戦略的創造研究推進事業のチーム型研究 CREST 研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」（2001～2008 年度）において、研究終了後一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況等を明らかにし、独立行政法人科学技術振興機構（JST）事業及び事業運営の改善等に資するために、追跡調査を実施した結果をまとめたものである。

第 1 章は、研究領域の戦略目標、領域概要、研究総括、領域アドバイザー、研究課題と研究代表者を記載し、研究領域終了後の進展と波及効果について概説した。

第 2 章は、追跡調査の目的、調査の対象、調査の方法（研究助成金、論文、特許）を記載し、各研究代表者の研究成果の概要と、受賞歴や報道等から見た科学技術および社会や経済に及ぼした影響の概要を記述した。

第 3 章は、研究領域終了後の各研究課題の研究の継続と発展状況について、科学技術の進歩への貢献および社会や経済に及ぼした影響への観点から詳述し、併せて研究成果に関連した主な成果論文を添付した。

本研究領域では、「免疫・アレルギー、感染症、癌に対する質の高い画期的な治療法や先進医療の実現」が戦略目標として設定され、免疫系の難病や腫瘍、アレルギー、感染症等に対する新しい治療法や発症予防法の開発、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課題の選定基準とした。基礎的ではあるが、生命科学の真髄をついた研究はその研究成果がおのずから病気の成り立ちやそれに基づいた治療法の開発に繋がると考え、創造に富んだ研究課題が選定された。追跡調査を行った結果、基礎研究から得られた知見をもとに病気の成り立ちや治療法・検査診断法に繋がる応用研究に発展している事例が数多く見られ、当初の戦略目標はおおむね達成された。本研究領域から引き続き基礎研究を行い、さらなる知見を得て、新規治療法などの医療技術に繋がる研究もあった。

基礎研究面での成果としては、マウスおよびヒト線維芽細胞からの多能性幹細胞の創出（山中伸弥）をはじめとして①インフルエンザウイルスのパッケージングメカニズムの解明、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ、スペイン風邪のウイルス病原性発現機構の解明（河岡義裕）、②PIR による新しい自己 MHC-I 認識機構の解明（高井俊行）③免疫セマフォリンを中心とした新しい免疫制御機構の提示（菊谷仁）④制御性 T 細胞の機能調節機構の解明（坂口志文）が、応用面では、①M 細胞を標的とした食べる粘膜ワクチンの開発（清野宏）、②高親和性モノクローナル抗体製造技術の実用化（阪口薫雄）が挙げられる。

特に注目すべき研究成果としては、マウス線維芽細胞からの多能性幹細胞の創出およびヒト線維芽細胞からの iPS 細胞の作製（山中）、インフルエンザ感染過程の解明とその応用（河岡）、制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発（坂口）、自然免疫とヒト難治性免疫疾患（瀬谷司）、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）が挙げられ、これらの研究者にはインタビュー（山中を除く）を実施し、概要を第 4 章にまとめた。

第 1 章 追跡調査概要

1.1 研究領域概要

1.1.1 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」

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、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・タンパク質工学技術、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・創出を進めた。

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・タンパク質・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た。

1.1.2 研究領域概要

本研究領域は、再生医療や抗体工学等を含む先進医療のうち、免疫に関わる各種疾患（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ある。

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対象とする。

1.1.3 研究総括

岸本 忠三（大阪大学大学院生命機能研究科 教授）

（前研究総括） 2004.12 ～ 2007.2

山西 弘一（独立行政法人医薬基盤研究所 理事長）

1.1.4 領域アドバイザー

領域アドバイザーとしては、本研究領域の発展のために、この分野の研究者を指導・育成する目的で、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方を選定した。

また、領域アドバイザーには、課題採択に当たっては「目利き」を発揮できること、採択後の運営に当たっては「正当な評価」を行えることが重要であると考え、評価者としての重要な役割を担うことができる方を選定した。

表 1-1 領域アドバイザー

領域アドバイザー	所属	役職	任期
審良 静男	大阪大学	拠点長	2001年4月～2009年3月
内山 卓	京都大学	教授	2001年4月～2009年3月
笹月 健彦	国立国際医療センター	名誉教授	2001年4月～2009年3月
高津 聖志	富山県薬事研究所	所長	2001年4月～2009年3月
野本 明男	東京大学	教授	2001年4月～2009年3月

(注) 所属と役職は研究領域終了時点

1.1.5 研究課題および研究代表者

研究課題（研究者）の公募は2001年度から3年間、3期にわたり、総計14件の研究課題を採択した。

表 1-2 に各期の研究課題、研究代表者、採択当時の所属機関と役職、終了時の所属と役職並びに現在の所属と役職を示した。

表 1-2 研究課題と研究代表者

採択年度	研究課題	研究代表者	採択時の所属・役職	終了時の所属・役職	追跡調査時の所属・役職
2001年度	インフルエンザウイルス感染過程の解明とその応用	河岡 義裕	東京大学医科学研究所感染・免疫部門教授	東京大学医科学研究所教授	東京大学医科学研究所ウイルス感染分野教授
2001年度	自然免疫とヒト難治性免疫疾患	瀬谷 司	大阪府立成人病センター研究所研究所長	北海道大学大学院先端生命科学研究所教授	北海道大学大学院医学研究科免疫学分野教授
2001年度	IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服	高井 俊行	東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野教授	東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野教授	東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野教授
2001年度	IL-18 を標的とした自然型アトピー症の治療戦略	中西 憲司	兵庫医科大学免疫学・医動物学教室教授	兵庫医科大学免疫学・医動物学教室教授	兵庫医科大学 学長 兵庫医科大学免疫学・医動物学 教授
2001年度	病原体糖脂質認識シグナル伝達機構の解明	三宅 健介	東京大学医科学研究所感染遺伝学分野教授	東京大学医科学研究所感染遺伝学分野教授	東京大学医科学研究所感染遺伝学分野教授

2002年度	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 宏	東京大学医科学研究所 教授	東京大学医科学研究所 教授	東京大学医科学研究所 炎症免疫学分野 分野長・教授
2002年度	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 重夫	慶應義塾大学医学部 教授	慶應義塾大学医学部 教授	慶應義塾大 微生物学・免疫学教室 教授
2002年度	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 薫雄	熊本大学大学院医学薬学研究部 教授	熊本大学大学院医学薬学研究部 教授	熊本大学大学院先端生命医療科学部門 教授
2002年度	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 康雄	三重大学大学院医学系研究科 客員教授	三重大学大学院医学系研究科 客員教授	鈴鹿医療科学大学 大学院長
2002年度	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 篤	東京大学分子細胞生物学研究所 教授	東京大学分子細胞生物学研究所 教授	東京大学分子細胞生物学研究所 所長
2003年度	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 仁	大阪大学微生物病研究所 教授	大阪大学微生物病研究所 教授	大阪大学微生物病研究所分子免疫制御分野 教授
2003年度	制御性T細胞による新しい免疫制御法の開発	坂口 志文	京都大学再生医科学研究研究所 教授	京都大学再生医科学研究研究所 教授	大阪大学 実験免疫学 主任研究者
2003年度	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 千尋	東京大学医科学研究所 教授	東京大学医科学研究所 教授	東京大学 医科学研究所 名誉教授
2003年度	真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立	山中 伸弥	奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター 助教授	京都大学物質-細胞統合システム拠点 教授 京都大学再生医科学研究研究所 教授	京都大学 iPS細胞研究所 所長・教授

1.2 研究領域終了後の進展と波及効果

1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況

本研究領域は、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資するような研究を対象とするものであった。

具体的には免疫難病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研究が行われ、多くの知見が新たに得られた。

- ・河岡は、ウイルスと宿主との相互作用を分子レベルで解明し、ウイルスの感染過程を細胞レベルで明らかにした、そしてこれらの知見に基づき新規ワクチンの開発を展開した。
- ・瀬谷は、自然免疫の分子機構の解明、自然免疫を獲得免疫と共に生体防御機構の中で位置づけ主として樹状細胞の免疫応答システムについて検討を行った。これらの知見を元に、抗がんペプチドワクチン療法において抗がん活性を高める作用を持つとされる、アジュバントの作用機序を解明し、臨床応用を進めている。
- ・高井は、「PIR-B を中心とした IgLR 群の基礎研究」を進め、細胞移入療法の *in vivo* 評価系、*in vitro* 評価系の開発を通じて「免疫難病を克服するための新規治療法の開発」を行った。
- ・中西は、気管支喘息とアトピー性皮膚炎発症時における、IL-18 の産生、IL-18 の役割、疾病の誘導機序の解析、IL-18 を標的としたアレルギー性炎症の制御メカニズムの解明に取り組んだ。
- ・三宅は、グラム陰性菌の膜成分である LPS (lipopolysaccharide) を認識する TLR4/MD-2 について、LPS 認識機構、LPS 応答の基礎的メカニズムについて検討を行い、TLR4/MD-2 に対する抗体を用いた制御法の確立に取り組んだ。
- ・清野は、基礎的情報がほとんどなかった、病原菌の取り込み細胞である M 細胞について基礎的研究を行った。未知の M 細胞特異的抗原分子とその関連遺伝子を探索・同定し、M 細胞の免疫生物学的全容を明らかにし、それを標的とした「M 細胞 標的粘膜ワクチン」の開発に取り組んだ。
- ・小安は、病原微生物の共生戦略と宿主の感染防御戦略の分子基盤の解明を目指した。重点的に取り組んできた PI3K 経路に干渉する病原微生物（ヘリコバクターピロリ、病原性大腸菌）に焦点を当てて研究を行った。
- ・阪口は、「抗原に特異的な抗体の親和性の亢進による免疫効果の向上」に焦点を当て、末梢のリンパ組織において発現する GANP 分子が高親和性抗体産生に及ぼす分子機構を明らかにする研究を遂行した。
- ・鎮西は、マラリア原虫の肝臓感染の分子基盤を解明し、感染に関与する原虫分子を明らかにすると共に、放出されたスポロゾイドを標的とする新たなマラリア感染阻止法を確立するための研究を推進した。
- ・宮島は、肝臓の構成細胞の厳密な同定・分離法を確立することにより、肝臓細胞の分子レベルでの解析を目指し、肝機能の形成、維持および恒常性破綻の分子的基盤を明らかにするべく研究を進めた。

- ・ 菊谷は、従来神経回路軸索ガイダンス因子として知られてきたセマフォリンが、「免疫セマフォリン」という新たな免疫制御分子ファミリーを形成していることを世界で初めて提唱し「セマフォリンによる免疫調節機構」という免疫学分野に新たな領域を確立することを目指した研究を行った。
- ・ 坂口は、CD25+CD4+制御性 T 細胞の産生機構、抑制機能を分子レベル、細胞レベル、個体レベルで解明し、制御性 T 細胞による自己免疫病治療法の開発、制御性 T 細胞の強化による臓器移植時の免疫寛容導入法などの新規治療法の確立することを目標に研究に取り組んだ。
- ・ 笹川は、赤痢菌のⅢ型分泌装置を通じて宿主細胞へ分泌するエフェクターと宿主側標的因子の相互作用の解析を行い、赤痢菌の感染と自然免疫抑制・回避メカニズムについて検討し、弱毒化赤痢ワクチンおよび感染モデル動物の開発を行った。
- ・ 山中は、ES 細胞の多能性維持機構を解明し、体細胞から分化多能性を有しかつ腫瘍形成能の無い、理想的な幹細胞を作り出すこととし、実際に iPS 細胞の樹立に成功した。

一方、本研究領域における研究成果に期待された、先進医療の創出に繋がる研究を行うことに対しては、取得された特許や報道内容から①河岡らの新規インフルエンザワクチンの開発、②瀬谷らの新規抗がんアジュバントや樹状細胞を作用する dsRNAX, ③清野らの食べるワクチン、④坂口らの高親和性抗体産生技術など社会に貢献することが期待される基盤技術が育ちつつあることが明らかになった。研究代表の中には製薬企業と組んでワクチン開発や臨床研究に取り組む準備が着々と進みつつあるものもいる。

1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果

(1) 科学技術の進歩への貢献

河岡は 2006 年に、結核菌を発見したコッホが設立したロベルト・コッホ財団から、医学研究で新しい発見をした者に対して与えられる Robert Koch 賞を受賞した。

高井は、2012 年に「免疫制御 Fc 受容体の研究」の業績が評価され、文部科学大臣表彰科学技術賞を受賞した。

中西は 2012 年に「インターロイキン - 18 (IL-18) の発見とその生体防御における役割」を理由に第 55 回 野口英世記念医学賞を受賞した。

清野は、2007 年ベルツ賞 1 等賞、2007 年「粘膜免疫の基礎的解明と学問的体系確立」を理由に第 51 回（平成 19 年度）野口英世記念医学賞を受賞。2007 年に日本ワクチン学会高橋賞を受賞した。

鎮西は、2007 年「マラリア感染の分子機構」に対して読売東海医学賞を受賞した。

菊谷は、2009 年「セマフォリン分子群による免疫制御機構の研究」を理由に文部科学大臣表彰・科学技術賞を受賞した。

坂口は、2011 年「制御性 T 細胞の発見を通じた免疫寛容の解明」を理由に朝日賞を受賞、2012 年制御性 T 細胞による免疫応答制御を理由に日本学士院賞を受賞した。

山中は、2009 年にガードナー国際賞とアルバート・ラスカー基礎医学研究賞を 2011 年にバルザン賞、ウルフ賞医学部門を、そして 2012 年に「人工多能性幹細胞 (iPS 細胞)」というほぼ無限に増殖する能力とあらゆる組織や臓器の細胞になりうる多能性を持った幹細胞の樹立」でノーベル生理学・医学賞を受賞した。

本研究領域終了後も研究活動が活発であったことは、研究代表者の受賞歴の多さからもうかがえる。

(2) 社会・経済的波及効果

本研究領域においては、開発された医療技術が実用化される段階には入っていないものが多いため、臨床応用に関する報道が少ない。以下に特に報道が多かったものとトピックについてまとめた。

河岡の 2009 年に起きた H1N1 型インフルエンザの世界的流行や 2013 年の中国における H7N9 型鳥インフルエンザのヒトへの感染事例におけるウイルス性状解析の国際的共同研究の成果は頻りに新聞報道されてた。とくに 2013 年の鳥インフルエンザのヒトへの感染時の報道集が急伸しており、社会的影響力の高い研究活動を展開していると言える。

また宮島の iPS 細胞からの膵臓の作製も非常に多く新聞報道された。山中の iPS 細胞樹立によるノーベル賞受賞後の研究成果であるため関心が集まったと考えられるが、iPS 細胞を用いた再生医療に対する期待の表れであると言える。

瀬谷の C 型肝炎ウイルスの肝細胞内における生存戦略のスイッチについての報道では肝癌の約 70%が C 型肝炎ウイルスによるものであるとされており、新たな C 型肝炎治療薬の開発に繋がるものと期待された。

坂口らが京都大学の木村教授、東レと共同で作製した制御性 T 細胞に特異的に結合する抗体を表面に固相化した新規素材に関しては製品化が考えられており、日経新聞に取り上げられた。

山中の新聞報道件数は iPS 細胞樹立後、劇的に増加しており、ノーベル賞受賞前後でさらに報道数が増加した。

1.3 研究領域の展開状況（系譜図）

1995年度より始動した戦略的創造研究推進事業CRESTにおいて「生体防御のメカニズム」がスタートした。これは免疫学分野において、分子生物学的手法を駆使した分子的基盤を確立した時期にあたる。この研究成果を受けて本研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」がスタートした。ここで得られた基礎研究成果、先進医療技術はその後のCREST「アレルギー疾患・自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」、「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」に引き継がれ研究されている。また、本研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」において山中が開発に成功したiPS細胞に関するプロジェクトが派生してきた。

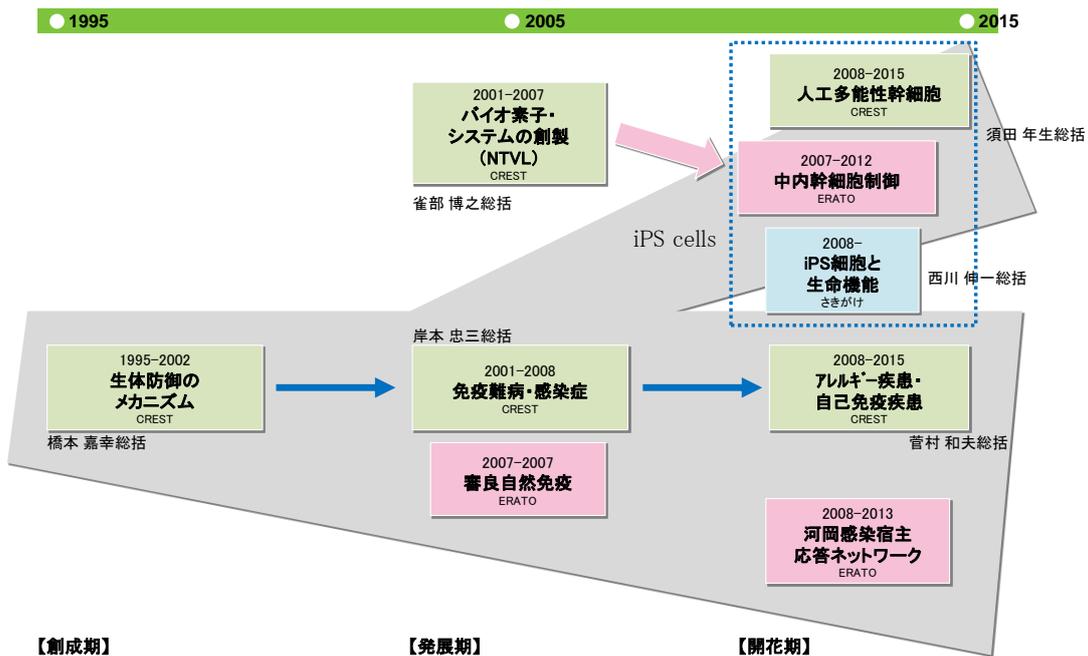


図 1-1 研究領域の展開状況

第 2 章 追跡調査

2.1 追跡調査について

2.1.1 調査の目的

追跡調査は、研究終了から一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況を明らかにし、JST の事業及び事業運営の改善に資することを目的とした追跡評価を実施する際の資料とするために行うもので、研究領域終了後の研究代表者の研究課題の発展状況等を調査した。

2.1.2 調査の対象

本追跡調査は、CREST 研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術（2001 年～2008 年度）」の研究代表者全員を対象とした。採択研究者は、2001 年度採択 5 名、2002 年度採択 5 名、2003 年度採択 4 名であり、いずれも研究期間は 5 年間であった。

表 2-1 調査対象と調査対象期間

	CREST 期間	CREST 終了後調査対象期間	研究課題数
第 1 期	2001 年 12 月～2007 年 3 月	2007 年 4 月～2013 年 9 月	5
第 2 期	2002 年 12 月～2008 年 3 月	2008 年 4 月～2013 年 9 月	5
第 3 期	2003 年 12 月～2009 年 3 月	2009 年 4 月～2013 年 9 月	4

2.1.3 調査の方法

(1) 研究助成金

本研究領域終了以降に、研究代表者が代表で獲得した外部研究資金を調査した。対象とした外部研究資金と調査方法は以下の通りである。

① 科研費

KAKEN 科学研究費助成事業データベース¹から、研究代表者が代表となっている研究課題を検索した。さらに、CREST 研究の規模から継続・発展が図られているという観点から大型（1 千万円／件 以上）のものを抽出した。

② JST 事業

JST ホームページ²のサイト内検索で研究代表者の情報を検索し、本研究領域終了後に研究代表者が代表となって採択された事業もしくはプロジェクトを抽出した。

③ NEDO プロジェクト

NEDO ホームページ³のサイト内検索、および成果報告書データベース⁴から、研究代表者の情報を検索し、本研究領域終了以降に代表者（プロジェクトリーダー）を務めているプロジェクトを抽出した。

¹ <http://kaken.nii.ac.jp/>

² <http://www.jst.go.jp/>

³ <http://www.nedo.go.jp>

⁴ http://www.nedo.go.jp/library/database_index.html

④ 最先端・次世代研究開発支援プログラム

最先端研究開発支援プログラムホームページ⁵および、最先端・次世代研究開発支援プログラムホームページ⁶から、研究代表者の採択実績を確認した。

⑤ 厚生労働科学研究費補助金

厚生労働科学研究費補助金のデータベース⁷から、研究代表者が代表となっている研究課題を検索した。さらに、CREST 研究の規模から継続・発展が図られているという観点から大型（1千万円/件 以上）のものを抽出した。

⑥ その他

公益財団法人助成財団センター採択課題データベース⁸から、研究代表者が代表となっている研究課題を検索した。

また、JST の研究者データベース「Read&Researchmap⁹」を活用して、研究者代表者の情報を検索し、上記①～⑤の調査で抜け漏れがあった場合、情報の追加を行った。

(2) 論文

本研究領域期間中および終了後の研究代表者の発表論文について Web of Science で検索を行った。論文抽出は、は著者名＋所属機関（採択時点/本研究終了時点/現時点）で検索を行った後、研究代表者の論文かどうか、論文題名を確認することにより、絞り込みを行った。また、研究終了報告書に記載のある論文で、上記の検索方法で抽出されなかった論文については、リストに加えた。

次に、本研究領域期間中および本研究領域終了以降の論文数を求めた。対象は Article と Review に絞り込み、さらに本研究領域終了以降の論文については、研究代表者が筆頭著者（First Author）もしくは責任著者（Last Author）となっている論文の数を求めた。各論文については、被引用数の調査も行った。

(3) 特許

本研究領域期間中出願特許の成立および海外出願の状況と、本研究領域終了以降の国内・海外出願特許について調査した。検索は特許データベース FOCUST（Wisdomain 社）¹⁰を用いて行った。当該データベースでは、研究者名で検索することにより、上記の必要な情報を一覧として得ることができる。

2.2 研究成果概要

2.2.1 研究助成金から見た研究の発展状況

研究発展状況を把握するために、研究領域終了後にどれだけ外部資金を獲得しているかを把握することは非常に重要である。本研究領域の研究代表者の外部資金獲得状況を表 2-2

⁵ <http://first-pg.jp/about-us/about-30.html>

⁶ <http://www8.cao.go.jp/cstp/sentan/jisedai/saitakuichiran.pdf>

⁷ <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIST00.do>

⁸ http://www.jfc.or.jp/search/ap_search.php

⁹ <http://researchmap.jp/search/>

¹⁰ <http://focustj.wisdomain.biz/Mitsubishi-Antlia/>

に示す。

概ねどの研究者も本研究領域終了後に外部資金を円滑に獲得している模様である。研究を
発展させるための経済的基盤の獲得には成功している。研究の発展の方向性としては、本研
究領域において明らかになった知見についてさらなる検討を行う方向での発展と本研究領
域を通じて確立した、免疫難病に対する医療技術の臨床応用を目指した臨床研究への取組み
を強化させる方向での発展が多く見られた。臨床応用に関しては厚労省科研費の活用が多く
見られたが、中には全く新しいテーマに対して基礎的研究を行う展開も見られた。なお鎮西
は本研究領域終了後に鈴鹿医療科学大学の大学院長に就任しており、その後の研究展開は本
研究領域で育った後進に譲ったものとみられる。

表 2-2 研究代表者の研究領域終了後の外部資金獲得状況

【2001年度採択】

研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	採択期間													金額(百万円)
					2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	
河岡 義裕	科研究 特別推進研究	新型インフルエンザウイルスの出現機構とその制圧	2006	2010														578.50
	科研究 基礎研究(A)	新型インフルエンザウイルスの出現機構とその制圧	2006	2007														25.30
	科研究 特別領域研究	インフルエンザウイルス・ゲノム・パッケージングのメカニズム	2002	2005														66.00
	科研究 基礎研究(B)	リバーシブル・ジェネティクス法によるインフルエンザ生ワクチンの開発	2001	2002														14.10
	武田科学振興財団: 武田医学賞	新型インフルエンザウイルスの制圧に関する研究	2007	2007														15.00
	JST ERATO「ライノバージョン」	河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト	2009	2014														50.40
藤谷 司	科研究 基礎研究(B)	エフェクター選別性の樹状細胞活性化機構	2011	2013														19.70
	科研究 新学術領域研究(研究領域提案型)一新学術領域研究(研究領域提案型)	感染発がんを制御する宿主炎症応答機構	2010	2014														126.80
	科研究 特別領域研究	ウイルス感染樹状細胞のエフェクター誘導の多指向性	2009	2010														14.00
	科研究 特別研究員奨励費	C型肝炎ウイルスの自然免疫応答と肝がん発生の機構に関する研究	2009	2010														2.10
	科研究 特定領域研究	T細胞受容体の発がん制御機構の解析	2008	2009														10.80
	科研究 基礎研究(A)	樹状細胞のウイルスパターン認識分子による細胞性免疫活性化機構	2007	2009														48.60
	科研究 特定領域研究	ウイルス感染のRNA応答	2007	2008														15.00
	科研究 特定領域研究	ヒト抗原提示細胞の宿主レセプターと微生物成分特異的応答性	2004	2005														18.00
	科研究 基礎研究(B)	麻疹ウイルスによるiNOS型インターフェロン誘導の分子機構TLRシグナリングの関与	2003	2005														13.10
	武田科学振興財団: 生命科学研究助成	インターフェロン誘導経路による免疫応答調節の分子基盤	2011	2011														10.00
	厚生労働科学研究費補助金	エフェクター選別性の抗がん免疫アジュバントの開発	2008	2010														85.98
高井 俊行	科研究 基礎研究(A)	PvB関連マルチリガンドによる新しい免疫抑制	2012	2014														32.60
	科研究 基礎研究(A)	免疫抑制受容体システムの動作原理の解明	2008	2010														32.20
	科研究 特定領域研究	免疫抑制受容体PVR-8による自己応答性の制御	2008	2010														10.00
	科研究 基礎研究(A)	Fcレセプターをターゲットにした免疫疾患の克服に関する研究	2005	2007														30.50
	科研究 基礎研究(A)	イムノグロブリン受容体による免疫制御機構の研究	2002	2004														29.70
中西 憲司	科研究 基礎研究(A)一基礎研究(A)	顆粒白血球の寄生虫感染宿主応答に及ぼす影響の解明	2011	2013														48.80
	科研究 基礎研究(B)	好塩基球によるTh2誘導機構とアレルギー慢性化の解析	2008	2010														19.80
	科研究 特定領域研究	寄生虫感染と宿主応答	2006	2010														91.00
	科研究 基礎研究(B)	LPSで誘導される好塩基球依存性多クローン性IL-6産生誘導機構の解析	2005	2007														15.20
	科研究 特定領域研究	パターン認識受容体を介して誘導されるIL-18依存性IL-17産生誘導機構の解析	2002	2005														61.00
	科研究 基礎研究(B)	IL-18で誘導されるMφD88非依存性IL-4依存性IL-6産生誘導機構の解明	2001	2003														14.10
三宅 健介	科研究 新学術領域研究(研究領域提案型)一新学術領域研究(研究領域提案型)	内因性リガンドによって誘導される「自然炎症」の分子基盤とその破綻	2009	2013														187.90
	科研究 新学術領域研究(研究領域提案型)一新学術領域研究(研究領域提案型)	Toll様受容体の内因性リガンドの探索およびその活性制御機構の解明	2009	2013														245.40
	科研究 基礎研究(B)	病原体センサー-Toll様受容体ファミリーの応答調節機構の解明	2008	2010														20.00
	科研究 特定領域研究	Toll-like receptorファミリーの包括的活性制御機構の解明	2007	2008														15.00
	科研究 基礎研究(B)	細菌由来糖脂質抗原に対する自然免疫抗体産生を制御するToll様受容体複合体の研究	2004	2006														14.80
	科研究 特定領域研究	エンドキシン認識機構におけるMD2タンパク質の役割についての研究	2002	2005														56.00
	科研究 特定領域研究(A)一特定領域研究	Tollファミリー分子(TLR)によるLPS認識と獲得免疫発動機構の解明	2001	2002														4.80
	科研究 基礎研究(B)	Tollレセプター複合体による細菌リポ多糖(LPS)認識機構の解明	2000	2002														16.30

【2002 年度採択】

研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	実施期間													金額(百万円)
					2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	
					期間中						終了後							
清野 宏	科研費 基礎研究(S)→基礎研究(S)	顎顔面免疫と生体免疫のクロストーク	2011	2015														129.40
	科研費 基礎研究(A)	顎顔面免疫と生体免疫のクロストーク	2011	2011														20.50
	科研費 基礎研究(A)	粘膜上皮層における抗原取り込みネットワークの解明	2008	2010														50.80
	科研費 特定領域研究	粘膜免疫と自己識別	2007	2011														144.00
	科研費 特定領域研究	エイズ粘膜ワクチン開発に向けてHIV特異的分泌型IgA誘導システムの開発	2004	2005														12.80
	厚生労働科学研究費補助金	新興・再興感染症に対するヒトM細胞様型粘膜ワクチン開発	2008	2010														107.83
	厚生労働科学研究費補助金	粘膜系自然・獲得免疫によるアレルギー制御	2007	2009														85.70
	厚生労働科学研究費補助金	粘膜ワクチン開発の基礎となるアジュバントに関する研究	2001	2006														197.00
	厚生労働科学研究費補助金	粘膜上皮層における抗原取り込みネットワークシステムの解明と予防への応用に向けた基礎研究	2002	2004														72.00
	科学技術振興費	アジア圏ワクチン再生統合医科学機構の構築	2010	2012														
NEDO「基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発」	腸管下痢性経口ワクチンの研究開発	2011	2011															
JST OREST「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」	炎症性腸疾患の慢性化制御機構の解明と治療戦略の基盤構築	2010	2014														150.00	
阪口 重雄	科研費 基礎研究(B)→基礎研究(B)	抗体V領域遺伝子選択的AIDターゲティング機構	2011	2013														19.70
	科研費 特定領域研究	タイプII RNAプライマーゼGAMPのBリンパ球遺伝子発現誘導	2003	2004														17.10
廣西 康雄	科研費 基礎研究(A)	マラリア原虫のステージ特異的宿主細胞感染機構の解明	2005	2007														47.40
	科研費 特定領域研究	マラリア原虫スプロゾイトの肝臓細胞への感染機構	2004	2005														15.00
西島 篤	科研費 基礎研究(A)	マラリア原虫のステージ特異的宿主細胞感染機構の解明	2002	2004														43.80
	科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)→新学術領域研究(研究領域提案型)	肝臓における造血細胞の運命決定に関わる環境因子の解析	2010	2014														135.50
	科研費 基礎研究(A)→基礎研究(A)	発生・病態における肝臓細胞を中心とする細胞間相互作用	2010	2012														48.60
	科研費 基礎研究(B)	SLEモデルとしてのOncostratinM欠損マウスの自己免疫疾患発症機構の解析	2006	2007														16.20
	科研費 特定領域研究	肝臓のがん化における分化制御の異常	2005	2009														48.90
	科研費 特定領域研究	肝臓の発生・増殖・分化の分子機構	2003	2004														59.00
	科研費 基礎研究(B)	胸腺上皮細胞の機能と遺伝子発現の解析	2002	2003														13.90
	武田科学振興財団:生命科学助成	肝臓細胞の動態と細胞間相互作用の発現・機能の解析	2009	2009														10.00
	厚生労働科学研究費補助金	シロムチン/PCPL1による腸管上皮幹細胞の分離とその培養系を用いた血管/リンパ管の再生医療の基盤技術の確立	2005	2007														44.00
	厚生労働科学研究費補助金	肝臓細胞移行系の確立と肝臓細胞の分離および培養(包括研究報告書)	2001	2004														43.00
	JST OREST「人工多能性幹細胞(iPS細胞)作製・制御等の医療基盤構築」	肝分化指向性iPS細胞からの高機能性肝臓組織の構築	2010	2014														
	金沢大学がん産業創出研究所「幹細胞あるいはがん幹細胞の特定・可視化に関する研究」	がん幹細胞の表面抗原分子を標的とした抗体治療法の開発	2012	2013														
	NEDO「新機能抗体創製技術開発」	肝臓幹細胞モノクローナル抗体を用いた肝臓診断薬・治療抗体の開発	2004	2006														

【2003 年度採択】

研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	実施期間													金額(百万円)
					2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	
					期間中						終了後							
梶谷 仁	科研費 基礎研究(S)→基礎研究(S)	ガイドランス因子による免疫制御機構	2008	2012														207.00
	科研費 基礎研究(A)	ガイドランス因子による臓器形成の制御機構	2006	2007														49.70
	科研費 特定領域研究(B)→特定領域研究	免疫系ホメオスタシスを制御するシグナルの解析	2001	2005														142.00
阪口 志文	科研費 特別推進研究→特別推進研究	制御性T細胞機能の分子基盤に関する研究	2008	2013														598.26
	上原記念生命科学財団:上原賞	制御性T細胞による免疫応答制御の研究	2007	2007														20.00
	NEDO「新機能抗体創製技術開発/新機能抗体創製技術開発」	高効率な抗体分離精製技術の開発	2006	2010														
笹川 千尋	科研費 特別推進研究→特別推進研究	病原細菌の自然免疫克服戦略の解明とその応用	2011	2016														321.75
	科研費 基礎研究(S)	赤痢菌の腸粘膜バリアー感染戦略の解明	2008	2012														167.44
	科研費 基礎研究(A)	赤痢菌の腸粘膜バリアー感染戦略の解明	2008	2008														21.45
	科研費 特定領域研究	細胞外増殖性グラム陰性菌の増殖・生活環および病原性発現機構の研究	2006	2010														174.00
	科研費 基礎研究(B)	ヘリコバクター・ピロリのエフェクタータンパク質の機能と胃粘膜感染機構の研究	2003	2004														15.30
	武田科学振興財団:武田医学賞	細菌の粘膜感染と宿主応答の細胞生物学的研究	2006	2006														15.00
山中 伸弥	再生医療の実現化プロジェクト(第1期)	臨床応用を実現する多能性幹細胞の樹立	2003	2007														64.49
	科研費 特定領域研究	幹細胞生物学と腫瘍生物学の接点	2005	2007														30.01
	科研費 基礎研究(B)	細胞核老化の分子基盤	2006	2007														10.00
	NEDO「健康安心イノベーションプログラム」	機能性RNAプロジェクト	2006	2009														106.50
	NIBIO「保健医療分野における基礎研究推進事業」	人工多能性幹細胞の創製および再生医療への応用	2006	2010														364.32
	科研費 特別推進研究	細胞核老化の分子基盤	2007	2011														633.10
	NEDO「健康安心イノベーションプログラム」	iPS細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発	2007	2010														17.39
	JST戦略的創造研究推進事業	山中iPS細胞特別プロジェクト	2008	2012														1905.68
	再生医療の実現化プロジェクト(第2期)	京都大学iPS細胞研究統合推進拠点	2008	2012														6287.66
	FIRST「最先端研究開発支援プログラム」	iPS細胞再生医療応用プロジェクト	2009	2013														6179.92
	再生医療実現拠点ネットワークプログラム:疾患特異的iPS細胞を活用した健康研究(樹立拠点)	疾患特異的iPS細胞樹立促進のための基盤形成	2012	2016														930.00
	厚生労働省 平成24年度医薬品等審査迅速化事業費補助金(革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業)	血小板誘導に適したiPS細胞の品質評価ガイドラインの作成	2012	2016														250.00
	再生医療実現拠点ネットワークプログラム:iPS細胞研究の中核拠点	再生医療用iPS細胞ストック開発拠点	2013	2023														27000.00

2.2.2 論文

論文発表件数は研究者の研究活動を示す重要な指標であるため、研究代表者について本研究領域期間中の論文数と終了後の論文数とを調査した。研究期間終了後については、研究代表者が筆頭著者（First Author）もしくは責任著者（Last Author）となっている論文の数を求めた。検索はいずれも2013年10月に実施した。

本研究領域期間中の発表論文数は全体で632報、期間後の発表論文数は980報であった。また、期間後発表論文のうち、責任著者となっている論文は633報であった。

河岡の本研究領域終了後の論文数の伸びが目立つ。河岡らは世界的に流行したインフルエンザに関わる国際共同研究を多数展開しており、活動領域が日本国内に留まらなかった事が発表論文数の急激な伸びにつながったのではないかと推察される。おおむねどの研究者も本研究領域終了後の発表論文数が増加している。本研究領域終了後も得られた知見を元に研究を加速させていると言える。坂口は研究活動を基礎研究から臨床応用を目指した研究にシフトしており、それにより終了後の論文数が減少したものであると考えられる。

表 2-3 研究代表者の論文発表状況

採択 年度	研究課題	研究代表者	研究領域 期間中の 論文数	研究領域 終了後の 論文数	研究領域 終了後の 責任著者 数
2001 年度	インフルエンザウイルス感染過程の解明とその応用	河岡 義裕	72	228	143
	自然免疫とヒト難治性免疫疾患	瀬谷 司	75	95	58
	IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服	高井 俊行	53	95	34
	IL-18 を標的とした自然型アトピー症の治療戦略	中西 憲司	44	41	20
	病原体糖脂質認識シグナル伝達機構の解明	三宅 健介	32	55	20
2002 年度	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 宏	47	92	49
	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 重夫	36	44	22
	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 薫雄	38	25	18
	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 康雄	18	5	0
	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 篤	45	46	29
2003 年度	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 仁	21	26	10
	制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発	坂口 志文	106	74	35
	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 千尋	21	36	23
	真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立	山中 伸弥	25	97	46
合計			632	980	633

2.2.3 特許

特許出願件数・登録件数は研究開発が応用に向けて進展していることを表す一つの指標であると考えられるため、研究領域期間中と終了後の状況について調査し、下表に示した。

本研究領域期間中の研究代表者の特許出願は国内 84 件、海外 34 件であった。成立件数(期間中に特許出願した特許のうち、現時点で特許登録されている件数)は、国内 48 件、海外 20 件であった。期間中では、高井、鎮西、宮島、山中が 10 件以上の特許を出願している。

本研究領域終了後の特許出願は、国内 73 件、海外 60 件であり、うち国内 10 件、海外 25 件が特許として成立している。本研究領域終了後は山中が 35 件の国内出願、34 件の海外出願を行っており、うち既に国内 5 件、海外 12 件が特許登録されている。これは非常に目覚ましい成果である。その他、河岡義裕も 12 件の国内・海外出願を行っている。

いずれの特許も積極的に海外出願されている点が特徴的である。

表 2-4 研究代表者の特許出願・登録状況

採択年度	研究代表者	研究領域期間中				研究領域終了後			
		国内 出願	海外 出願	国内 登録	海外 登録	国内 出願	海外 出願	国内 登録	海外 登録
2001 年度	河岡 義裕	5	2	3	2	12	12	3	11
	瀬谷 司	2	0	2	0	4	4	0	0
	高井 俊行	12	6	8	4	0	0	0	0
	中西 憲司	8	2	5	2	4	2	1	1
	三宅 健介	4	2	1	0	0	0	0	0
2002 年度	清野 宏	4	1	2	0	9	4	0	0
	小安 重夫	1	0	0	0	0	0	0	0
	阪口 薫雄	4	2	3	2	2	2	1	1
	鎮西 康雄	11	2	10	2	0	0	0	0
	宮島 篤	9	3	5	2	5	1	0	0
2003 年度	菊谷 仁	4	1	1	0	0	0	0	0
	坂口 志文	6	4	2	1	2	0	0	0
	笹川 千尋	4	2	1	1	0	0	0	0
	山中 伸弥	10	7	5	4	35	35	5	12
合計	84	34	48	20	73	60	10	25	

表 2-5 研究代表者の期間中・終了後の成立特許

【2001 年度採択】

・河岡 義裕

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2013-0 89202	特開 2013-1 39483		山下 誠, 河岡 義裕	第一三 共株式 会社	インフルエンザ治 療剤	W0200810 8323	CA26804 15, CN10171 5343, EP21232 71, HK11371 42, KR20090 129414, TW20084 8018, US20102 04314	AT526960 (T) , CN101715343 (B), DK2123271 (T 3), EP2123271 (B 1), ES2372996 (T 3), HRP20110861 (T1), PT2123271 (E), SI2123271 (T 1)
特願 2012-2 73898	特開 2013-0 59346		河岡 義裕	ウイス コンシ ン ア ルムニ リサー チ フ ァンデ イショ ン	ワクチン及び遺伝 子治療のための高 力価組換えインフ ルエンザ・ウイル ス	W0200411 2831	AU20042 49133, BRPI041 0702, CA25259 53, CN18264 07, EP16316 63, KR20060 016095, NO20056 074, NZ54344 6, US20050 03349, ZA20051 0309	AU200424913 3 (B2), EA012965 (B1), US8475806 (B 2)

特願 2011-1 11048	特開 2011-1 77192		河岡 義裕	ウィス コンシ ン ア ルムニ リサー チ フ ァンデ イショ ン	突然変異した膜タ ンパク質をコード するウイルス	W0200409 4466	AU20042 32992, CA25220 81, CN18096 33, EP16181 91, KR20060 006055, MXPA050 11250, NZ54293 5, RU20051 36233, US20042 19170, US20102 47572	CA2522081 (C) , CN1809633 (B) , KR100869011 (B1) , RU2351651 (C 2) , US7588769 (B 2)
特願 2009-5 02568	再公表 08-108 323	特許 5286 251	山下 誠, 河岡 義裕	第一三 共株式 会社	インフルエンザ治 療剤	W0200810 8323	CA26804 15, CN10171 5343, EP21232 71, HK11371 42, JP20131 39483, KR20090 129414, TW20084 8018, US20102 04314	AT526960 (T) , CN101715343 (B) , DK2123271 (T 3) , EP2123271 (B 1) , ES2372996 (T 3) , HRP20110861 (T1) , PT2123271 (E) , SI2123271 (T 1)

特願 2009-2 38781	特開 2010-0 42023		河岡 義裕	ウィス コンシ ン・アル ムナ イ・リサ ーチ・フ ァウン デーシ ョン; 河岡 義裕	インフルエンザウ イルスベクターの パッケージングの ためのシグナル	W0030689 23, W0200500 9479	AU20032 19745, AU20082 03186, CA24920 97, CA25300 87, CA28162 42, CN19977 34, EP15729 10, EP16414 93, IL16354 6, KR20100 065405, MXPA040 07914, US20040 02061, US20061 15425, US20071 41699, US20093 11669	AU200321974 5 (B2), AU200321974 5 (B8), AU200820318 6 (B2), CA2492097 (C) , IL163546 (D0) , IL211324 (D0) , KR101011410 (B1), KR101113432 (B1), US7226774 (B 2), US7585657 (B 2), US7754188 (B 2), US8298805 (B 2)
特願 2009-5 02945	特表 2009-5 32352		河岡 義裕, 堀本 泰介, 村上 晋	ダブリ ュエー アール エフ ウィス コンシ ン ア ラムナ イ リ サーチ ファウ ンデー ション	ワクチンのための 高力価組み換えイ ンフルエンザ・ウ イルス	W0200712 6810	AU20072 45192, CA26479 85, CN10147 2941, EP20105 57, US20072 31348	AU200724519 2 (B2)

特願 2008-3 15106	特開 2009-0 77734	特許 4456 169	河岡 義裕	ウィス コンシ ン・アル ムナ イ・リサ ーチ・フ アウン デーシ ョン; 河岡 義裕	インフルエンザウ イルスベクターの パッケージングの ためのシグナル	W0030689 23, W0200500 9479	AU20032 19745, AU20082 03186, CA24920 97, CA25300 87, CA28162 42, CN19977 34, EP15729 10, EP15729 10, EP16414 93, EP16414 93, IL16354 6, KR20100 065405, MXPA040 07914, US20040 02061, US20061 15425, US20071 41699, US20093 11669	AU200321974 5 (B2), AU200321974 5 (B8), AU200820318 6 (B2), CA2492097 (C) , IL163546 (D0) , IL211324 (D0) , KR101011410 (B1), KR101113432 (B1), US7226774 (B 2), US7585657 (B 2), US7754188 (B 2), US8298805 (B 2)
特願 2007-5 43311	特表 2008-5 20248		河岡 義裕, ノイマ ン, ガブリ ーレ	ウィス コンシ ン・アラ ムナ イ・リサ ーチ・フ アウン デイシ ョン	タンデム転写ユニ ットを有する組換 えインフルエンザ ベクター	W0200704 4024, W0200704 4024	AU20053 37178, CA25875 10, CN10110 3103, EA20070 1097, EP18149 90, KR20070 086344, MX20070 05818, NO20073 129, US20061 66321, US20113 00604, ZA20070 4088	IL183026 (D0) , US7968101 (B 2)

特願 2006-5 13125	特表 2007-5 25175		河岡 義裕	ウイス コンシ ン ア ルムニ リサー チ フ アウン デイシ ョン	突然変異した膜タンパク質をその機能性の一部ウイルス	W0200409 4466	AU20042 32992, CA25220 81, CN18096 33, EP16181 91, JP20075 25175, JP20111 77192, KR20060 006055, MXPA050 11250, NZ54293 5, RU20051 36233, US20042 19170, US20102 47572	CA2522081(C) , CN1809633(B) , KR100869011 (B1) , RU2351651(C 2) , US7588769(B 2)
特願 2006-5 33439	特表 2007-5 18395	特許 5215 561	河岡 義裕	ウイス コンシ ン・アラ ムナ イ・リサ ーチ・フ アウン デイシ ョン	ワクチン及び遺伝子治療のための高力価組換えインフルエンザ・ウイルス	W0200411 2831, W0200411 2831	AU20042 49133, BRPI041 0702, CA25259 53, CN18264 07, EP16316 63, KR20060 016095, NO20056 074, NZ54344 6, US20050 03349, ZA20051 0309	AU200424913 3(B2) , EA012965(B1) , US8475806(B 2)
特願 2006-5 14977	特表 2006-5 25815		河岡 義裕, ハム, ステフ アン, エビハ ラ, ヒデキ	ウイス コンシ ン・アラ ムナ イ・リサ ーチ・フ アウン デイシ ョン	POLIIプロモーターおよびリボザイムを有する組換えインフルエンザベクター	W0200502 8658, W0200502 8658, W0200502 8658	AU20042 74860, CA25268 34, CN18297 99, EP16316 73, KR20060 026854, US20050 37487	IL171951(D0) , US7723094(B 2)

特願 2003-5 68038	特表 2005-5 35288	特許 4430 942	河岡 義裕	ウィス コンシ ン・アル ムナ イ・リサ ーチ・フ ァウン デーシ ョン; 河岡 義裕	インフルエンザウ イルスベクターの パッケージングの ためのシグナル	W0030689 23, W0030689 23, W0030689 23, W0200500 9479	AU20032 19745, AU20082 03186, CA24920 97, CA25300 87, CA28162 42, CN19977 34, EP15729 10, EP15729 10, EP16414 93, EP16414 93, IL16354 6, KR20100 065405, MXPA040 07914, US20040 02061, US20061 15425, US20071 41699, US20093 11669	AU200321974 5 (B2), AU200321974 5 (B8), AU200820318 6 (B2), CA2492097 (C) , IL163546 (D0) , IL211324 (D0) , KR101011410 (B1), KR101113432 (B1), US7226774 (B 2), US7585657 (B 2), US7754188 (B 2), US8298805 (B 2)
特願 2003-1 35536	特開 2004-3 37038	特許 4293 523	河岡 義裕, 藤井 健	独立行 政法人 科学技 術振興 機構	ウイルスベクター 及びその製法			
特願 2001-5 76868	特表 2004-5 00830	特許 4927 290	河岡 義裕	ウィス コンシ ン ア ルムニ リサー チ フ ァンデ イショ ン	変異イオンチャン ネルタンパク質を 含んで成るウイル ス	W0017927 3, W0017927 3	AU55336 01, CA24061 80, EP12768 52, HK10529 49, US20031 94694, US20052 32950	AT488577 (T) , AU200125533 6 (B2), AU200125533 6 (B8), CA2406180 (C) , DE60143476 (D 1), EP1276852 (B 1), US6872395 (B 2), US8057806 (B 2)

・ 瀬谷司

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2003-1 88177	特開 2005- 02104 2	特許 42302 94	松本 美佐子, 瀬谷 司, 押海 裕之	独立行政 法人科学 技術振興 機構	哺乳動物のT o 1 1 様受容体4 に結合シタイプ I インターフェ ロン誘導を媒介 する新規アダプ ター分子および その利用			
特願 2002-3 49015	特開 2004- 18054 0	特許 38107 31	松本 美佐子, 瀬谷 司, 押海 裕之	独立行政 法人 科 学技術振 興機構	哺乳動物のT o 1 1 様受容体3 に結合する新規 アダプタータン パク質およびそ の遺伝子			

・ 高井俊行

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2004-1 08206	特開 2005- 28741 6	特許 52308 93	高井 俊行, 高柳 広, 乾 匡 範, 古賀 貴子	独立行政 法人科学 技術振興 機構	大理石骨病発症 モデル非ヒト動 物			
特願 2004-1 00061	特開 2005- 27855 8	特許 52428 82	高井 俊行, 中村 晃	独立行政 法人科学 技術振興 機構	移植片対宿主病 (GVHD) モデル動 物			
特願 2003-3 71244	特開 2004- 16669 7	特許 42197 89	高井 俊行, 帯刀 益夫, 伊藤 由美, 伊藤 梢, 海老原 伸	独立行政 法人 科 学技術振 興機構	骨髄由来の不死 化樹状細胞株	W0200403 9968		
特願 2002-3 16703	特開 2004- 14787 2	特許 45503 56	高井 俊行, 西條 芳文, 菅原 章子	独立行政 法人 科 学技術振 興機構	脳組織変性の診 断方法			

特願 2002-3 16870	特開 2004- 14756 5	特許 40333 90	飯塚 悟, 高井 俊行, 伊藤 由美, 伊藤 梢, 帯刀 益夫	独立行政 法人 科 学技術振 興機構	不死化ナチュラル キラー細胞株	W0200403 9967	EP158909 9, US200606 7914	
特願 2002-3 15091	特開 2004- 14753 5		高井 俊行, 中村 晃, 菅原 章子, 矢島 佳央里	独立行政 法人 科 学技術振 興機構	ギラン・バレー症 候群及び／又は フィッシャー症 候群発症モデル 非ヒト動物	W0200403 9149	EP156372 9, US200701 6966	US7309810 (B2)
特願 2001-3 31622	特開 2003- 13496 4	特許 39266 03	高井 俊行, 氏家 あづさ	科学技術 振興事業 団	Th2 型過剰免疫 応答モデル非ヒ ト動物	W0030370 79	CA246532 7, EP145452 5, US200509 1703, US200805 0751	AU20023445 81 (B2), CA2465327 (C), US7301068 (B2), US7696403 (B2)
特願 2001-3 31621	特開 2003- 13496 3	特許 46539 15	高井 俊行, 中村 晃, 矢島 佳央里	科学技術 振興事業 団	全身性エリテマ トーデスモデル 非ヒト動物	W0030370 80	CA246841 5, EP144943 2, US200506 6378	AT469975 (T), AU20023445 82 (B2), CA2468415 (C), DE60236612 (D1), EP1449432 (B1), ES2345813 (T3), US7265261 (B2)
特願 2001-1 46338	特開 2003- 01894 2	特許 50107 84	高井 俊行, 阿相 皓晃, 藤原 道弘	科学技術 振興事業 団	オリゴデンドロ サイト発達障害 モデル非ヒト動 物	W0020918 20	CA244727 6, EP138828 3, US200521 0538	AU20022553 01 (B2), CA2447276 (C), EP1388283 (B1), US7332644 (B2)

・ 中西憲司

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2010-5 35650	再公表 10-05 0167		中西憲司, 善本知広	学校法人 兵庫医科大学	Th2 細胞誘導用 組成物および Th2 型疾患の治 療組成物、ならび にこれらの利用	W0201005 0167	CN102264 891, EP235183 2, US201125 2487	US8440412 (B2)
特願 2006-3 05852	特開 2008- 12072 4	特許 48251 13	善本知広, 中西憲司, 善本隆之, 水口純一郎	独立行政 法人科学 技術振興 機構	Th2 型アレルギー 一性疾患治療薬 及び感染症治療 薬			
特願 2005-3 46987	特開 2007- 15141 4	特許 47287 85	水谷仁, 中西憲司	独立行政 法人科学 技術振興 機構	IL-18 の生物活 性を有する新規 ポリペプチドお よびその利用			
特願 2005-0 12142	特開 2006- 19961 4	特許 46730 68	中西憲司, 善本知広, 筒井ひろ子, 林伸樹	独立行政 法人科学 技術振興 機構	T h 1 型アレル ギー疾患治療用 組成物			
特願 2005-5 06315	再公表 04-10 4578	特許 43352 11	中西憲司, 水谷仁, 筒井ひろ子	独立行政 法人科学 技術振興 機構	ケラチノサイト によるインター ロイキン 1 8 の 産生の誘導現象 を利用した阻害 剤のスクリーニ ング方法、および アトピー性皮膚 炎様症状の誘導 方法、並びにその 利用	W0200410 4578	AU200424 1513, CA252329 7, CA269003 5, CN177780 7, EP163517 6, EP217527 0, KR200600 11837, KR200800 49851, US200709 2448, US201000 3194	AU20042415 13(B2), CA2523297 (C), CN1777807 (B), EP1635176 (B1), US8293212 (B2)

特願 2005-5 05960	再公表 04-09 7019	特許 41341 66	杉村 和久, 中西 憲司, 中島 敏博	独立行政 法人科学 技術振興 機構; 財 団法人化 学及血清 療法研究 所	ヒト抗ヒトイン ターロイキン 18抗体および その断片、並びに それらの利用方 法	W0200409 7019	AU200423 5595, CA252391 2, CN178091 1, EP162161 6, KR200600 15558, US200629 2145	AU20042355 95 (B2), AU20042355 95 (C1), CN10045790 1 (C), KR10098812 9 (B1), US7491803 (B2)
特願 2004-0 24655	特開 2005- 21101 9	特許 44852 16	中西 憲司, 善本 知広	独立行政 法人科学 技術振興 機構	喘息モデル動物 およびその作製 方法、並びにその 利用			

・ 三宅健介

出願番 号	公開 番号	特許 番号	発明者 ／考案 者	出願人/ 権利者	発明の名称	国際出願 番号	国際公開 番号	海外での成 立
特願 2002-1 30964	特開 2003- 31973 4	特許 46906 30	三宅 健介	科学技術 振興事業 団	MD-2 遺伝子改変 モデル非ヒト動 物			

【2002年度採択】

・ 清野宏

出願番 号	公開 番号	特許 番号	発明者 ／考案 者	出願人/ 権利者	発明の名称	国際出願 番号	国際公開 番号	海外での成 立
特願 2006-5 12144	再公表 05-09 6806	特許 47699 77	清野 宏, 幸 義 和, 廣井 隆親, 野地 智法, 高岩 文雄, 高木 英典, 楊 麗 軍, 鈴木 一矢, 海老沼 宏安, 杉田 耕一, 笠原 さおり	独立行政 法人農業 生物資源 研究所; 株式会社 東京大学 T L O; 日本製紙 株式会社	ワクチン遺伝子 導入イネ	W0200509 6806	US200719 2906	

特願 2004-0 88352	特開 2005- 27436 6	特許 42643 72	清野 宏, 権 美 那, 明 張 浩, 幸 義 和	独立行政 法人科学 技術振興 機構	ワクチン標的物 質のスクリー ニング方法			
-----------------------	---------------------------	-------------------	---	----------------------------	----------------------------	--	--	--

・小安 重夫
(該当なし)

・阪口薫雄

出願番 号	公開 番号	特許 番号	発明者 ／考案 者	出願人/ 権利者	発明の名称	国際出願 番号	国際公開 番号	海外での成 立
特願 2010-0 28977	特開 2010- 16202 6	特許 50805 97	阪口 薫雄	株式会 社イム ノキ ック	GANP 遺伝子導入 トランスジェニ ック哺乳動物及 びその利用	W0200404 0969, W0200404 0971	AU200234 3870, AU200327 7620, CA250486 7, CN101240 291, CN171101 8, EP155931 8, HK112436 3, KR200500 49490, US200623 6417, US200823 3109	AT427654 (T) , AU20032776 20 (B2) , CA2504867 (C) , CN10039669 9 (C) , CN10124029 1 (B) , DE60327094 (D1) , EP1559318 (B1) , KR10094190 5 (B1) , US7919674 (B2)
特願 2006-1 89043	特開 2008- 01182 8	特許 49828 47	阪口 薫雄	国立大 学法 人 熊 本大 学	GANP によるがん 抑制遺伝子の活 性化方法			
特願 2005-5 16264	再公 表 05-05 8963	特許 45688 96	阪口 薫雄, 桑原 一彦, 蓑田 知江美	財団法 人く まも とテ クノ 産 業財 団	抗H I V抗体	W0200505 8963	US200805 0365	US7667006 (B2)

特願 2004-5 49646	再公 表 04-04 0971	特許 44785 77	阪口 薫雄	株式会 社 イムノキ ック	GANP 遺伝子導入 トランスジェニ ック哺乳動物及 びその利用	W0200404 0969, W0200404 0971	AU200234 3870, AU200327 7620, CA250486 7, CN101240 291, CN171101 8, EP155931 8, HK112436 3, KR200500 49490, US200623 6417, US200823 3109	AT427654(T) , AU20032776 20(B2), CA2504867(C) , CN10039669 9(C), CN10124029 1(B), DE60327094 (D1), EP1559318(C B1), KR10094190 5(B1), US7919674(C B2)
-----------------------	--------------------------	-------------------	----------	------------------------	---	---------------------------------------	---	---

・ 鎮西康雄

出願番 号	公開 番号	特許 番号	発明者 ／考案 者	出願人/ 権利者	発明の名称	国際出願 番号	国際公開 番号	海外での 成立
特願 2003-1 46698	特開 2004- 34410 5	特許 38375 47	石野 智子, 油田 正夫, 鎮西 康雄	三重大学 長	ネズミマラリア 原虫由来のP b s p 1 蛋白質、当 該蛋白質をコー ドする遺伝子			
特願 2002-2 89683	特開 2004- 12109 1	特許 38375 19	森田 明広, 伊澤 晴彦, 油田 正夫, 織戸 由貴, 鎮西 康雄	三重大学 長	血小板凝集阻害 活性を有するブ ラジルサンガメ 由来のT i - 3 蛋白質		US2004073 005	US6956106 (B2)
特願 2002-2 89564	特開 2004- 12108 6	特許 38375 18	森田 明広, 伊澤 晴彦, 油田 正夫, 織戸 由貴, 鎮西 康雄	三重大学 長	血小板凝集阻害 活性を有するブ ラジルサンガメ 由来のT i - 4 蛋白質		US2004072 194	US7084254 (B2)

特願 2001-3 17370	特開 2003- 11657 4	特許 36485 49	鎮西 康雄, 油田 正夫, 伊澤 晴彦	三重大学 長	血液凝固阻害活 性を有するブラ ジルサシガメ由 来のT i - 2 蛋 白質			
特願 2001-3 17330	特開 2003- 11657 3	特許 36485 48	鎮西 康雄, 油田 正夫, 伊澤 晴彦	三重大学 長	血液凝固阻害活 性を有するハマ ダラカ由来のA s - 1 蛋白質			
特願 2001-3 17325	特開 2003- 11657 2	特許 36485 47	鎮西 康雄, 油田 正夫, 岩永 史朗, 伊澤 晴彦	三重大学 長	血液凝固阻害活 性を有するフタ トゲチマダニ由 来のH 1 - 1 蛋 白質			
特願 2001-3 17257	特開 2003- 11657 1	特許 36485 46	鎮西 康雄, 油田 正夫, 伊澤 晴彦	三重大学 長	ブラジキニン産 生阻害活性及び 血液凝固阻害活 性を有するハマ ダラカ由来のA s - 2 蛋白質			
特願 2001-3 17156	特開 2003- 11657 0	特許 36485 45	鎮西 康雄, 油田 正夫, 岩永 史朗, 伊澤 晴彦	三重大学 長	血液凝固阻害活 性を有するフタ トゲチマダニ由 来のH 1 - 3 蛋 白質			
特願 2001-3 17155	特開 2003- 11656 9	特許 36485 44	鎮西 康雄, 油田 正夫, 岩永 史朗, 伊澤 晴彦	三重大学 長	血液凝固阻害活 性を有するフタ トゲチマダニ由 来のH 1 - 2 蛋 白質			
特願 2001-3 16835	特開 2003- 11656 8	特許 36485 43	鎮西 康雄, 油田 正夫, 伊澤 晴彦	三重大学 長	血液凝固阻害活 性を有するブラ ジルサシガメ由 来のT i - 1 蛋 白質			

・ 宮島篤

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2005-5 15795	再公表 05-052 156	特許 46959 82	中村 康司, 安西 弘子, 柳内 浩之, 宮島 篤	財団法人 神奈川科 学技術ア カデミー	肝がんの検出方 法及び肝がん診 断薬並びにがん 治療薬	W0200505 2156	CA255255 3, EP170298 2, EP220444 8, US200811 2956, US201015 1503	AT466937(T) , AT546527(T) , DE60200402 7085(D1), EP1702982(B1), EP2204448(B1), ES2345493(T3), ES2382987(T3)
特願 2003-0 33008	特開 2004-2 42513	特許 41730 22	宮島 篤, 田中 稔, 竹内 眞樹, 松下 浩和	独立行政 法人 科 学技術振 興機構	未分化造血細胞 検出用マーカー			
特願 2003-3 50081	特開 2004-1 87679	特許 44230 06	中村 康司, 柳内 浩之, 宮島 篤	財団法人 神奈川科 学技術ア カデミ ー; 麒麟 麦酒株式 会社	肝幹細胞の検出 又は分離方法			
特願 2001-3 82116	特開 2003-1 80198	特許 41078 38	中村 康司, 宮島 篤, 田中 稔	財団法人 神奈川科 学技術ア カデミー	オンコスタチン M受容体遺伝子 欠損動物及びそ の用途			
特願 2003-5 05354	再公表 02-103 033	特許 43442 31	谷水 直樹, 宮島 篤	財団法人 神奈川科 学技術ア カデミ ー; 麒麟 麦酒株式 会社	d l k を用いた 未分化肝細胞の 検出および分離 方法	W0021030 33	CA245075 7, EP139426 3, US200415 2095	AT410688(T) , DE60229242 (D1), EP1394263(B1)

【2003年度採択】

・ 菊谷仁

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2006-1 61547	特開 2007- 30846 6	特許 50414 64	菊谷 仁, 熊ノ郷 淳, 杉山 憲司	ベーリン ガー イ ンゲルハ イム イ ンターナ ショナル ゲゼルシ ャフト ミット ベシユレ ンクテル ハフツン グ; 国立 大学法人 大阪大学	サイトカイン媒 介疾患の治療方 法			

・ 坂口志文

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2007-5 20139	再公 表 06-13 2272	特許 49841 60	坂口 志文, 児玉 龍彦, 浜窪 隆雄, 先浜 俊子, 舟橋 真一, 岩成 宏子	国立大学 法人 東京大学; 国立大学 法人京都 大学; 中 外製薬株 式会社; 株式会社 ペルセウ スプロテ オミクス	抗体の作製方法	W0200613 2272		
特願 2005-1 34279	特開 2006- 30474 0	特許 47307 33	坂口 志文, 廣田 圭司, 山口 智之	国立大学 法人京都 大学; 独 立行政法 人理化学 研究所	4型葉酸受容体 の発現を指標と した制御性T細 胞の検出方法、及 び免疫賦活剤		US2006246 063, US2009181 012, US2013028 890	US7488474 (B2)

・ 笹川千尋

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2006-3 13217	特開 2008- 12732 4	特許 51457 00	小安 重夫, 永井 重徳, 笹川 千尋, 三室 仁美	学校法人 慶應義塾	キャリア	W0200806 2699	AU2007322 846, US2010074 921	AU2007322 846(B2), US8524250 (B2)

・ 山中伸弥

出願番号	公開番号	特許番号	発明者／考案者	出願人／権利者	発明の名称	国際出願番号	国際公開番号	海外での成立
特願 2012-5 52617	特表 2013- 51937 1		山中 伸弥, 五島 直樹, 前川 桃子, 河村 義史, 望月 宏美	国立大学 法人京都 大学; 独 立行政法 人産業技 術総合研 究所; 一 般社団法 人バイオ 産業情報 化コンソ ーシウム	効率的な人工多 能性幹細胞の樹 立方法	W0201110 2531	CA2789749 , CN1027821 22, EP2536828 , KR2012013 1180, SG183315, US2013029 423	IL221481(D0)
特願 2011-5 36662	特表 2012- 51898 8		山中 伸弥, 五島 直樹, 前川 桃子, 河村 義史, 望月 宏美	国立大学 法人京都 大学; 独 立行政法 人産業技 術総合研 究所; 一 般社団法 人バイオ 産業情報 化コンソ ーシウム	新規核初期化物 質	W0201009 8419	CA2753845 , CN1023881 36, EP2401372 , EP2607476 , KR2012000 3867, SG173876, US2012052 583	IL214833(D0)
特願 2010-5 06749	特表 2011- 52579 3		山中 伸弥, 高橋 和利, 沖田 圭介	国立大学 法人京都 大学	効率的な人工多 能性幹細胞の樹 立方法	W0200915 7593	CA2695590 , CN1018358 90, EP2288692 , KR2011004 1430, US2011223 669	CN1018358 90(B), US8530238 (B2)
特願 2011-0 88113	特開 2011- 18886 0		山中 伸弥	国立大学 法人京都 大学	誘導多能性幹細 胞	W0200706 9666	AU2006325 975, AU2008297 024,	AT518883(T), AU2006325 975(B2),

						BRPI06197 94, CA2632142 , CA2660123 , CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, EA2008700 46, EA2010008 58, EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530, US2009047 263, US2009068 742, US2009227 032, US2010062 533, US2010210 014, US2010216 236, US2013059 386, W02007069 666, ZA2008046 73	CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)
--	--	--	--	--	--	--	---

特願 2010-5 05402	再公 表 09-12 2747		中内 啓光, 江藤 浩之, 錦井 秀和, 高山 直也, 山中 伸弥, 高橋 和利	国立大学 法人 東 京大学	iPS 細胞からの 血小板の調製方 法	W0200912 2747	CN1019811 81, EP2277995 , US2011053 267	CN1019811 81 (B)
特願 2009-5 08036	再公 表 09-05 7831		山中 伸弥, 高橋 和利, 中川 誠人	国立大学 法人京都 大学	核初期化方法	W0200706 9666, W0200905 7831	AU2006325 975, AU2008297 024, BRPI06197 94, C632142, C660123, CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, E00870046 , E01000858 , EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530, US2009047 263, US2009068 742, US2009227	AT518883 (T), AU2006325 975 (B2), CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)

							032, US2010062 533, US2010210 014, US2010216 236, US2013059 386, Z00804673	
特願 2009-0 56750	特開 2009- 16548 1	特許 44113 63	山中 伸弥	国立大学 法人京都 大学	誘導多能性幹細 胞からの体細胞 の製造方法	W0200706 9666, W0200905 7831	AU2006325 975, AU2008297 024, BRPI06197 94, CA2632142 , CA2660123 , CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, EA2008700 46, EA2010008 58, EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530, US2009047 263, US2009068 742, US2009227	AT518883 (T), AU2006325 975 (B2), CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)

							032, US2010062 533, US2010210 014, US2010216 236, US2013059 386, ZA2008046 73	
特願 2009-0 56749	特開 2009- 16548 0		山中 伸弥	国立大学 法人京都 大学	誘導多能性幹細 胞およびその製 造方法	W0200706 9666, W0200905 7831	AU2006325 975, AU2008297 024, BRPI06197 94, C632142, C660123, CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, E00870046 , E01000858 , EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530, US2009047 263, US2009068 742, US2009227 032,	AT518883 (T), AU2006325 975 (B2), CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)

							US2010062 533, US2010210 014, US2010216 236, US2013059 386, Z00804673	
特願 2009-0 56748	特開 2009- 16547 9	特許 52483 71	山中 伸弥	国立大学 法人京都 大学	誘導多能性幹細 胞を製造するた めの核初期化因 子の使用	W0200706 9666, W0200905 7831	AU2006325 975, AU2008297 024, BRPI06197 94, C632142, C660123, CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, E00870046 , E01000858 , EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530, US2009047 263, US2009068 742, US2009227 032, US2010062 533,	AT518883 (T), AU2006325 975 (B2), CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)

							US2010210 014, US2010216 236, US2013059 386, Z00804673	
特願 2009-0 56747	特開 2009- 16547 8	特許 44113 62	山中 伸弥	国立大学 法人京都 大学	誘導多能性幹細 胞の製造方法	W0200706 9666, W0200905 7831	AU2006325 975, AU2008297 024, BRPI06197 94, C632142, C660123, CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, E00870046 , E01000858 , EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530, US2009047 263, US2009068 742, US2009227 032, US2010062 533, US2010210 014,	AT518883 (T), AU2006325 975 (B2), CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)

							US2010216 236, US2013059 386, Z00804673	
特願 2007-5 50210	再公 表 07-06 9666	特許 50980 28	山中 伸弥	国立大学 法人京都 大学	核初期化因子	W0200706 9666, W0200905 7831	AU2006325 975, AU2008297 024, BRPI06197 94, C632142, C660123, CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, E00870046 , E01000858 , EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530, US2009047 263, US2009068 742, US2009227 032, US2010062 533, US2010210 014, US2010216 236,	AT518883 (T), AU2006325 975 (B2), CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)

							US2013059 386, Z00804673	
特願 2008-1 49839	特開 2009- 00010 8	特許 48292 72	山中 伸弥, 海保 英子	山中 伸 弥; 大日 本住友製 薬株式会 社	ES 細胞特異的発 現遺伝子	W0020970 90	AU2008201 280, EP1403366 , EP1403366 , EP2354227 , US2004137 460, US2006292 620, US2012178 911	AU2002306 374(B2), AU2008201 280(B2), US7250255 (B2), US8158766 (B2)
特願 2008-1 31577	特開 2008- 28397 2	特許 41837 42	山中 伸弥	国立大学 法人京都 大学	誘導多能性幹細 胞の製造方法	W0200706 9666, W0200905 7831	AU2006325 975, AU2008297 024, BRPI06197 94, C632142, C660123, CN1013562 70, CN1016170 43, CN1018643 92, CN1031134 63, E00870046 , E01000858 , EP1970446 , EP2096169 , EP2206724 , EP2206778 , EP2208786 , HK1125131 , IL191903, KR2008009 5852, KR2010007 5771, MX2008007 654, NZ569530,	AT518883 (T), AU2006325 975(B2), CA2632142 (C), DK1970446 (T3), EA014166 (B1), EA018039 (B1), EP1970446 (B1), ES2367525 (T3), IL191903 (D0), PT1970446 (E), US8048999 (B2), US8058065 (B2), US8129187 (B2), US8278104 (B2)

							US2009047 263, US2009068 742, US2009227 032, US2010062 533, US2010210 014, US2010216 236, US2013059 386, Z00804673	
特願 2006-5 37735	再公 表 06-03 5741		山中 伸弥	山中 伸 弥; 大日 本住友製 薬株式会 社	ES 細胞特異的発 現遺伝子及びそ の利用	W0200603 5741	EP1811023 , EP1811023 A4, US2008299 548	US7803920 (B2)
特願 2006-5 10284	再公 表 05-08 0598	特許 49014 71	山中 伸弥	山中 伸 弥; 大日 本住友製 薬株式会 社	体細胞核初期化 物質のスクリー ニング方法	W0200508 0598	US2008274 914	US7964401 (B2)
特願 2005-5 04735	再公 表 04-06 7744	特許 42681 69	山中伸 弥	山中 伸 弥; 大日 本住友製 薬株式会 社	胚性幹細胞の自 己複製決定因子	W0200406 7744		
特願 2002-0 73138	特開 2003- 26516 6	特許 41185 79	山中 伸弥, 高橋 和利	山中 伸 弥; 住友 製薬株式 会社	E C A T 5 ノ ッ クアウト細胞			

2.3 アウトカム

2.3.1 科学技術的アウトカム

(1) 受賞

科学技術の進歩への貢献や研究成果に関する評価を示す指標の一つとして、受賞歴が挙げられる。下表に、研究領域終了後の研究代表者の受賞歴を示す。

本研究領域における参加研究者が国内的にも国際的にも高く評価されていることが分かる。授賞としてはやはり免疫関係の賞が多く見られた。また特に山中、河岡義裕の国際的評価が高いことが伺えた。紫綬褒章に関して河岡、坂口、山中の3名が受賞しており、また学士院賞・文部科学大臣賞の受賞者も3件等ある。国内で高い評価を受けていることが分かる。

表 2-6 研究代表者の研究領域終了以降の受賞リスト

採択年度	研究代表者	賞の名称	授与機関	受賞理由・業績、対象論文等	受賞年
2001年度	河岡 義裕	第46回野口英世記念医学賞	野口英世記念館	エマージングウイルスの分子生物学的研究	2002
		Robert Koch 賞	ロベルト・コッホ財団	1990年代後半に、新種のインフルエンザウイルスに対する不活化ワクチンを、迅速かつ効率的に製造するのに効果的な reverse-genetics system を世界で初めて開発。	2006
		内藤記念科学振興賞	内藤記念科学振興財団	『インフルエンザ制圧に関する研究』	2010
		第8回「高峰記念第一三共賞」	三共生命科学振興財団	プラスミドからインフルエンザウイルスを人工合成する遺伝子操作系を開発。この技術を利用すれば、弱毒性インフルエンザウイルスを作り出し、インフルエンザワクチンを自由自在に作成することができる。	2010
		日本農学賞	日本農学会	インフルエンザウイルスの人工合成法を用いた基礎ならびに応用研究	2010
	瀬谷 司	高松宮妃がん研究奨励賞	高松宮妃癌研究基金		2003
		三菱財団研究奨励賞	三菱財団		2005
		武田科学振興財団研究助成金(一般研究奨励)	武田科学振興財団	ウイルス感染回避の自然免疫分子機構	2006
		日本医師会医学研究助成費	日本医師会	がんの自然免疫療法—確立に向けての基礎研究—	2009
	高井 俊行	平成16年度免疫学会賞		「イムノグロブリン様レセプターによる免疫制御機構と免疫疾患に関する研究」	2004
		文部科学大臣表彰科学技術賞(研究部門)	文部科学省	免疫制御 Fc 受容体の研究	2012
	中西 憲司	「第55回 野口英世記念医学賞」	財団法人野口英世記念会	インターロイキン-18 (IL-18) の発見とその生体防御における役割	2012
	三宅 健介	なし			

2002 年度	清野 宏	ベルツ賞 1 等賞	日本免疫学会		2007
		日本食品免疫学会特別賞 (2009)	日本食品免疫学会	粘膜免疫学の基礎的解明と学問体系の確立に顕著な成果を挙げ、食品免疫学の学問的基礎の構築	2009
		第 51 回 (平成 19 年度) 野口英世記念医学賞	財団法人野口英世記念会	粘膜免疫の基礎的解明と学問的体系確立	2007
		日本ワクチン学会高橋賞	日本ワクチン学会	粘膜免疫学の創成と粘膜ワクチン開発への理論形成	2007
	小安 重夫	なし			
	鎮西 康雄	読売東海医学賞	読売新聞社	「マラリア感染の分子機構」に対して。	2007
	宮島 篤	なし			
2003 年度	菊谷 仁	文部科学大臣表彰・科学技術賞	文部科学省	セマフォリン分子群による免疫制御機構の研究	2009
		持田記念学術賞	公益財団法人持田記念医学薬学振興財団	リンパ球機能分子群による免疫制御機構	2004
	坂口 志文	慶應医学賞	慶應義塾医学振興基金	免疫応答のブレーキ役となるリンパ球 (制御性 T 細胞) を発見し、制御性 T 細胞の機能、各種免疫疾患における役割の解明、さらにこの細胞の発生の鍵となる遺伝子を同定した業績に対するもの	2008
		朝日賞	朝日新聞社	制御性 T 細胞の発見を通じた免疫寛容の解明	2011
		日本学士院賞	日本学士院	制御性 T 細胞による免疫応答制御	2012
	笹川 千尋	なし			
	山中 伸弥	NAIST 学術賞	奈良先端科学技術大学院大学 (NAIST) バイオサイエンス研究科	ES 細胞が分化多能性を維持する機構の解析	2003
		東京テクノフォーラム・ゴールドメダル	読売テクノ・フォーラム	初期胚の分化や腫瘍形成を調節する因子の発見と再生医療への応用	2004
		日本学術振興会賞	日本学術振興会	細胞の核を初期化する遺伝子の解析と多分化能を持つ幹細胞の樹立	2006
		科学技術への顕著な貢献 in 2006 (ナイス ステップな研究者)		再生医療を可能にする画期的“万能細胞”の作製	2006
大阪科学賞		大阪府、大阪市、財団法人大阪科学技術センター	細胞核を初期化する遺伝子の同定と多能性幹細胞の樹立	2007	
朝日賞		朝日新聞社	万能細胞作製に関する新手法の開発と実証	2007	
井上学術賞		井上科学振興財団	分化多能性 (万能性) の維持と誘導に関する研究	2007	

		マイエンブルク賞	Meyenburg Foundation / German Cancer Research Center (DKFZ)	人の皮膚から「万能細胞」を世界で初めてつくることに成功	2007
		日経 BP 技術賞	日経 BP 社	マウス体細胞の初期化記述	2007
		ロベルト・コッホ賞	ロベルト・コッホ財団	iPS 細胞の研究分野を切り開いた	2008
		科学技術特別賞	文部科学省	人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 研究分野を切り開いた業績	2008
		ショウ賞 (生命科学・医学部門)		人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の研究	2008
		上原賞	上原記念生命科学財団	多能性幹細胞の維持と誘導に対し	2008
		山崎貞一賞	材料科学技術振興財団	多能性幹細胞の維持と誘導	2008
		島津賞	島津科学技術振興財団	人工多能性幹細胞による生体反応予想に対し	2008
		武田医学賞	武田科学振興財団	多能性幹細胞の維持と誘導	2008
		中日文化賞受賞	中日新聞社	人工多能性幹 (iPS) 細胞株の樹立	2008
		日経 BP 技術賞大賞	日経 BP 社	ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の樹立	2008
		第 6 回高峰記念三共賞	第一三共生命科学研究振興財団	ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の樹立	2008
		京都創造者大賞 特別賞	京都ブランド推進連絡協議会	新しい多能性幹細胞 iPS 細胞の樹立	2008
		American Skin Association 10th Annual Gala, 2008 Lifetime Scientific Achievement Award	American Skin Association	iPS 細胞研究における研究成果	2008
		秋の紫綬褒章	内閣府	iPS 細胞研究における研究成果	2008
		Meira and Shaul G. Massry Prize	Meira and Shaul G. Massry Foundation	iPS 細胞研究における研究成果	2008
		京都新聞大賞 文化学術賞	京都新聞	世界で初めて iPS 細胞の作製に成功	2008
		関西元気文化圏賞大賞	関西元気文化圏推進協議会	ヒトの皮膚細胞から iPS 細胞の作製に成功	2008
		ガードナー国際賞	ガードナー財団	再生医療への応用が期待される人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の開発	2009
		アルバート・ラスカー基礎医学研究賞	ラスカー財団	新型万能細胞 (iPS 細胞) を開発	2009
		第 2 回日本薬理学会江橋節郎賞	日本薬理学会	体細胞の初期化による多能性幹細胞 (iPS 細胞) の樹立	2009

		Lewis S. Rosenstiel Award	Brandeis University	Outstanding Research Achievement in the Field of Basic Medical Studies	2009
		日経BP技術賞 読者大賞	日経BP社	ヒト人工多能性幹細胞 (iPS細胞) 株の樹立	2009
		恩賜賞・日本学士院賞	日本学士院	マウス線維芽細胞に4つの遺伝子を導入し、ES細胞(胚性幹細胞)に似た、ほぼ無限に増殖する能力と様々な組織や臓器の細胞を作り出す多能性を有する幹細胞、人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cell: iPS細胞)の樹立に世界で初めて成功しました。また、ヒトの皮膚細胞からiPS細胞を作製することにも成功	2010
		発生物学マーチ・オブ・ダイヤモンド賞	マーチ・オブ・ダイヤモンド財団	世界で初めてiPS細胞(人工多能性幹細胞)の樹立に成功	2010
		トムソン・ロイター引用栄誉賞	トムソン・ロイター社	人工多能性幹細胞(iPS細胞)の開発	2010
		京都賞先端技術部門	稲盛財団	「人工多能性幹細胞(iPS細胞)を誘導する技術の開発」	2010
		バルザン賞	バルザン財団	神経や内臓などさまざまな組織に成長できる人工多能性幹細胞(iPS細胞)の開発に世界で初めて成功	2010
		大阪市長特別表彰	大阪市	科学技術の振興に功績	2010
		京都市市民栄誉賞	京都市	iPS細胞研究における研究成果	2010
		日本医師会医学賞	日本医師会	人工多能性幹細胞の樹立	2010
		文化功労者 顕彰	文部科学省	文化の向上発達に関し特に顕著な功績をあげた	2010
		BBVA Foundation Frontiers of Knowledge Award in the Biomedicine category	BBVA Foundation	Outstanding contributions in the area of Biomedicine	2010
		ウルフ賞医学部門	ウルフ財団	人工多能性幹細胞(iPS細胞)研究への革新的な貢献	2011
		King Faisal International Prize for Science (Medicine)	The King Faisal Foundation	iPS細胞研究における研究成果	2011
		11th Annual Albany Medical Center Prize in Medicine and Biomedical Research	Albany Medical Center	iPS細胞研究における研究成果	2011
		Distinguished Leadership Award	Japan Society of Boston	For his contributions to the health of mankind through his research on stem cells	2011

		ISSCR McEwen Centre Award for Innovation	International Society for Stem Cell Research (ISSCR)	in recognition of their paradigm-shifting work demonstrating the reprogramming of adult/tissue-specific cells using transcription factors that has resulted in a rapid development of novel tools and strategies for use in the pursuit of better understanding and treating disease.	2011
		Warren Triennial Prize of Massachusetts General Hospital (MGH)	Massachusetts General Hospital (MGH)	discovery of a method to convert adult cells into cells with characteristics of embryonic stem cells	2011
		ミレニアム技術賞 ランド・プライズ	フィンランド技術賞財団	iPS 細胞の樹立	2012
		ノーベル生理学・医学賞	ノーベル賞委員会	「人工多能性幹細胞 (iPS 細胞)」というほぼ無限に増殖する能力とあらゆる組織や臓器の細胞になりうる多能性を持った幹細胞の樹立に、世界で初めての成功した研究業績	2012
		京都府特別栄誉賞	京都府	ノーベル生理学・医学賞受賞決定	2012
		文化勲章	日本政府	ノーベル生理学・医学賞受賞決定	2012
		感動大阪大賞	大阪府	人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を開発	2012
		第 47 回大阪市市民表彰 特別功労部門	大阪市	「人工多能性幹細胞 (iPS 細胞)」の研究により、2012 年のノーベル生理学・医学賞に輝くなど、多くの市民に大きな励みと誇りを与えるとともに、本市はもとより日本の科学技術の発展と国際的な地位の向上に大きく貢献した。	2012
		大阪活力グランプリ 2012 特別賞	大阪商工会議所	「山中伸弥教授がノーベル生理学・医学賞受賞決定」大阪・関西における製薬・バイオ産業の活性化に大きなインパクトが期待される。	2012
		生命科学ブレークスルー賞	生命科学ブレークスルー賞財団	iPS 細胞の開発	2013
		京都府文化賞特別功労賞	京都府	平成 18 年、世界で初めて、マウスの皮膚から様々な組織に育つ万能細胞 (iPS 細胞) をつくることに成功。平成 24 年ノーベル医学生理学賞受賞。	2013
		“Commitment to a Cure” Award from amyotrophic lateral sclerosis (ALS) Association Golden West Chapter	The ALS Association Golden West Chapter	the far-reaching, human-health impact of Dr. Yamanaka’s Nobel Prize winning discovery of a way to transform adult skin cells into cells that act like embryonic stem cells	2013
		平成 25 年度京都大学孜孜賞	京都大学	人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の開発	2013
		京都府医師会特別栄誉賞	京都府医師会	iPS 細胞研究における研究成果	2013

		World Visionary Award	Japan Society of Northern California	For his revolutionary research in biomedicine and stem cell research.	2013
--	--	-----------------------	--------------------------------------	---	------

(2) その他

本研究領域において、基礎研究とそれに続く臨床応用の双方で突出した研究成果を上げたのは、河岡、坂口、山中であると言える。河岡はパンデミックの可能性の示唆と有効なインフルエンザワクチンの開発など、社会的関心の高い分野において、基礎研究と応用研究の両輪のバランスを上手くとり研究を進めている点が評価できる。坂口は制御性 T 細胞の発見者として有名であり、免疫療法の開発など臨床面での取り組みに重点を置いている。特筆すべきは Human immunity という、免疫学分野における若手研究者からベテラン研究者までを集めたフォーラムを作るなど啓蒙活動にも積極的である。河岡義裕、坂口はアメリカ科学アカデミーの外国人会員に選ばれており、山中はノーベル生理学・医学賞を受賞している。

2.3.2 社会・経済的アウトカム

(1) 新聞報道等

本研究領域終了後、研究成果の報道回数は、河岡（73 件）、瀬谷（6 件）、高井（7 件）、中西 2 件、三宅（4 件）、清野（6 面）、（小安 7 件）、阪口（1 件）、宮島（27 件）、菊谷（7 件）、菊池（1 件）山中（10559 件）であった。報道内容としては河岡の 2013 年の鳥インフルエンザについては、「感染しやすく遺伝子に変異。」「日本人には免疫なし。」「哺乳類感染の可能性。」「現行のインフルエンザ治療薬効果望めず。」など具体的研究結果が日本経済新聞、毎日新聞、朝日新聞、読売新聞など全国紙が一斉に報道するんなど、社会の非常に高い関心が見受けられた。山中の新聞報道に関しては、全国紙はもちろんのこと地方紙に至るまで広く取り上げられており、一つ一つの研究成果が、我が国の全国民にあまねく提供されていたことを示すものであり、社会的認知度が非常に高いものであることを如実に示している。内容としては iPS 細胞が抱える腫瘍形成を克服する個別技術や作製効率向上の技術開発、iPS 細胞を用いた分化実験の結果などに関する報道が多かった。宮島が本研究領域終了後に取り組み始めた iPS 細胞を用いた肝臓と膵臓の分化実験についても山中の報道と合わせて、数多く取り上げられた模様である。清野の腸内細菌叢と腸管粘膜免疫との共生に関する研究では、腸管粘膜免疫という新しい免疫調整機構が新規治療法に繋がる可能性も示唆されつつ、腸内細菌の脂肪酸代謝の解明が取り上げられた。瀬谷に関しては国民の関心が高い C 型肝炎に関する研究成果として、C 型肝炎ウイルスの肝臓における免疫回避機構の研究について取り上げられた。

本研究領域の研究成果はいずれも国際的に見て非常に高いものがあり、研究成果は世界をリードする先進技術の実現への貢献が大いに期待できるものが多かったが、現時点で臨床応用がスタートしているものは限られているため、研究レベルの割に報道が少ない。今後の臨床研究開発の動向によってはその研究結果が国民に届けられることも十分に考えられることから今後の研究の進展が期待される。

(2) その他

河岡は中国で鳥インフルエンザが流行した際に NHK おはよう日本に出演しヒトへの感染に関してインタビューを受けた。（2013 年 4 月 10 日）

瀬谷は独立行政法人医薬基盤研究所において「RNA 抗がん免疫アジュバントの開発」という題目で講演を行った。(2013年9月9日)

高井は香川大学「教育学部フェスティバル in 香大」ー未来からの留学生ーにおいて『アレルギーのしくみ・免疫のふしぎ』と題して特別講演を行った。(2009年10月11日)

笹川は2012年より日本微生物学会の理事長を務め、先端医療セミナーMonthly lecture とにおいて「腸粘膜バリアーにおける病原細菌と自然免疫の攻防」と題した講演を行った。(2013年9月6日) また南江堂より「医科細菌学」という本を出版している。(2008年)

坂口は免疫サマースクール2013in Hakata において講師として登壇し免疫学、生命科学に興味を持つ若手研究者に対して講演した。

第 3 章 各研究課題の主な研究成果および波及効果

3.1 2001 年度採択課題

3.1.1 インフルエンザウイルス感染過程の解明とその応用（河岡義裕）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究では、ウイルスと宿主との相互作用を分子レベルで解明し、ウイルスの感染過程を細胞レベルで明らかにすることを目指した。具体的には、基礎研究面では以下の 3 点を中心に据えた研究を展開した。1. ウイルス粒子形成のメカニズム解析、2. ウイルス増殖に必要な宿主細胞遺伝子の機能解析、3. 高病原性ウイルスの病原性発揮メカニズムの解明。また臨床応用では、以上の基礎研究で得られたインフルエンザウイルスのゲノムパッケージング・シグナルの知見に基づき新規ワクチンの開発を目指した。

② 期間中の研究成果

(i) インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構の解明

インフルエンザウイルスが宿主細胞内で、効率的な自己複製とウイルスの再構成を行うためには、8 種類ある RNA (ribonucleic acid) 分節が 1 セット必要であること、さらにいずれの RNA 分節においても分節特異的非翻訳領域にパッケージングシグナルが存在することが明らかになった。これは 1999 年に開発したインフルエンザの人工合成法（リバースジェネティクス法）を用いた解析による研究成果であり、これによりウイルス RNA のウイルスパッケージへの選択的取り組みのメカニズムが存在し、そのメカニズムの一端として各 RNA 分節に存在する異なるパッケージングシグナルが利用されていることが明らかになった^[2]。また、インフルエンザウイルスの出芽の様子を電子顕微鏡で観察した所、ウイルスの出芽方向と平行に 8 本の RNA-タンパク質複合体 (RNP (ribonucleic protein) 複合体) と考えられる棒状構造物が存在し (図 3-1)、棒状構造物はウイルス粒子の中心に 1 つ、その周囲に 7 つという特徴的な配置をしていることが判明した。(図 3-2) これらの研究成果により、インフルエンザウイルスの出芽には選択的かつ規則的なウイルス粒子のパッケージングメカニズムが存在することが明らかになった^[1]。

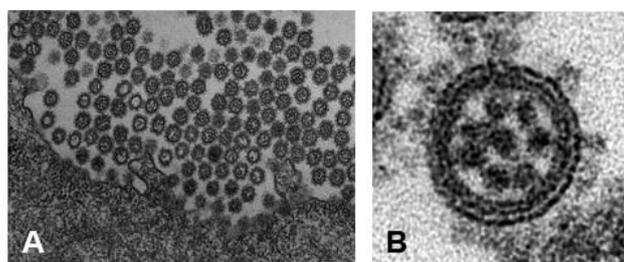


図 3-1 インフルエンザウイルスの電子顕微鏡像

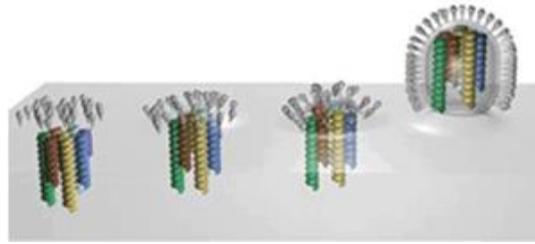


図 3-2 インフルエンザウイルス粒子出芽モデル

(ii) インフルエンザウイルス・ゲノムパッケージング・シグナルの知見に基づく新規ワクチンの開発

インフルエンザウイルスのパッケージングに関する基礎研究から得られた知見を用いて、次世代インフルエンザ弱毒性ワクチンの開発、インフルエンザウイルスを基にした多価ワクチンの開発の2つの臨床応用研究が進められた。

- ・次世代インフルエンザ弱毒性ワクチン開発混合

ワクチンの課題であるウイルス間の干渉作用によるワクチン効果の減弱の克服を目指してB型ウイルスHA (Hemagglutinin) 由来の抗原部位を含む細胞外領域をコードする配列と、A型ウイルスHA由来のN末端のシグナル領域とC末端の細胞膜貫通領域を結合させたA/BキメラHA遺伝子を有するプラスミドが作製され、B型HAを発現するA型ウイルスの作製に成功した¹¹。

- ・インフルエンザウイルスの多価生ワクチン開発

インフルエンザウイルスをベクターとしてインフルエンザとパラインフルエンザの両方に対して同時に効果を示す多価生ワクチンの開発を試み、有効な抗体価上昇をもたらす弱毒化した組み換えウイルスの作出に成功した¹²。

(iii) スペイン風邪ウイルスの病原性発現機構

1918年に世界的に大流行したスペイン風邪ウイルスの高病原性発現機構の解明を目指し、当時亡くなった患者の肺病理検査および永久凍土より回収した遺体から採取したインフルエンザウイルス遺伝子の塩基配列情報をもとにリバース・ジェネティクス法を用いてHAとNA(Neuraminidase)遺伝子がスペイン風邪由来、その他の遺伝子がヒトインフルエンザ由来の人工ウイルスが作製された。マウス及びサルを用いて感染実験の結果スペイン風邪ウイルスの病原性は通常のウイルスの病原性とは明らかに異なることが明らかになった¹³。

(iv) H5N1インフルエンザウイルスのレセプター特異性解析

高病原性鳥インフルエンザウイルスにヒトが感染するメカニズムを解析するためにヒト呼吸器におけるインフルエンザウイルスのレセプター分布をシアルオリゴ糖に特異的なレプチンを用いて解析した。その結果、ヒトの呼吸器の深部にはSA(sialic acid) α 2, 6Gal (Galactose) (ヒトウイルスのレセプター) のみならず、SA α 2, 3Gal (トリウイルスのレセプター) が存在することが明らかになった。またH5N1型ウイルスがヒト型レセプターを認識するために必要なアミノ酸変異の同定を試みたところHA分子の2アミノ酸がヒト

¹¹ 東京大学医科学研究所 河岡研究室 HP <http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/research.html>

¹² 東京大学医科学研究所 河岡研究室 HP <http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/research.html>

¹³ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/kawaoka.pdf

型レセプター認識に関与していることが明らかになった^[3]。

(v) エボラウイルスの高病原性発現機構

現在のところワクチンも抗ウイルス薬も存在しないエボラ出血熱の原因ウイルスであるエボラウイルスの感染・増殖メカニズム解析が行われた。その結果 VP40(virus particle 40) がウイルス粒子形成時にエボラウイルスタンパク質を集合させるオーガナイザーとして中心的な機能を果たしていること、また出芽様式も一般的なウイルスとは異なり細胞膜に対して水平方向に浮上するようにして出芽することが明らかになった¹⁴。さらに、エボラウイルス感染時の抗体依存性感染増強現象に補体成分 Cq1(Complement q1) が関与していることや抗原提示細胞への初期感染に C-type ワクチン (hMGL(human Macrophage galactose-type C-type lectin/CD301)) が関与していること、ユビキタスに存在する Tyro3 ファミリー分子も感染に関与していること、などエボラウイルスの高病原性の発現に関わる分子の同定が進められた。感染モデルマウスを用いた解析により NP (Nuclear Protein) や SV24 が高病原性と増殖能の獲得に関与していることが明らかになり *in vivo*での病原性発現機構解析が進められた。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト 3 報以内

- [1] Fujii, Y ; Goto, H ; Watanabe, T ; Yoshida, T ; Kawaoka, T "Selective incorporation of influenza virus RNA segments into virions" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2003 Feb 18; 100(4): 2002-2007.
- [2] Neumann, G Fujii, K Kino, Y Kawaoka, Y "An improved reverse genetics system for influenza A virus generation and its implications for vaccine production" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2005 Nov 15; 102(46): 16825-16829.
- [3] Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. Science. (2001) Sep 7;293(5536):1840-2.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から終了後において、科学研究費補助金基盤研究 (B) 「リバーズ・ジェネティクス法によるインフルエンザ生ワクチンの開発」(2001~2002 年度)、科学研究費補助金 特定研究領域「インフルエンザウイルス：ゲノムパッケージングのメカニズム」(2002~2005 年度) によりインフルエンザウイルスの感染制御メカニズムの解析が進められ、本研究領域終了後に取り組んだ、科学研究費補助金 特別推進事業「新型インフルエンザウイルスの出現機構とその制圧」(2006~2010 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (A) 「新型インフルエンザウイルスの出現機構とその制圧」(2006~2007 年度) では、本研究領域期間中に発生した鳥インフルエンザパンデミックに対してその出現機構と感染メカニズム解析が進められた。その他、武田科学振興財団「新型インフルエンザウイルスの制圧に関する研究」(2007 年度) を経て、戦略的創造研究推進事業 (ERATO 型研究) ライフイノベーション「河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト」(2009~2014 年度) においてインフルエンザウイルス感染における宿主細胞応答のネットワークを明らかにすることを目的とした研究が進んでいる。これらの一連の研究を通してウイルス感染症の新たな概念の確立と新規治療法の開発が進められている。

¹⁴研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/kawaoka.pdf

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後も本研究領域で得られた知見をもとに、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザによるパンデミックに備えるべく、H5N1 インフルエンザの化学的性状の解析が進められた。また 2009 年に新型インフルエンザ (H1N1 型) のパンデミックが発生したことから、新型インフルエンザの性状解析やパンデミックウイルスの抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの出現頻度、出現メカニズム等が検討された^[1]。

さらに、インフルエンザウイルスの粒子形成について解析を行い、ゲノム-ウイルス蛋白質複合体の立体構造が明らかになり、8 本のゲノムの粒子への取込機構の一端が解明された。これらの成果は、次のパンデミック予測、感染拡大阻止、薬剤開発などに有用である。2013 年 3 月に中国で発生した H7N9 型鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が報告された際もウイルス性状解析を行うなど、研究の国際展開が進められている^[2]。

基礎研究としてのインフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構の解明は、新規インフルエンザワクチンならびにワクチンベクターの開発につながる研究であり、現在、実験動物レベルで効果の高いインフルエンザワクチンの作製にも成功している¹⁵。また、抗インフルエンザ薬耐性ウイルスに関する研究においては、耐性機構の解明にとどまらず、耐性とヒトでの増殖・伝播との関連を解明することにより公衆衛生学的な貢献を果たす事を目指している^[3]。

② 社会・経済的波及効果

本研究領域終了後、研究領域において確立した弱毒性ワクチン開発技術、多価ワクチン開発技術などの基礎研究成果を応用したウイルスワクチン作製のための研究が進められた。その主な成果として非増殖型ウイルスを基盤としたワクチン開発や二価ワクチン開発が挙げられる^[4]。

H5N1 鳥インフルエンザがヒトからヒトへ伝播する能力を獲得しパンデミックを起こしうるウイルスに変化した場合を想定し鳥インフルエンザ感染者の治療方法の確立に向けて、H5N1 インフルエンザウイルスの性状解析が行われた¹⁶。この成果は新聞報道でも全国紙で多数取り上げられ、論文はテロへの悪用を恐れた米国国家科学諮問委員会により一部削除が求められるなど注目を集めた。また、鳥インフルエンザに関する研究成果を中心に 2013 年の一年間で 60 件以上の報道があり、インフルエンザウイルスに関する研究だけでなく、エボラウイルスの高病原性獲得機構や増殖メカニズムに関する研究も行われた。このことはこれまで適切な治療法が存在しないエボラ出血熱治療の可能性を拓くものである。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト (4 報以内)

- [1] Itoh Y, Shinya K, Kiso M, Watanabe T, Sakoda Y, Hatta M, Muramoto Y, Tamura D, Sakai-Tagawa Y, Noda T, Sakabe S, Imai M, Hatta Y, Watanabe S, Li C, Yamada S, Fujii K, Murakami S, Imai H, Kakugawa S, Ito M, Takano R, Iwatsuki-Horimoto K, Shimojima M, Horimoto T, Goto H, Takahashi K, Makino A, Ishigaki H, Nakayama M, Okamatsu M, Takahashi K, Warshauer D, Shult PA, Saito R, Suzuki H, Furuta Y, Yamashita M, Mitamura K, Nakano K, Nakamura M, Brockman-Schneider R, Mitamura H, Yamazaki M, Sugaya N, Suresh M, Ozawa M, Neumann G, Gern J, Kida H, Ogasawara K, Kawaoka Y. "In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses." Nature (2009)Aug

¹⁵ 東京大学医科学研究所 河岡研究室 HP <http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/research.html>

¹⁶ 東京大学医科学研究所 河岡研究室 HP <http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/research.html>

20;460(7258):1021-5

- [2] Watanabe T, Kiso M, Fukuyama S, Nakajima N, Imai M, Yamada S, Murakami S, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Sakoda Y, Takashita E, McBride R, Noda T, Hatta M, Imai H, Zhao D, Kishida N, Shirakura M, de Vries RP, Shichinohe S, Okamatsu M, Tamura T, Tomita Y, Fujimoto N, Goto K, Katsura H, Kawakami E, Ishikawa I, Watanabe S, Ito M, Sakai-Tagawa Y, Sugita Y, Uraki R, Yamaji R, Einfeld AJ, Zhong G, Fan S, Ping J, Maher EA, Hanson A, Uchida Y, Saito T, Ozawa M, Neumann G, Kida H, Odagiri T, Paulson JC, Hasegawa H, Tashiro M, Kawaoka Y." Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans." *Nature*. 2013 Sep 26;501(7468):551-5.
- [3] Hao L, Sakurai A, Watanabe T, Sorensen E, Nidom CA, Newton MA, Ahlquist P, Kawaoka Y." *Drosophila* RNAi screen identifies host genes important for influenza virus replication." *Nature*. 2008 Aug 14;454(7206):890-3.
- [4] Uraki R, Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Fukuyama S, Takashita E, Ozawa M, Kawaoka Y." A novel bivalent vaccine based on a PB2-knockout influenza virus protects mice from pandemic H1N1 and highly pathogenic H5N1 virus challenges." *JOURNAL OF VIROLOGY* 2013 Jul;87(14):7874-81.

④ その他

河岡は2006年、新種のインフルエンザウイルスに対する不活化ワクチンを、迅速かつ効率的に製造するのに効果的な reverse-genetics system を世界で初めて開発し、その業績により Robert Koch 賞を受賞した。2010年「インフルエンザウイルスの人工合成法を用いた基礎ならびに応用研究」が評価され日本農学賞を受賞した。2013年には米国科学アカデミーの外国会員に選出された。

3.1.2 自然免疫とヒト難治性免疫疾患（瀬谷司）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究では①自然免疫の分子機構の解明②自然免疫を獲得免疫と共に一つの生体防御機構として捉え、ヒトの病態解明と治療にフィードバックすることを目指した。具体的には、基礎研究面では、がん、ウイルス疾患、アレルギー反応などを微生物成分と免疫細胞のレセプター応答の面から捉え、病態解明へ貢献することを狙いとした。臨床面では、抗がんペプチドワクチン療法において抗がん活性を高める作用を持つとされるアジュバントの作用機序を解明し、臨床応用を目指した研究を展開した。

② 期間中の研究成果

(i) ヒト TLR の局在と分布

本研究領域開始時点においてフローサイトメーターによる解析や免疫沈降が可能なヒト TLR (Toll like receptor) に対する抗体は存在しなかった。(図 3-3) そこでヒト TLR1、TLR2、TLR3、TLR6 に対するモノクローナル抗体を作製し、これら抗体を用いて TLR の局在を検討した。ヒト樹状細胞では TLR2 family (TLR1、2、6)、TLR4 は細胞表面に局在し、TLR3 は細胞内オルガネラに局在することが明らかになった^[1]。一方、plasmacytoid (pDC) は TLR7、8 を細胞内オルガネラに発現することが別のグループから報告された。以上から、TLR2、3 の免疫増強 (アジュバント) 作用を解析した。

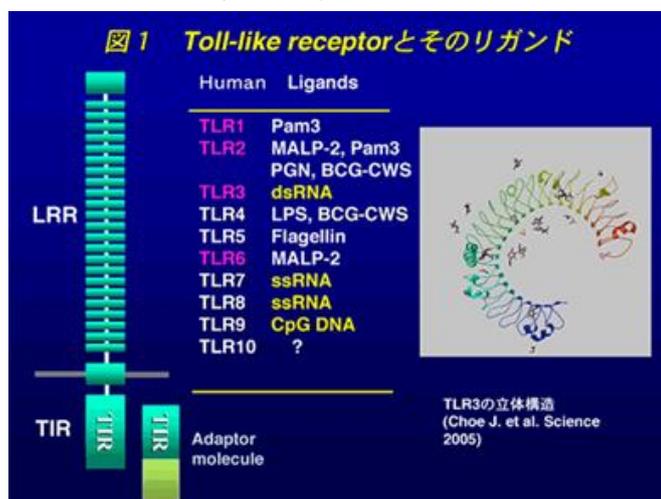


図 3-3 TLR の各サブファミリーとそのリガンド¹⁷

(ii) IFN を誘導する TLR シグナル

TLR3 は dsRNA (double strand RNA) の受容体として機能し、樹状細胞活性化をさせることで IFN (interferon) を誘導することや TLR3 を介したシグナル伝達系では MyD (myeloid differentiation primary response) 88 とは異なるアダプター分子が関与することが知られていた。TLR2/4 は MyD88 の関与するシグナル伝達系を介して樹状細胞を活性化するが、TLR3 による樹状細胞活性化に関与するシグナル伝達系の詳細は不明であった。そこで

¹⁷ 北海道大学大学院医学研究科免疫学分野 瀬谷研究室 <http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~e20536/>

Yeast-Two-Hybrid 法により TLR3 が TICAM(Toll-interleukin 1 receptor domain (TIR)-containing adaptor molecule)-1 と結合すること、TLR4 が TICAM-2 と結合することを明らかにした。TLR3 が TICAM-1 を、TLR4 が TICAM-2/TICAM-1 複合アダプターを介したシグナル伝達経路により樹状細胞を活性化することを証明した^[2]。これにより TLR3 は TICAM-1 を、TLR4 は MyD88 と別に TICAM-1 と TICAM-2 の両者を介したシグナル伝達経路を通じて IFN を誘導することが示された^[3]。

(iii) 各種アジュバントによる樹状細胞の成熟化の多様性

Poly I :C(二重鎖 RNA)は TLR3 と細胞質内 RNA センサー RIG-I/MDA5 のアゴニストである。TLR3 は TICAM を介したシグナル伝達経路で、RIG-I/MDA5 は IPS-1 (MAVS) を介したシグナルで type I IFN を誘導することが後に報告された。BCG-PGN (Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guerin) の細胞骨格成分の Peptidoglycan (ペプチドグリカン) や細菌のリポペプチドは TLR2/4 のアゴニストであり、MyD88 を介したシグナル伝達経路によって樹状細胞を活性化することが明らかになった¹⁸。各種アダプター遺伝子欠損マウス (MyD88^{-/-}、TICAM-1^{-/-}、IPS-1^{-/-})、IFN- β ノックアウトマウス、IFNAR(interferon-alpha receptor) ノックアウトマウスを用いた *in vivo* 腫瘍移植実験系を構築した。この実験系を用いてアジュバント投与によるマウス個体の樹状細胞の活性化状態の変化を解析した。その結果、BCG-CWS (Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guerin の cell wall skeleton) は担がんマウス (野生型) にがん特異的 CTL (cytotoxic T lymphocyte: 細胞傷害性 T 細胞) を誘導する一方で、担がんマウス (MyD88 ノックアウトマウス) では BCG-CWS によるがん特異的 CTL が誘導されないことが明らかとなり、樹状細胞の MyD88 ががん特異的 CTL を誘導することが示された。また担がんマウス (TICAM-1 ノックアウトマウス) を用いた同様の実験により樹状細胞の TICAM-1 が NK 細胞、CTL の活性化に関与することも明らかになった¹⁹。

(iv) TLR 系の分子進化と動物モデルの開発

TLR の動物種間の保存性について、ゲノム配列の解読が完了している動物の分子進化を遡って調査したところ、ヒト型の TLR、および TLR のアゴニストはサカナ (フグ、ニジマス、メダカ) と無顎類まで遡って保存されていることが明らかになった²⁰。サカナはヒトと類似の自然免疫を持つ可能性があることが明らかになり、サカナがマウス以外の動物モデルとして成立するか否かが次の課題となった。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Matsumoto M, Kikkawa S, Kohase M, Miyake K, Seya T. "Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signaling" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS 2002 May 24;293(5):1364-9.

¹⁸研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/seya.pdf

¹⁹ Akazawa T, Ebihara T, Okuno M, Okuda Y, Shingai M, Tsujimura K, Takahashi T, Ikawa M, Okabe M, Inoue N, Okamoto-Tanaka M, Ishizaki H, Miyoshi J, Matsumoto M, Seya T. "Antitumor NK activation induced by the Toll-like receptor 3-TICAM-1 (TRIF) pathway in myeloid dendritic cells" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2007 Jan 2;104(1):252-7.

²⁰研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/seya.pdf

- [2] Oshiumi H, Matsumoto M, Funami K, Akazawa T, Seya T. "TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3-mediated interferon-beta induction" NATURE IMMUNOLOGY 2003 Feb;4(2):161-7.
- [3] Sasai M, Shingai M, Funami K, Yoneyama M, Fujita T, Matsumoto M, Seya T. "NAK-associated protein 1 participates in both the TLR3 and the cytoplasmic pathways in type I IFN induction." J Immunol. (2006)

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から、科学研究費補助金基盤研究 (B)「麻疹ウイルスによる I 型インターフェロン誘導の分子機構:TLR シグナリングの関与」(2003～2005 年度)、科学研究費補助金特定研究領域「ヒト抗原提示細胞の宿主レセプターと微生物成分特異的応答性」(2004～2005 年度) 等を経て、科学研究費補助金特定研究領域「ウイルス感染の RNA 応答」(2007～2008 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (A)「樹状細胞のウイルスパターン認識分子による細胞性免疫活性化機構」(2007～2009 年度)、科学研究費補助金特定研究領域「トール受容体の発がん制御機構の解析」(2008～2009 年度)、厚生労働科学研究費補助金「エフェクター選別性の抗がん免疫アジュバントの開発」(2008～2010 年度)、科学研究費補助金特別研究員奨励費「C 型肝炎ウイルスの自然免疫応答と肝がん発生の機構に関する研究」(2009～2010 年度)、科学研究費補助金特別領域研究「ウイルス感染樹状細胞のエフェクター誘導の多指向性」(2009～2010)、武田科学振興財団生命科学研究助成「インターフェロン誘導経路による免疫応答修飾の分子基盤」(2011 年) など、アジュバントによる樹状細胞活性化の基礎研究と応用研究が進められた。現在は、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究(研究領域提案型)、「感染・炎症が加速する発がんスパイラルとその遮断に向けた制がんベクトル変換」の研究領域「感染発がんを変調する宿主炎症応答機構」の発がんスパイラルにおける免疫担当細胞の関与を明らかにする研究が展開されている。発がんと抗がん免疫応答の分子機構の解明と、併せて、樹状細胞が誘起する抗がん免疫エフェクター誘導機構に関する研究が進行中である。

① 科学技術の進歩への貢献

これまで、がん免疫療法は分子論的基盤が明らかでない状態で行われてきた。そのために、がん免疫療法が有効でない患者が存在し、当治療法が有効な患者とそうでない患者を選別して治療することが強く望まれていた。このような状況の下、樹状細胞活性化の多様性の分子基盤を明らかにするために本研究領域における研究課題「自然免疫とヒト難治性免疫疾患」が進められてきた。その結果、樹上細胞 TLR から細胞性免疫のエフェクター細胞である NK(natural killer)細胞や CTL(cytotoxic T lymphocyte:細胞傷害性 T 細胞)が活性化されることが明らかとなり^[1]、かつ TLR がこの過程に深く関与していることが判明した。しかし、真に有効ながん・感染症の免疫療法や樹状細胞療法の実現のためには樹状細胞活性化の多様性の分子基盤のさらなる解明が必要であり、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究(研究領域提案型「感染・炎症が加速する発がんスパイラルとその遮断に向けた制がんベクトル変換」(2010 年～2015 年度)において、Poly I :C 投与による TLR3/TICAM-1 経路の活性化と腫瘍内マクロファージの抗がん活性化誘導機構の解明のための研究^[2]が進行中で、腫瘍内マクロファージの活性化という新たな免疫アジュバント療法の可能性が検討されている²¹。

²¹ 文部科学省科学研究費補助金ホームページ <http://www.microbiol.m.u-tokyo.ac.jp/spiral/>

② 社会・経済的波及効果

ヒトの自然発生がんに対するアジュバント免疫療法の確立を目指して研究が行われた。本研究領域期間中の主要な成果としては以下の4点が挙げられる。

(i) ワクチンアジュバントとして副作用が少なく、簡便に投与できる免疫活性化因子の開発²²。

(ii) アジュバントとして抗体生産、CTL 誘導、NK 細胞活性化の選択的誘導が可能な合成物の C 開発。

(iii) がん、ウイルス感染などの疾患に適用できる低毒性の TLR stimulator の開発^{[3][4]}。

(iv) がん免疫療法として臨床応用されている BCG-CWS の問題点である NK 細胞を活性化しない点を補完した核酸組成のアジュバント開発。

(ii) に関してはインターフェロン産生を促す物質を特定したとして、新聞報道があった。

(iv) の研究成果に関しては、2013 年 9 月に独立行政法人医薬基盤研究所において「RNA 抗がん免疫アジュバントの開発」という題名で講演が行われた。

本研究領域終了後に行われた、厚生労働科学研究費補助金「エフェクター選別性の抗がん免疫アジュバントの開発」(2008～2010 年度)において、樹状細胞を介した poly:I:C による NK 細胞の活性化メカニズムが明らかにされ、樹状細胞療法の基盤確立に関して成果が得られた。アジュバントによる樹状細胞活性化のメカニズムと樹状細胞によるエフェクター細胞の誘導メカニズムの全容が明らかになったわけではないが、この知見を基に基礎研究と臨床応用が進み、がん免疫療法を受ける患者の QOL の飛躍的向上につながる真に有効な治療法の確立に向けた研究が進められている。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト (4 報以内)

- [1] Ebihara T, Azuma M, Oshiumi H, Kasamatsu J, Iwabuchi K, Matsumoto K, Saito H, Taniguchi T, Matsumoto M, Seya T. "Identification of a polyI:C-inducible membrane protein that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE 2010 Nov 22;207(12):2675-87.
- [2] Azuma, M ; Ebihara, T ; Oshiumi, H ; Matsumoto, M ; Seya, T " Cross-priming for antitumor CTL induced by soluble Ag plus polyI:C depends on the TICAM-1 pathway in mouse CD11c(+)/CD8 alpha(+) dendritic cells" ONCOIMMUNOLOGY. 2012 August 1; 1(5): 581-592.
- [3] Oshiumi H, Miyashita M, Inoue N, Okabe M, Matsumoto M, Seya T. "The Ubiquitin Ligase Riplet Is Essential for RIG-I-Dependent Innate Immune Responses to RNA Virus Infection" CELL HOST & MICROBE 2010 Dec 16;8(6):496-509.
- [4] Shime, H ; Matsumoto, M ; Oshiumi, H ; Tanaka, S ; Nakane, A ; Iwakura, Y ; Tahara, H ; Inoue, N ; Seya, T "Toll-like receptor 3 signaling converts tumor-supporting myeloid cells to tumoricidal effectors" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2011 Aug 11;109:2066-2071

④ その他

瀬谷はがんの自然免疫療法に関する基礎研究成果が評価され 2009 年度に日本医師会医学研究助成費、2013 年度に北海道科学技術賞を受けた。

²² 北海道大学産学連携本部

http://www.mcip.hokudai.ac.jp/cms/cgi-bin/index.pl?page=contents&view_category_lang=1&view_category=1275

3.1.3 IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服（高井 俊行）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究では、過去のCREST研究領域「Fc受容体を介する生体防御システムの解析」（1995～2000年度）において高井チームが発見したPIR-B(Paired Immunoglobulin Like Receptor-B)と呼ばれるIg-like Receptor(イムノグロブリン様受容体)の機能解析を目指した。具体的には、IgL(immunoglobulin-like receptor)やそのシグナル伝達を担う分子群によるアレルギー、自己免疫の制御機構、がん免疫の制御機構、さらには神経系の発達制御機構を総合的に解析することで「PIR-Bを中心としたIgL群の基礎研究」が進められ、細胞移入療法の*in vivo*評価系の構築、モデル動物の作製とモデル動物由来の不死化培養細胞の作製に基づく*in vitro*薬効評価系の開発を通じて「免疫難病を克服するための新規治療法の開発」を目指した。

② 期間中の研究成果

(i) PIRのリガンドの同定とGVHD(graft versus host disease: 移植片対宿主病)における機能の解析

樹状細胞のPIRが約 10^{-6} Mの親和性でT細胞のMHC-I(major histocompatibility complex class I)を認識すること、またこの結合には β_2 ミクログロブリン鎖とMHC-I α 鎖の双方が関与し、この結合によりPIRの細胞内モチーフがチロシンリン酸化されることが明らかになった²³。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への脾臓細胞の移入と比較し、重症化することが分かった。これはPIR-B欠損マウスのGVHDではドナー細胞上のMHC-Iを認識する抑制性PIR-Bが存在せず、活性化型であるPIR-Aによる認識のみとなり、レシピエント側の樹状細胞の活性化の亢進と移植ドナーのT細胞の活性化の亢進が誘導されるからであると推察された。(図3-4)

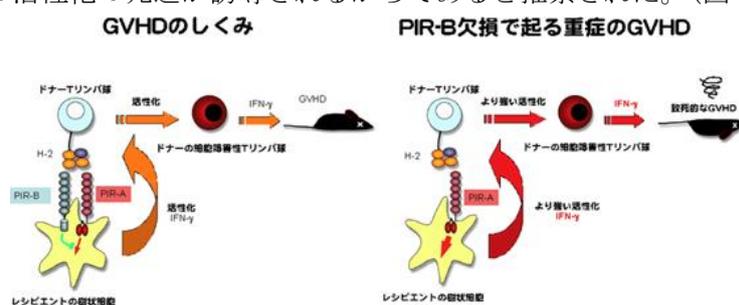


図 3-4 抑制性受容体 PIR-B による GVHD 回避メカニズム²⁴

(ii) PIR-Bによるアレルギーの制御

抑制性のPIRであるPIR-Bの欠損により免疫応答がTh2型にシフトすること、マスト細胞の感受性が増大するためにアナフィラキシーショックが強く誘導されることが見出された[1]。

²³ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/takai.pdf

²⁴ JST ニュース <http://www.jst.go.jp/pr/jst-news/backnumber/2013.html>

(iii) PIR のリガンド結合部位の同定と立体構造の解析

PIR-B の細胞外ドメインと MHC-I が結合した状態で Cryo-Electron Tomography により立体構造を解析したところ、PIR-B のリガンド結合を担うドメインが N 末端の 2 つのドメインに限局することが示された。また水溶液中では PIR-B の細胞外の 6 つのドメインが極めてフレキシブルに運動していることが明らかになった²⁵。

(iv) gp49B による新たな T 細胞制御機構の発見

T 細胞と樹状細胞の相互作用において樹状細胞上の gp49B が T 細胞上のインテグリン、あるいは未知のリガンドを認識することで抗原提示効率を調節しており、この制御の欠損により GVHD の重症化につながるということが明らかになった²⁶。

(v) 破骨細胞分化制御と活性化型 IgLR 群の機能

FcR γ (Fc receptor common gamma subunit)、DAP12 (DNAX activation protein of 12 kDa) の欠損マウスを用いた検討で、これまで RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) と M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) さえあれば分化が進行すると考えられていた破骨細胞において IgLR が分化促進に不可欠の役割を演じていることが明らかとなった^[2]。

(vi) 不死化培養細胞の作成による薬効評価系の構築

SV40LT (Simian Virus 40 large antigen) のトランスジェニックマウスにおいて、単離された構成細胞 (樹状細胞、NK (natural killer) 細胞、肥満細胞) は試験管内で容易に不死化させることができ、本来の細胞機能も保持してされていることが判明した。さらに SV40LT トランスジェニックマウスと各種遺伝子欠損マウスを交配して得られた交配種を利用し、特定の遺伝子が欠損し、本来の細胞機能を保持した免疫系細胞の株化に成功した^[3]。これらの細胞は将来的に免疫難病に対抗する新規薬剤の薬効評価系として利用されることが期待される。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Ujike A, Takeda K, Nakamura A, Ebihara S, Akiyama K, Takai T. "Impaired dendritic cell maturation and increased T(H)2 responses in PIR-B^{-/-} mice" NATURE IMMUNOLOGY 2002 Jun;3(6):542-8.
- [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. "Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis" NATURE 2004 Apr 15;428(6984):758-63.
- [3] Iizuka S, Kaifu T, Nakamura A, Obinata M, Takai T. "Establishment and functional characterization of novel natural killer cell lines derived from a temperature-sensitive SV40 large T antigen transgenic mouse" JOURNAL OF BIOCHEMISTRY 2006 Aug;140(2):255-65.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から科学研究費補助金基盤研究 (A) 「イムノグロブリン様受容体による免疫制御機構の研究」 (2002~2004 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (A) 「Fc レセプター

²⁵研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/takai.pdf

²⁶研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/takai.pdf

をターゲットにした免疫疾患の克服に関する研究」(2005～2007年度)が進行し、本研究領域終了後は科学研究費補助金 特定研究領域「免疫抑制受容体 PIR-B による自己応答性の制御」(2008～2010年度)、科学研究費補助金基盤研究 (A)「免疫抑制受容体システムの動作原理の解明」(2008～2010年度)、科学研究費補助金基盤研究 (A)「PIR-B 関連マルチリガンドによる新しい免疫抑制」(2012～2014年度)で研究が進められている。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、PIR-B を介した B-1 細胞の自己免疫抗体産生制御機構が検討された。B1 細胞に発現する PIR-B が欠損することによって TLR9 (toll-like receptor 9) の下流の NF- κ B (nuclear factor kappa B) のリン酸化が亢進していること^[1]、この時 B-1 細胞からの IgM タイプの RF (Rheumatoid factor: リウマチ因子で抗 IgG Fc の自己抗体) の産生が増大することが明らかになった。また、PIR-B の新規リガンドとして MHC クラス I 分子よりも強い親和性で結合する Nogo が同定された^[2]。その後、これらの知見を基盤にして、B-1 細胞、B-2 細胞、樹状細胞等における PIR-B 細胞の制御様式および動態、抗体産生制御、および新規リガンドの探索と作用機序が解明された^[3]。また、自己免疫疾患は PIR-B をはじめとする抑制性受容体からの抑制刺激が低下することで自己抗体が異常産生されて病態が進行し、免疫グロブリン製剤は抑制性受容体に作用し低下している抑制刺激を増強(正常化)することにより自己抗体産生を抑え病態を改善する、といった仮説の基に制御性受容体 PIR-B の臨床における利用に繋げることが計画されている。

② 社会・経済的波及効果

PIR-B を標的に移植片対宿主病 (GVHD) の緩和、予防を図る「移植片対宿主病モデル動物」、並びに培養免疫系細胞の簡便な不死化方法の「不死化マスト細胞」、「不死化ナチュラルキラー細胞株」、「骨髄由来の不死化樹状細胞株」等の特許が登録された²⁷。これらのモデル動物は市販され、本研究領域における研究基盤の拡充に貢献した。高井は 2009 年 10 月に社会貢献活動の一環として、第 1 回加齢医学研究所市民公開講座を主宰した。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト (4 報以内)

- [1] Kubo T, Uchida Y, Watanabe Y, Abe M, Nakamura A, Ono M, Akira S, Takai T." Augmented TLR9-induced Btk activation in PIR-B-deficient B-1 cells provokes excessive autoantibody production and autoimmunity." J Exp Med. 2009 Aug 31;206(9):1971-82.
- [2] Matsushita H, Endo S, Kobayashi E, Sakamoto Y, Kobayashi K, Kitaguchi K, Kuroki K, Söderhäll A, Maenaka K, Nakamura A, Strittmatter SM, Takai T." Differential but competitive binding of Nogo protein and class I major histocompatibility complex (MHC I) to the PIR-B ectodomain provides an inhibition of cells." J Biol Chem. 2011 Jul 22;286(29):25739-47.
- [3] Mitsunashi Y, Nakamura A, Endo S, Takeda K, Yabe-Wada T, Nukiwa T, Takai T." Regulation of plasmacytoid dendritic cell responses by PIR-B." Blood. 2012 Oct 18;120(16):3256-9.

④ その他

高井は 2004 年に「イムノグロブリン様レセプターによる免疫制御機構と免疫疾患に関する研究」で免疫学会賞を 2012 年に「免疫制御 Fc 受容体の研究成果」により文部科学大臣表彰科学技術賞(研究部門)を受賞した。

²⁷ 本報告書第 2 章 2-2-3 特許情報

3.1.4 IL-18 を標的とした自然型アトピー症の治療戦略（中西憲司）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究は、アレルギー疾患に対する複数病因論という新たな概念の構築と、それに基づく診断方法の確立、並びに個々の病因に基づいた治療方法を確立することを目指した。具体的には、アレルゲン特異的な Th2 細胞誘導と IgE 産生誘導のどちらも伴わない様な Th2/IgE 非依存性アレルギー性炎症の存在を実験的に証明することを目指し、気管支喘息とアトピー性皮膚炎発症時における IL-18 の産生、IL-18 の役割、疾病の誘導機序の解析、IL-18 を標的としたアレルギー性炎症の制御機構の解明を目指した。

② 期間中の研究成果

(i) Th2/IgE 非依存性のアレルギー炎症の存在

Th2/IgE 非依存性のアレルギー疾患は「自然型」と「感染増悪型」に分類されることが明らかになった。

「自然型」はケラチノサイトから過剰に IL-18 を分泌するように遺伝子操作されたマウスにおいて観察される慢性の掻痒性を特徴とするアトピー性皮膚炎である。アレルギー応答を担う Th2 を抑制しても皮膚炎は改善しないが、IL-18 を除去すると皮膚炎が収まったことから、IL-18 を主要因とする新しいタイプのアレルギー炎症であることが明らかになった²⁸。

「感染増悪型」は病原菌の感染を契機にアレルギーが誘導される、あるいは増悪される場合である。病原体抗原特異的 Th1 細胞を有する動物に病原体が感染すると、病原体成分の作用で上皮細胞から IL-18 が産生され、この IL-18 が Th1 細胞に作用しては IFN- γ と IL-13 などの産生を誘導する（この様に IL-18 の作用を受けて IFN- γ と IL-13 を産生する様になった Th1 細胞を super Th1 細胞と呼ぶ）ことが原因でおこる。感染部位が気道だと「感染増悪型」の気管支喘息が、感染部位が皮膚だと感染増悪型のアトピー性皮膚炎が起こる¹⁷。

(ii) 気管支喘息における IL-18 の役割

Mycoplasma pneumoniae の膜成分である MALP-2 (*Mycoplasma lipopeptide macrophage-activating lipopeptide-2*) あるいは LPS によってマクロファージ、樹状細胞、気道上皮細胞が刺激されると IL-18 の産生が誘導される。感染で Th2/IgE 非依存性な気管支喘息が起こることから、病原体成分で誘導された IL-18 が原因であることと推測された。そこで、IL-18 の投与による自然型気管支喘息モデルを作製した結果、IL-2、IL-18 の同時投与により気道過敏性、ムチン産生、好酸球浸潤が誘導されるマウス動物モデルが確立された。また、*in vitro* で抗原特異的な Th1 細胞を抗原+IL-18 で刺激すると Th1 サイトカインのみならずアレルギー性応答をになうエフェクター分子である IL-13 や種々のケモカインが大量に産生されることから、Th1 細胞が *in vivo* でも Th2/IgE 非依存性な気管支喘息が誘導さ

¹⁷ Hayashi, N ; Yoshimoto, T ; Izuhara, K ; Matsui, K ; Tanaka, T ; Nakanishi, K “T helper 1 cells stimulated with ovalbumin and IL-18 induce airway hyperresponsiveness and lung fibrosis by IFN-gamma and IL-13 production” PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2007 Sep 11;104(37):14765-70.

れるか検討した。その結果抗原特異的 Th1 を有するマウスに抗原+IL-18 を点鼻投与すると、抗原の点鼻投与だけでは誘導されない気管支喘息様症状が誘導された。次に、抗原特異的 Th1 細胞を有するマウスに抗原+LPS を点鼻投与したところ、気管支喘息が誘導されることが明らかとなり、さらにこの様な処置を受けたマウスに高力価の抗 IL-18 中和抗体を投与すると、この気管支喘息様症状は完全に阻止されたことから、感染増悪型気管支喘息は内因性の IL-18 により制御されており、IL-18 を標的とした治療の可能性が強く示唆された²⁹。

(iii) アトピー性皮膚炎における IL-18 の役割

黄色ブドウ球菌由来の Protein A (細胞壁の構成タンパク質の一つ) の塗布によりケラチノサイトが刺激され IL-18 が誘導されることが明らかになった^[1]。表皮細胞から恒常的に大量の IL-18 が分泌されるように遺伝子改変されたマウス (KCASP1Tg(transgenic) mouse) は自然にアトピー性皮膚炎を呈することから、自然型アトピー性皮膚炎のモデル動物となる (図 3-5)。また、黄色ブドウ球菌の protein A 塗布により表皮細胞から IL-18 が分泌され、表皮に存在する樹状細胞から IL-12 が分泌され、両者が共同して働くことによりナイーブ CD4+T 細胞が抗原特異的な Super Th1 細胞に分化することが明らかになった^[2]。その結果、アトピー性皮膚炎においては Super Th1 細胞が皮膚局所に集まることによりサイトカイン (IFN- γ 、IL-3、IL-13) が産生され炎症が引き起こされるという説が提唱された。以上の知見により、アトピー性皮膚炎の中には局所の微生物感染により誘導される IL-18 が Super Th1 細胞を誘導、活性化することによって発症するタイプが存在することが示された。

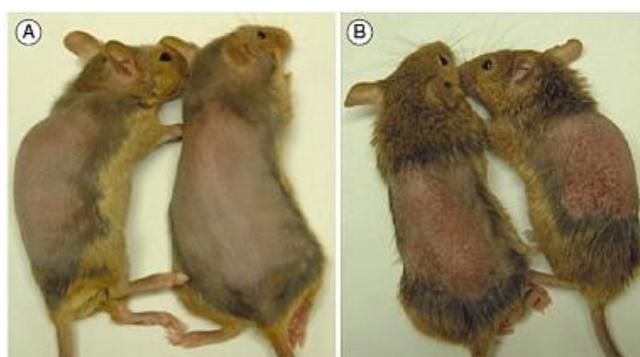


図 3-5 中西らが確立した IL-18 で誘導されるアトピー性皮膚炎マウス³⁰

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Terada M, Tsutsui H, Imai Y, Yasuda K, Mizutani H, Yamanishi K, Kubo M, Matsui K, Sano H, Nakanishi K. "Contribution of IL-18 to atopic-dermatitis-like skin inflammation induced by Staphylococcus aureus product in mice" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2006 Jun 6;103(23):8816-21.
- [2] Ishikawa Y, Yoshimoto T, Nakanishi K. "Contribution of IL-18-induced innate T cell activation to airway inflammation with mucus hypersecretion and airway hyperresponsiveness" INTERNATIONAL IMMUNOLOGY 2006 Jun;18(6):847-55.

²⁹ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/nakanishi.pdf

³⁰ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/nakanishi.pdf

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から科学研究費補助金基盤研究 (B) 「IL-18 で誘導される MyD88 非依存性、IL-4 依存性 IgE 産生誘導機構の解明」(2001～2003)、年度研究費補助金 特定研究領域 「パターン認識受容体を介して誘導される IL-18 依存性アトピー性皮膚炎の病態解析」(2002～2005 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (B) 「LPS で誘導される好塩基球依存性多クローン性 IgE 産生誘導機構の解析」(2005～2007 年度) の競争的研究資金を得て、IL-18 依存性アレルギー症発症メカニズム解析の基礎的研究が進められた。本研究領域終了後は科学研究費補助金 特定研究領域 「寄生虫感染と宿主応答」(2006～2010 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (B) 「好塩基球による Th2 誘導機構とアレルギー慢性化の解析」(2008～2010 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (A) 「顆粒白血球の寄生虫感染宿主応答に及ぼす影響の解明」(2011～2013 年度) を通じて IL-18 に関わる最先端の研究が進められた。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、アレルギー疾患に対する好塩基球の関与について研究が進められた。好塩基球は末梢白血球中 1%以下しか存在しない細胞であるが、IL-18、IL-33 受容体を発現しており、これらのサイトカインで刺激された好塩基球は IL-4、IL-13 を産生する^[1]。また、好塩基球は抗原提示細胞として機能し、Th1 細胞を Th2 細胞の分化誘導を促すことが明らかになり、これまで生理機能の解明が進んでいなかったアレルギー慢性化に関する好塩基球の関与が解明された^[2]。

本研究領域において抗 IL-18 中和抗体による自然型気管支喘息、感染増悪型気管支喘息、感染増悪型アトピー性皮膚炎や気道炎症の予防、治療可能性が示されたが、その後ファージディスプレイ法によるスクリーニング方法を用いて、IL-18 のシグナル伝達を阻害する抗ヒト IL-18 抗体が取得され、IL-18 を標的とした疾患治療が進んでいる³¹。

② 社会・経済的波及効果

皮膚の黄色ブドウ球菌感染後にアトピー性皮膚炎が増悪する、あるいはインフルエンザウイルス感染後に気管支喘息が増悪することは臨床では認識されていたが、その原因については明らかではなかった。中西憲司らの研究成果はこの未解明領域に理解を与えるものであり、これにより治療の可能性が開かれた。また、ストレスにより SLE(systemic lupus erythematosus:全身性エリテマトーデス)や RA(Rheumatoid Arthritis:関節リウマチ)などの原因不明の自己免疫疾患や気管支喘息などのアレルギー炎症が増悪することが知られている。IL-18 はマウスを用いた実験において、ストレス応答性に血中濃度が上昇することが明らかになり、ストレスで分泌誘導された IL-18 が疾患の増悪に関与していることが想定される。IL-18 を介した免疫反応を調節することが疾患の治療につながる可能性も考えられる。

中西憲司は 2013 年、兵庫医科大学、兵庫医療大学及び北京中医薬大学の日中 3 大学間連携により、日本における最初の中医学教育・研究機関 「学校法人兵庫医科大学 中医薬孔子学院」 を設立した³²。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した論文リスト (4 報以内)

³¹ Yuki Sasaki, Tomohiro Yoshimoto, Haruhiko Maruyama, Tatsuya Tegoshi, Nobuo Ohta, Naoki Arizono, and Kenji Nakanishi "IL-18 with IL-2 protects against *Strongyloides venezuelensis* infection by activating mucosal mast cell-dependent type 2 innate immunity" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE 2005 September 5

³² 2013 年 6 月 10 日 薬事日報ニュース

- [1] Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakahira M, Imai Y, Fujimori Y, Nakanishi K.” Basophils contribute to T(H)2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4+ T cells.” Nat Immunol. 2009 Jul;10(7):706-12.
- [2] Kondo Y, Yoshimoto T, Yasuda K, Futatsugi-Yumikura S, Morimoto M, Hayashi N, Hoshino T, Fujimoto J, Nakanishi K.” Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system.” Int Immunol. 2008 Jun;20(6):791-800

④ その他

中西憲司は2012年「インターロイキン - 18(IL-18)の発見とその生体防御における役割」によって第55回 野口英世記念医学賞を受賞した。

3.1.5 病原体糖脂質認識シグナル伝達機構の解明（三宅 健介）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

成体は病原体感染時に細胞表面もしくはエンドソームおよびリソソーム中において病原体センサーによって病原菌を認識し、病原菌に対する免疫応答を決定している。本研究のねらいは病原菌センサーの中でも自然免疫に関与する TLR (Toll-like receptor)、特にグラム陰性菌の膜成分である LPS (lipopolysaccharide) を認識する TLR4/MD-2 を対象にして、LPS 認識機構を生化学的、構造的な手法を用いて解明し、LPS 応答の基礎的メカニズムの知見を得ることとした。さらに TLR4/MD-2 に対する抗体を用いた制御法の確立も目指した。

② 期間中の研究成果

(i) TLR4/MD2 による LPS 認識機構の解明

TLR4/MD-2 の免疫沈降実験によって LPS が TLR4/MD-2 のリガンドであることが明らかになり長年謎であった LPS のレセプターが明らかとなった。また LPS の結合には膜面型の CD14 が必要である事も判明した。LPS 認識は TLR4 によるリガンド結合、それに続く TLR4 2 分子が clustering する、2 段階の反応で進み、両方のプロセスに MD-2 が別々の機構で関与していることが示唆された^[1] (図 3-6)。また共同研究者の佐藤らのチームが MD-2-LPS 複合体の構造決定に成功した³³。

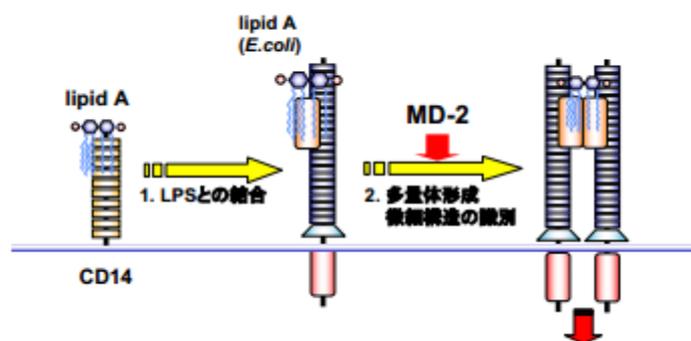


図 3-6 TLR4/M2 の多量体形成による活性化シグナル伝達³⁴

(ii) TLR4 に対する抗体を用いた、エンドトキシンショック治療法の開発

エンドトキシンショックとは微生物（グラム陰性菌）が血液中に侵入し、壊れた微生物からエンドトキシンが放出されることで免疫反応が亢進し引き起こされる全身性のショック状態を指す。エンドトキシンショック治療法の開発のために、エンドトキシンで誘発される敗血症のモデル動物を作製した。このモデル動物に TLR4/MD-2 に対するモノクローナル抗体である Sa15-21 を投与すると、LPS と D-galactosamine (ガラクトサミン) で誘導されるエンドトキシンショック（肝細胞のアポトーシス）が予防され TLR4/MD-2 に対する抗体はエンドトキシンショックを防御できることが示唆された^[2]。

³³研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/miyake.pdf

³⁴研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei13/menneki/miyake.pdf

(iii) TLR4 に会合する新規分子のクローニング

TLR4 に会合する新規分子として PRAT4A (Protein Associated with TLR4 A) が取得された^[3]。この PRAT4A の発現を抑制することにより細胞表面の TLR4/MD-2 発現量が低下し LPS 応答性も減弱した。さらに PRAT4A は TLR2、TLR4、TLR9 の発現にも必須であることが初めて明らかになった³⁵。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Kobayashi M, Saitoh S, Tanimura N, Takahashi K, Kawasaki K, Nishijima M, Fujimoto Y, Fukase K, Akashi-Takamura S, Miyake K. "Regulatory roles for MD-2 and TLR4 in ligand-induced receptor clustering" JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2006 May 15;176(10):6211-8.
- [2] Akashi-Takamura S, Furuta T, Takahashi K, Tanimura N, Kusumoto Y, Kobayashi T, Saitoh S, Adachi Y, Doi T, Miyake K. "Agonistic antibody to TLR4/MD-2 protects mice from acute lethal hepatitis induced by TNF-alpha" JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2006 Apr 1;176(7):4244-51.
- [3] Wakabayashi Y, Kobayashi M, Akashi-Takamura S, Tanimura N, Konno K, Takahashi K, Ishii T, Mizutani T, Iba H, Kouro T, Takaki S, Takatsu K, Oda Y, Ishihama Y, Saitoh S, Miyake K. "A protein associated with toll-like receptor 4 (PRAT4A) regulates cell surface expression of TLR4" JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2006 Aug 1;177(3):1772-9.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から、科学研究費補助金基盤研究 (B) 「To11 レセプター複合体による細菌リポ多糖 (LPS) 認識機構の解明」(2000～2002 年度)、科学研究費補助金 特定研究領域「To11 ファミリー分子 (TLR) による LPS 認識と獲得免疫発動機構の解明」(2001～2002 年度)、科学研究費補助金 特定研究領域「エンドトキシン認識機構における MD タンパクの役割についての研究」(2002～2005 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (B) 「細菌由来糖脂質抗原に対する自然免疫抗体産生を制御する To11 様受容体複合体の研究」(2004～2006 年度) を通じて研究が進められ、本研究領域終了後は科学研究費補助金 特定研究領域「Toll-like receptor ファミリーの包括的活性制御機構の解明」(2007～2008 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (B) 「病原体センサー To11 様受容体ファミリーの応答性調節機構の解明」(2008～2010 年度)、さらに研究代表者として文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究 (研究領域提案型)、「内因性リガンドによって誘導される「自然炎症」の分子基盤とその破綻」(2009～2013 年度)の領域総括、さらに「To11 様受容体の内因性リガンドの検索およびその活性制御機構の解明」の研究代表者として TLR などの病原体センサーが非感染性の炎症疾患である「自然炎症」とどのように関わっているのかを解明する研究が継続されている。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後も継続して TLR4/MD-2 に注目した研究が展開され、TLR4/MD-2 の細胞内への移行メカニズムについて研究が進んでいる。病原菌由来の LPS は病原体の種類によって構造が変わる為、その違いが TLR を介した応答に影響を及ぼすことが知られていた。リガンドの違いがどのように TLR を介した応答に影響を及ぼすのかに焦点を当てて研究を続け^[1]、

³⁵Takahashi K¹, Shibata T, Akashi-Takamura S, Kiyokawa T, Wakabayashi Y, Tanimura N, Kobayashi T, Matsumoto F, Fukui R, Kouro T, Nagai Y, Takatsu K, Saitoh S, Miyake K. "A protein associated with Toll-like receptor (TLR) 4 (PRAT4A) is required for TLR-dependent immune responses" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE 2007 Nov 26;204(12):2963-76.

TLR4/MD-2 は 6 本鎖の LPS には反応するが、4 本鎖の LPS には反応しないこと、また TLR4 の細胞内局在変化に着目した解析により TLR4/MD-2 のリガンドによる刺激後の細胞内への取り込みがインターフェロンの産生に関与していることが明らかになった^[2]。また TLR4/MD-2 以外の TLR にも研究対象を広げ、TLR による核酸認識とその制御機構の解明が進められた。RNA センサーである TLR7 と DNA センサーである TLR9 の応答が Unc93B1 によって互いに相反的に制御されること^[3]、また普段はこれらの応答が TLR9 側に傾いており、バランスが TLR7 側に傾くことで全身性致死性炎症を起こすことが示された^[4]。この結果は健常時における内因性リガンドと TLR の相互作用の制御の必要性を示しており、「自然炎症」の存在を支持するものである。さらに、TLR9 の DNA 認識において、TLR9 の N 末端側の断片が必要である事も報告している^[4]。また、結晶構造に関しても共同研究が進められ、MD-2 や TLR8 などの関連分子の結晶構造解析、構造を元にした薬剤開発のための知見が蓄積されている。文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究（研究領域提案型）「内因性リガンドによって誘導される「自然炎症」の分子基盤とその破綻」において、自然炎症が肥満や 2 型糖尿病、動脈硬化の病態に関与していることが明らかになった³⁶。

② 社会・経済的波及効果

2013 年 3 月 25 日、日経新聞ニュースアーカイブにおいて「東大、自然免疫の核酸センサー「TLR8 のリガンド認識および活性化機構を解明」との報道があった。また、2013 年 3 月 27 日第 2 回シンポジウム「自然治癒力と自然免疫」において「To11 様受容体の活性制御機構とその破綻」という演題で講演があった。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト（4 報以内）

- [1] Tanimura N, Saitoh S, Matsumoto F, Akashi-Takamura S, Miyake K. " Roles for LPS-dependent interaction and relocation of TLR4 and TRAM in TRIF-signaling." *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Mar 28;368(1):94-9.
- [2] Fukui, R; Saitoh, S; Matsumoto, F; Kozuka-Hata, H;; Tabeta, K; Beutler, B; Miyake, K" Unc93B0 biases Toll-like receptor responses to nucleic acid in dendritic cells toward DNA-but against RNA-sensing" *JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE* 2009 May 18;206:1339-1350
- [3] Fukui R, Saitoh S, Kanno A, Onji M, Shibata T, Ito A, Onji M, Matsumoto M, Akira S, Yoshida N, Miyake K. " Unc93B1 Restricts Systemic Lethal Inflammation by Orchestrating Toll-like Receptor 7 and 9 Trafficking" *IMMUNITY* 2011 Jul 22;35(1):69-81.
Onji M, Kanno A, Saitoh S, Fukui R, Motoi Y, Shibata T, Matsumoto F, Lamichhane A, Sato S, Kiyono H, Yamamoto K, Miyake K*. An essential role for the N-terminal fragment of Toll-like receptor 9 in DNA sensing. *Nat. Commun.* 2013, 4: 1949, doi:10.1038/ncomms2949

³⁶ 新学術領域「自然炎症」研究領域ホームページ <http://shizen-enshow.jp/>

3.2 2002 年度採択課題

3.2.1 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（清野宏）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

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、腸管関連組織（GALT: Gut-Associated Lymphoid tissue）の代表格であるパイエル板と鼻咽頭関連リンパ組織（NALT: Nasopharynx-Associated Lymphoid Tissue）が司令塔的役割を果たしている。しかし、パイエル板やNALTに存在する抗原取込み専門細胞と言われるM細胞については、基礎的情報は殆どなかった。本研究は、未知のM細胞特異的抗原分子とその関連遺伝子を探索・同定し、M細胞の免疫生物学的全容を明らかにし、それを標的とした「M細胞標的型粘膜ワクチン」を開発することを目指した。

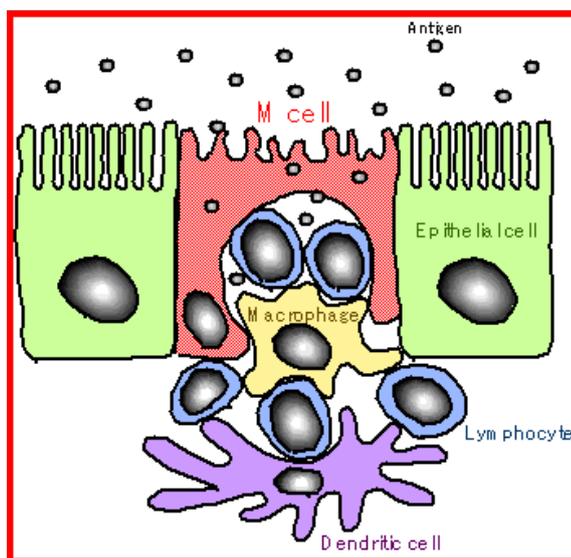


図 3-7 M細胞を介した病原菌取り込みの様子³⁷

② 期間中の研究成果

(i) 絨毛上皮における新たなM細胞の発見とその分子・細胞生物学的特徴

小腸上皮層には少なくとも3種類（FAE-M細胞、絨毛M細胞、M-like細胞）の抗原取込み細胞が存在し、これらの細胞集団は分子・細胞生物学的に異なる特徴を有することが明らかになった³⁸。絨毛M細胞の同定は新規の粘膜ワクチン標的細胞としての可能性が提示された。^[1]

(ii) M細胞関連遺伝子の同定

M細胞関連遺伝子の同定を行うために、DNAマイクロアレイ法を用いた遺伝子発現プロファイルの活用により、新たにMARCKS-like protein (MLP)、Glycoprotein 2 (GP2)がFAE-M細胞特異的発現遺伝子であることが*in situ*ハイブリダイゼーション法により同定・確認さ

³⁷ 東京大学医科学研究所 清野研究室 http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/EnMen/index_j.html

³⁸ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei14/menneki/kiyono.pdf

れた³⁹。この遺伝子発現プロファイルは、M細胞標的型抗原送達系における標的分子のスクリーニングや、M細胞の免疫生物学的機能における分子機序の理解にも有用であると考えられる。

(iii) M細胞特異的モノクローナル抗体の樹立とそれを用いたM細胞標的粘膜ワクチン

M細胞特異的モノクローナル抗体 NKM 16-2-4 の作製に成功し、この抗体がワクチン抗原の経粘膜投与においてM細胞特異的抗原送達分子として使えることが明らかになり^[1]粘膜ワクチン開発に向けての理論的・技術的基盤が確立された。

また、粘膜ワクチン、特に経口ワクチン開発に向けてコメを用いた自然型粘膜ワクチン送達担体として応用され、注射針不要な次世代ワクチンとしてのコメ型経口ワクチンの開発に成功した^[2]。

(iv) NALT組織形成統制因子とNALT非依存性抗原取り込み上皮細胞

経鼻ワクチン開発に向けて、その標的組織であるNALTに関して、一般的なリンパ系組織形成に関与しているリンフォイドケモカインはNALT初期形成に関与しないことが明らかとなった。一方で、胚中心形成やT/B細胞領域などNALT組織構築の成熟化にはリンフォイドケモカインが必須であることが明らかとなった。また、interferon regulatory factor 1 (IRF1)がNALT特異的なリンパ組織形成誘導因子である事が見出された。

(v) 脂質メディエーターを用いた粘膜免疫の基礎的解明

脂質メディエーターとして知られているスフィンゴシン1リン酸は、粘膜系T細胞やIgA前駆細胞の粘膜免疫担当組織間における細胞移出・移動に直接的に関与していることが明らかになった⁴⁰。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3報以内)

- [1] Jang MH, Kweon MN, Iwatani K, Yamamoto M, Terahara K, Sasakawa C, Suzuki T, Nochi T, Yokota Y, Rennert PD, Hiroi T, Tamagawa H, Iijima H, Kunisawa J, Yuki Y, Kiyono H. Intestinal villous M cells: an antigen entry site in the mucosal epithelium. Proc Natl Acad Sci U S A. 101(16):6110-6115. 2004.
- [2] Nochi T, Yuki Y, Matsumura A, Mejima M, Terahara K, Kim DY, Fukuyama S, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y, Kohda T, Kozaki S, Igarashi O, Kiyono H. "A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE 2007 Nov 26;204(12):2789-96.
- [3] Nochi T, Takagi H, Yuki Y, Yang L, Masumura T, Mejima M, Nakanishi U, Matsumura A, Uozumi A, Hiroi T, Morita S, Tanaka K, Takaiwa F, Kiyono H. "Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2007 Jun 26;104(26):10986-91

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から終了後において、厚生労働科学研究費補助金「粘膜ワクチン開発の

³⁹ Terahara K, Yoshida M, Igarashi O, Nochi T, Pontes GS, Hase K, Ohno H, Kurokawa S, Mejima M, Takayama N, Yuki Y, Lowe AW, Kiyono H. "Comprehensive gene expression profiling of Peyer's patch M cells, villous M-like cells, and intestinal epithelial cells." JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2008 Jun 15;180(12):7840-6.

⁴⁰ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei14/menneki/kiyono.pdf

基礎となるアジュバントに関する研究」(2001～2006年度)や科学研究費補助金特定研究領域「エイズ粘膜ワクチン開発へ向けて:HIV特異的分泌型IgA誘導システムの開発」(2004～2005年度)、「新興・再興感染症に対するヒトM細胞標的型粘膜ワクチン開発」(2008～2010年度)等の実施を経て、現在JST CREST「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」領域の「炎症性腸疾患の慢性化制御機構の解明と治療戦略の基盤構築」(2010～2014年度)や科学研究費補助金基盤(S)「顎顔面免疫と生殖器免疫のクロストーク」(2011～2015年度)において研究が継続され、粘膜免疫学の学問体系確立とその理論的背景確立に向けた粘膜免疫機構の基礎的解明、さらにはその臨床応用を目指した粘膜ワクチン、粘膜アジュバント、粘膜免疫療法の開発に関する研究が進められている。

① 科学技術の進歩への貢献

粘膜免疫学の学問体系確立、粘膜免疫機構の基礎的解明という側面では、科学研究費補助金を活用した研究が進められている。「粘膜上皮層における抗原取り込みネットワークの解明」では、M細胞特異的発現分子の同定と機能解析がおこなわれ、その結果、M細胞の発達・生物学的特徴からサブセットがあり、誘導型M様細胞はその抗原取り込み能や形態などからM細胞と上皮細胞の中間的存在であることが示唆された^[1]。新規M細胞特異的分子として、GP2、MLPなどが同定された^[2]。M細胞がFimHタンパク質を有する特定の細菌群を効率よく取り込むためにGP2を足場として使用されていることが共同研究により明らかにされた^[3]。また、抗GP2抗体を樹立しこの抗体がワクチン抗原の効果的送達に用いることができることが判明した^[4]。

② 社会・経済的波及効果

厚生労働科研費やNEDOの研究費を通じて臨床研究が継続されている。厚生労働科研費の「新興・再興感染症に対するヒトM細胞標的型粘膜ワクチン開発」(2008～2010年度)では、M細胞を含めた上皮細胞特異的抗体のワクチン抗原送達効果がサル腸管を用いて確認された^[4]。また、NEDO「基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発」で実施された「腸管下痢症経口ワクチンの研究開発」では、ハイグロマイシン耐性遺伝子マーカーフリーの均一CTB発現米の作出と種子バンクが構築された^[42]。さらにGMP(Good manufacturing practice)対応完全閉鎖型MucoRice水耕栽培施設において、最適の播種、育苗および栽培条件の検討が進められ、21日間の育苗期間を経て同施設で3ヶ月でMucoRiceが収穫できる最適栽培法技術が確立された^[31]。安全で有効な粘膜ワクチン、粘膜免疫療法が実用化されることにより、炎症性腸疾患、各種新興・再興感染症に関する新規治療・予防・診断法が確立され、国民のQOL向上に大きく寄与する。清野は2013年第42回日本免疫学会学術集会の会長を務めた。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

[1] Obata T, Goto Y, Kunisawa J, Sato S, Sakamoto M, Setoyama H, Matsuki T, Nonaka

⁴¹ Ichiro Takahashi, Tomonori Nochi, Jun Kunisawa, Yoshikazu Yuki, and Hiroshi Kiyono “The mucosal immune system for secretory IgA responses and mucosal vaccine development” 日本炎症・再生医学会誌 2009 p40-47

⁴² NEDO 「基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発」 腸管下痢症経口ワクチンの研究開発 報告書 <http://www.nedo.go.jp/content/100506721.pdf>

K, Shibata N, Gohda M, Kagiya Y, Nochi T, Yuki Y, Fukuyama Y, Mukai A, Shinzaki S, Fujihashi K, Sasakawa C, Iijima H, Goto M, Umesaki Y, Benno Y, Kiyono H." Indigenous opportunistic bacteria inhabit mammalian gut-associated lymphoid tissues and share a mucosal antibody-mediated symbiosis" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2010 Apr 20;107(16):7419-24.

- [2] Terahara K, Yoshida M, Igarashi O, Nochi T, Pontes GS, Hase K, Ohno H, Kurokawa S, Mejima M, Takayama N, Yuki Y, Lowe AW, Kiyono H." Comprehensive gene expression profiling of Peyer's patch M cells, villous M-like cells, and intestinal epithelial cells" JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2008 Jun 15;180(12):7840-6.
- [3] Hase K, Kawano K, Nochi T, Pontes GS, Fukuda S, Ebisawa M, Kadokura K, Tobe T, Fujimura Y, Kawano S, Yabashi A, Waguri S, Nakato G, Kimura S, Murakami T, Iimura M, Hamura K, Fukuoka S, Lowe AW, Itoh K, Kiyono H, Ohno H." Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response" NATURE 2009 Nov 12;462(7270):226-30.
- [4] Nochi T, Yuki Y, Takahashi H, Sawada S, Mejima M, Kohda T, Harada N, Kong IG, Sato A, Kataoka N, Tokuhara D, Kurokawa S, Takahashi Y, Tsukada H, Kozaki S, Akiyoshi K, Kiyono H." Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines" NATURE MATERIALS 2010 Jul;9(7):572-8.

④ その他

清野は、2007年に粘膜免疫学の創成と粘膜ワクチン開発への理論形成に対して「日本ワクチン学会高橋賞」、粘膜免疫の基礎的解明と学問的体系確立に対して「第51回（平成19年度）野口英世記念医学賞」を、2009年に粘膜免疫学の基礎的解明と学問体系の確立に対して「日本食品免疫学会特別賞」を受賞した。

3. 2. 2 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（小安重夫）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究は、消化管、中でも胃と腸に炎症を起こすヘリコバクターピロリと病原性大腸菌を主な対象として、病原微生物の共生戦略と宿主の感染防御戦略の解明を目指して病原因子と宿主免疫細胞の相互作用の解析を行った。微生物の感染戦略として、「病原微生物は宿主免疫担当細胞の細胞内シグナル伝達系に働きかけ、自らに都合の良い環境をつくる。」といった仮説を立て、特に本研究領域開始前に重点的に取り組み PI3K(Phosphoinositide 3-kinase)経路に影響を及ぼすことが分かっていた病原微生物（ヘリコバクターピロリ、病原性大腸菌）に焦点を当てて研究が行われた。

② 期間中の研究成果

(i) ヘリコバクターによる胃炎の発症機構の解明

獲得免疫系が機能しない免疫不全マウスである Rag2 欠損マウスにヘリコバクターを感染させても胃粘膜固有層に血液浸潤をとまなう胃炎は発生しない。しかしこのマウスに野生型マウスから採取したナイーブ CD4 陽性 T 細胞を移入すると、T 細胞と好中球の浸潤を伴う強い炎症が発生する。以上の感染実験により、上皮細胞から生産されるサイトカインやケモカインが好中球を誘引し、炎症のきっかけになるという従来のモデルは否定され、ヘリコバクター抗原特異的な CD4 陽性 T 細胞の活性化が胃炎の発症には重要である事が判明した^[1]。リンパ組織を持たない胃における抗原特異的な T 細胞の活性化の誘導メカニズムは不明であったが、小腸のパイエル板を欠損するマウスを用いた検討によりヘリコバクターの菌体がパイエル板から取り込まれ、パイエル板内で樹状細胞に貪食されることが明らかになった^[1]。ヘリコバクターが嫌気性条件においてラセン状から球状に変化することで効率的に樹状細胞に取り込まれるというモデルが提唱された。

(ii) EPEC(enteropathogenic Escherichia coli : 腸管病原性大腸菌)の感染戦略の解明

EPEC は宿主側で Th1 反応が優位に起こる場合には定着、増殖して炎症や下痢などの症状を引き起こすが、Th2 反応が優位に誘導されるマウスを用いた感染実験では菌は速やかに排除され、炎症が誘導されないことが分かった。EPEC は樹状細胞に対して PI3K シグナル伝達経路を通じて IL-12 の発現を負に制御することが明らかになった。この IL-12 によって Th1 細胞の活動が制御されるため、「EPEC が樹状細胞の PI3K 活性を抑制することで IL-12 の発現を亢進し、自らに有利な Th1 反応を誘導する」という仮説が立てられた。この仮説を検証するために EPEC の変異体を用いた検討が行われ、EPEC が PI3K の活性抑制を介して Th1 反応を誘導することが判明した^[2]。

(iii) 免疫細胞における PI3K 経路の探索

樹状細胞において TLR(toll like receptor)刺激によって活性化される PI3K 経路の下流のシグナル経路を探索した結果、Akt-mTOR 経路を通じて IL-10 の発現を正に、IL-12 の発現を負に制御している事が明らかになった。また mTOR とは独立に Akt-GSK3 β (Glycogen synthase kinase 3 β)経路を通じて IL-12 の発現を正に制御していることが明らかになった^[2]。

また、B細胞においてはPI3KとBtkがそれぞれ独立にNF- κ Bの活性化に関与することが明らかになった。

(iv) 病原細菌の感染戦略の理解に基づく治療法の開発

樹上細胞におけるPI3K経路の解析より、mTOR(mammalian Target Of Rapamycin)が阻害されることでIL-12の発現が亢進される一方で、GSK3 β を阻害することでIL-12の発現を抑制できることが明らかになった^[2]。EPECがTh1反応を亢進させることから、GSK3 β の阻害剤であり、精神科領域において臨床で使われているリチウムを用いてTh1反応を抑制した。野生型EPECに感染させたマウスに炭酸リチウムを投与したところTh1反応が低下し、PI3Kを介したTh1の抑制によりEPECの感染制御が可能であることが示唆された⁴³。

(v) 肥満細胞による寄生虫感染制御の分子機構の理解

PIK3欠損マウスにおいては消化管の肥満細胞数が激減しており、ベネズエラ糞線虫を感染させると虫体の排除が遅れることが示された。この原因はTh2反応の誘導不全と消化管肥満細胞の欠損によることが判明した^[3]。

(vi) 樹状細胞によるクロスプレゼンテーションの分子機構

樹状細胞は貪食により取り込んだ抗原を小胞体品質管理機構を介して分解し、MHCクラスIとMHCクラスIIの両分子に載せて細胞表面上に提示することが明らかになった。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3報以内)

- [1] Nagai S, Mimuro H, Yamada T, Baba Y, Moro K, Nochi T, Kiyono H, Suzuki T, Sasakawa C, Koyasu S. "Role of Peyer's patches in the induction of Helicobacter pylori-induced gastritis" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2007 May 22;104(21):8971-6.
- [2] Ohtani M, Nagai S, Kondo S, Mizuno S, Nakamura K, Tanabe M, Takeuchi T, Matsuda S, Koyasu S. "Mammalian target of rapamycin and glycogen synthase kinase 3 differentially regulate LPS-induced IL-12 production in dendritic cells" BLOOD 2008 Aug 1;112(3):635-43.
- [3] Fukao T, Tanabe M, Terauchi Y, Ota T, Matsuda S, Asano T, Kadowaki T, Takeuchi T, Koyasu S. "PI3K-mediated negative feedback regulation of IL-12 production in DCs" NATURE IMMUNOLOGY 2002 Sep;3(9):875-81.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中より、科学研究費補助金 特定研究領域「樹状細胞と微生物の相互作用による自然免疫系の活性化とその調節機構の解明」(2002～2005年度)、科学研究費補助金基盤研究(B)「消化管肥満細胞分化と消化管寄生虫感染制御におけるPI3キナーゼの機能解明」(2002～2003年度)、科学研究費補助金基盤研究(B)「肥満細胞の分化と機能発現におけるPI3キナーゼの役割の解明」(2004～2005年度)、科学研究費補助金基盤研究(B)「消化管肥満細胞とIgEを介した寄生虫感染免疫におけるPI3キナーゼの機能解明」(2006～2007年度)において病原微生物と宿主免疫応答の基盤研究が進められた。本研究領域終了後は、科学研究費補助金 特定研究領域「細菌感染時の樹状細胞による自然免疫系と獲得免疫系の

⁴³ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei14/menneki/koyasu.pdf

連結機構の解明」(2006～2010 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (S)「新たに発見した“ナチュラルヘルパー細胞”の機能解明」(2010～2015 年度)で研究が継続されている。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、特に腸管感染における肥満細胞の機能を解析する過程で発見された新たなリンパ球である、NH (ナチュラルヘルパー) 細胞の機能解析が進められた² (図 3-8)。NH 細胞は恒常的に IL-5、IL-6、IL-13 などの 2 型サイトカインを産生し、B 細胞からの IgA 産生を促し、また自然抗体を作る B1 細胞の増殖を支持する^[1]、一方で寄生虫感染時には IL-33 に反応して大量の IL-5 や IL-13 を産生し、好酸球増多やムチン産生を促して寄生虫感染の初期防御に機能することが明らかになった^[1,2]。転写因子 GATA3 を欠損させると NH 細胞の分化が障害されることから、GATA3 が NH 細胞のマスター分化因子であることが明らかになった^[4]。

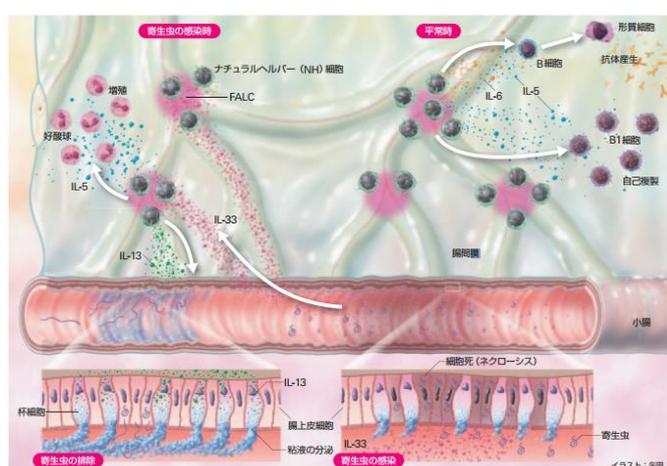


図 3-8 ナチュラルヘルパー細胞の分布と働き⁴⁴

② 社会・経済的波及効果

NH 細胞の研究成果として「ステロイドが効かない重症ぜんそくのメカニズムをマウスで解明した」として報道発表とともに⁴⁵、論文発表がなされた^[4]。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト (4 報以内)

- [1] Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, Furusawa J-I, Ohtani M, Fujii H, Koyasu S. “Innate production of T_H2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit⁺Sca-1⁺ lymphoid cells” NATURE 2010 Jan 28;463(7280):540-4.
- [2] Koyasu S, Moro K. “Type 2 innate immune responses and the natural helper cell” IMMUNOLOGY 2011 Apr;132(4):475-81.
- [3] Furusawa J, Moro K, Motomura Y, Okamoto K, Zhu J, Takayanagi H, Kubo M, Koyasu S. “Critical Role of p38 and GATA3 in Natural Helper Cell Function” JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2013 Aug 15;191(4):1818-26.
- [4] Kabata H, Moro K, Fukunaga K, Suzuki Y, Miyata J, Masaki K, Betsuyaku T, Koyasu S, Asano K. “Thymic stromal lymphopoietin induces corticosteroid resistance in natural helper

⁴⁴ Koyasu S, Moro K, Tanabe M, Takeuchi T. “Natural helper cells: a new player in the innate immune response against helminth infection.” ADVANCE IMMUNOLOGY 2010;108:21-44.

⁴⁵ 理化学研究所 RIKEN NEWS 2013 年 11 月号

cells during airway inflammation” NATURE COMMUNICATIONS 2013;4:2675.

④ その他

本研究領域を通じて多くの若手研究者や技術者が育成された。小安チームの慶應義塾大学医学部専任講師の松田達志は関西医科大学の独立准教授に、助教の藤猪英樹は琉球大学の准教授に、助教の永井重徳は東京医科歯科大学の准教授に、笹川チームの東京大学医科学研究所講師の鈴木敏彦は琉球大学医学部の教授に、矢原チームの今井純特別研究講師は高崎健康福祉大学の准教授に栄転した。

小安重夫は 2012 年に理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センターの副センター長、兼免疫細胞システム研究グループのディレクターに就任し、2013 年より、理化学研究所統合生命医科学研究センターのセンター長代行、兼免疫細胞システム研究グループのディレクターに就任した。

3. 2. 3 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（阪口薫雄）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究は、「抗原に特異的な抗体の親和性の亢進による免疫効果の向上」に焦点を当て、その機構を明らかとすることを目的とした。また、リンパ球の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すること、具体的には末梢のリンパ組織において発現する GANP(Germinal Center Associated Nuclear Protein)分子が高親和性抗体産生に及ぼす分子機構を明らかにすることを旨とした。

② 期間中の研究成果

(i) 免疫における役割（高親和性抗体生産）

GANP は免疫応答の際に形成される胚中心の B 細胞で発現上昇する核内因子として阪口らによって同定された。抗体の V_H 領域の遺伝子再構成を調節し抗体の親和性向上に関与すると考えられてきた。

B 細胞特異的 GANP 欠損マウスは B 細胞の成熟機能低下による NP(4-hydroxy-3-nitrophenylacetyl:ハプテン抗原)特異的抗体産生能の低下、VH186.2 遺伝子の高親和性変異の著しい低下、抗 CD40 抗体刺激による増殖低下を示した^[1]。逆に B 細胞特異的 GANP 遺伝子導入マウスは NP に対する高親和性抗体産生能の亢進、VH186.2 遺伝子の高親和性変異頻度の上昇を示した。これは V 領域の点突然変異が増加し、多数のアミノ酸置換の誘導が原因であることが示された^[2]。以上の結果より GANP が抗原特異的高親和性抗体の産生に必須な機能分子であることが判明した。

(ii) GANP の遺伝子転写制御機構

プロテオミクス解析により GANP の結合因子として PRMT5(protein arginine methyltransferase)が同定された。GANP は PRMT5 に結合し、ヒストンのアルギニンメチル化反応を抑制した。また GANP は成熟した B 細胞が形成する胚中心における AID(activation-induced cytidine deaminase)分子やイントロン C_ϵ の転写を制御すること、胚中心での過剰な IgE へのクラススイッチや過剰な AID 分子による DNA 損傷に対して防御的に働くことが明らかになった。

(iii) 胚中心における高親和性 B 細胞の選別

BCR(B cell receptor)を介した B 細胞への抗原特異的の刺激により GANP と会合する脱リン酸化酵素サブユニット G5PR の発現量が増加した。骨髄中の未熟 B 細胞、新生 B 細胞では G5PR の発現は認められないが、BCR を介した刺激を受けることで、濾胞 B 細胞において G5PR の発現が亢進した。G5PR は JNK(c-Jun N-terminal kinase)の過剰なリン酸化を抑制することで細胞死を抑制しており、B 細胞の生存に大きく関わっていることが示された。B 細胞特異的 *g5pr* 遺伝子欠損マウスでは脾臓が小さく、成熟 B 細胞も減少しており、抗 IgM 抗体刺激後の細胞増殖が抑制されていることを示した^[3]。以上のように、G5PR による高親和性 B 細胞クローンの選別が行われる胚中心 B 細胞の生存と選択メカニズムの一部が明らかになった。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト（3報以内）

- [1] Kuwahara K, Fujimura S, Takahashi Y, Nakagata N, Takemori T, Aizawa S, Sakaguchi N. Germinal center-associated nuclear protein contributes to affinity maturation of B cell antigen receptor in T cell-dependent responses. PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2004 Jan 27;101(4):1010-5.
- [2] Sakaguchi N, Kimura T, Matsushita S, Fujimura S, Shibata J, Araki M, Sakamoto T, Minoda C, Kuwahara K. "Generation of high-affinity antibody against T cell-dependent antigen in the Ganp gene-transgenic mouse" THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2005 Nov 1;175(9):5615-8.
- [3] Xing Y, Igarashi H, Wang X, Sakaguchi N. Protein phosphatase subunit G5PR is needed for inhibition of B cell receptor-induced apoptosis. JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE 2005 Sep 5;202(5):707-19

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中より、科学研究費補助金 特定研究領域「タイプ 2RNA プライマーゼ GANP の B リンパ腫遺伝子変異誘導」（2003～2004 年度）、本研究領域終了後には、科学研究費補助金特定領域研究「Lyn 信号伝達における高親和性 B 細胞選択の分子信号」（2010～2011 年度）、基盤研究（B）「抗体 V 領域遺伝子選択的 AID ターゲッティング機構」（2011～2013 年度）、萌芽研究「mRNA 輸送因子 GANP による HIV-1 感染阻止分子 Apobec3G 制御」（2012～2013 年度）において研究が進められた。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、AID の V 領域に対する SHM(somatic hypermutation: 体細胞超変異) 誘導時において、GANP が V 領域選択性に関与することが明らかになった^[1]。その後、GANP と AID が細胞質で結合し細胞核内に運ばれるという新たなモデルを提唱した^[2]。そして、科学研究費補助金基盤研究（B）「抗体 V 領域遺伝子選択的 AID ターゲッティング機構」（2011～2013）において、GANP/AID 複合体が IgV 領域遺伝子特異的ターゲッティングを行う際の分子メカニズムが明らかになり^[3]、高親和性 B 細胞産生の分子機構の解明に向けて研究が継続されている。この論文は NATURE COMMUNICATIONS 誌の『注目の論文』に選定された。また、科学研究費補助金基盤研究「mRNA 輸送因子 GANP による HIV-1 感染阻止分子 Apobec3G 制御」において GANP 分子はエイズウイルスの感染能力を消失させ破壊する酵素 APOBEC3G を HIV ウイルスの中枢へ運び込むことが明らかになった^[4]。この研究成果は、シチジン脱アミノ化の制御分子として注目され、掲載された米国免疫学会誌の『IN THIS ISSUE』に選定された。さらに、GANP の中央部分が酵母 Sac3 分子と相同性があり、哺乳類細胞における mRNA の核外輸送に関する TREX-2 複合体の重要要素であることが明らかとなった（現在研究継続中）。TREX-2 とシチジン脱アミノ化酵素関連は、ゲノム遺伝子の保護と修復という観点から重要である。それを裏付ける証拠として、2013 年 2 月、米国ミネソタ大学のルーベン・ハリス教授らの APOBEC3B シチジン脱アミノ化酵素の異常が乳がんの原因となるという発表がなされている。GANP は生体内での mRNA 輸送とゲノム維持に必須な分子であることが示唆され、国際的に注目されている。

② 社会・経済的波及効果

GANP 分子の発現制御による高親和性モノクローナル抗体作製技術が確立され、高親和性抗体を用いる診断、治療法の開発が可能になった。高親和性抗体作製技術は GANP 特許登録後、創薬創出技術として発展させ、実際に商品化され、GANP を高発現するトランスジェニ

ックマウス (GANP®マウス) として株式会社トランスジェニックから販売されている。GANP®マウスは通常の野生型マウスと比較して、胚中心 B 細胞において、抗体可変領域に多くの体細胞突然変異が誘発されるため、親和性や特異性の高い抗体の取得に利用されている。NATURE COMMUNICATIONS 誌の『注目の論文』に選定された論文の成果は、ONLINE 発表と同時に一週間で 2000 回を超えるアクセスを記録し、2013 年 5 月 15 日熊本大学広報発表「遺伝子変異させ強力な抗体 熊大大学院生命科学研究部の教授ら仕組み解明 ワクチン開発へ可能性」として熊本日日新聞に報道された。

さらに本研究領域において得られた GANP に関する知見をもとに、AIDS 治療、振興再興感染症への実用化 (SARS, 鳥インフルエンザ、新型インフルエンザ)、がん治療 (胆管がん、肺がん、肝がん)、自己免疫疾患の原因解明と新たな研究戦略の開発、がん抑制分子 GANP による生活習慣病、細胞老化から発症する「がん」の撲滅にむけた研究が進められている。

新たな知見として米国免疫学会誌掲載論文の成果は、月間アクセスで上位 10% (3 位/53 報) を記録し、2013 年 12 月 16 日熊本大学広報発表、記者会見 (熊本大学) を行ない、TBS テレビ朝ズバ全国ニュース、RKK 熊本放送ニュース (3 回)、NHK 熊本放送局「クマロク」のニュース放送、読売新聞、熊本日日新聞、西日本新聞に掲載された。「エイズ治療開発につながる発見」として高く注目されている。

株式会社トランスジェニックの基本技術「高親和性抗体作製技術—GANP®マウス技術に関する基本特許は中国、米国、欧州、日本、オーストラリア、韓国で成立しており、抗体医薬を開発している製薬会社にライセンスングビジネスを展開している。阪口薫雄らが共同研究で開発に成功した抗 H5 HA 抗体は、広範囲の抗原性のウイルスと高親和性で結合し、鳥インフルエンザウイルス (H5 亜型) を 50 倍以上の高感度で測定できる高感度蛍光イムノクロマトに利用されている⁴⁶。

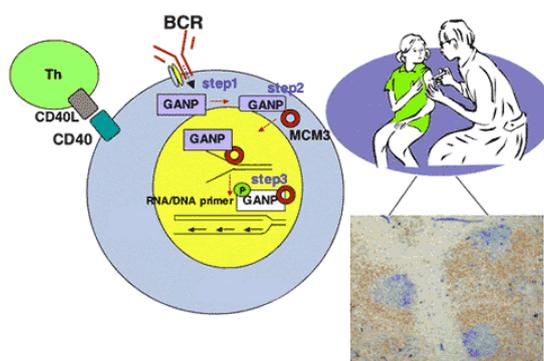


図 3-9 GANP による高親和性抗体生産とワクチン開発への応用⁴⁷

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト (4 報以内)

- [1] Maeda K, Singh SK, Eda K, Kitabatake M, Pham P, Goodman MF, Sakaguchi N." GANP-mediated recruitment of activation-induced cytidine deaminase to cell nuclei and to immunoglobulin variable region DNA" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 2010 Jul 30;285(31):23945-53.
- [2] Sakaguchi N, Maeda K, Kuwahara K." Molecular mechanism of immunoglobulin V-region

⁴⁶東京バイオマーカー・イノベーション技術研究組合 <http://www.tobiraproject.or.jp/project/pg262.html>

⁴⁷熊本大学大学院生命科学研究部 <http://www.medphas.kumamoto-u.ac.jp/research/bunya/38.html>

diversification regulated by transcription and RNA metabolism in antigen-driven B cells
“SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2011 Jun;73(6):520-6.

- [3] Singh SK, Maeda K, Eid MM, Almofty SA, Ono M, Pham P, Goodman MF, Sakaguchi N. GANP regulates recruitment of AID to immunoglobulin variable regions by modulating transcription and nucleosome occupancy “NATURE COMMUNICATIONS 2013;4:1830. doi: 10.1038/ncomms2823.
- [4] Maeda K, Almofty SA, Singh SK, Eid MM, Shimoda M, Ikeda T, Koito A, Pham P, Goodman MF, Sakaguchi N.” GANP interacts with APOBEC3G and facilitates its encapsidation into the virions to reduce HIV-1 infectivity.” THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY 2013 Dec 15;191(12):6030-9.

3.2.4 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（鎮西康雄）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

マラリア原虫のヒトへの感染は、蚊の吸血によって放出されたスポロゾイドが肝実質細胞（肝細胞）に感染することによって成立する。本研究はマラリア原虫の肝臓感染の分子基盤を解明し、感染に関与する原虫分子を明らかにすると共に、放出されたスポロゾイドを標的とする新たなマラリア感染防止法を確立することを目指した。スポロゾイドの肝臓への感染はマラリア原虫のヒトへの感染の最初のステップであり、このステップを標的として感染そのものを阻止できれば感染そのものが成立しないため抗マラリア戦略として有効であると考えられた。

② 期間中の研究成果

マラリア原虫の肝臓感染の経路とそれに関わる分子の同定を試みた。

(i) 肝実質細胞への感染機構の解明

スポロゾイドが肝臓に感染するためには、マラリア原虫の「細胞通過」能が決定的な役割を果たしており、細胞通過には3種類の原虫蛋白質（SPECT、SPECT2、CelTOS）が必須である事が明らかになった^[1]。さらに「細胞通過」は、スポロゾイドが皮膚の内部を通過し循環系に入る過程、および肝類洞から肝類洞壁を超えて肝実質へ侵入する過程の2つの独立した感染過程において重要であることが明らかになった^[2]。

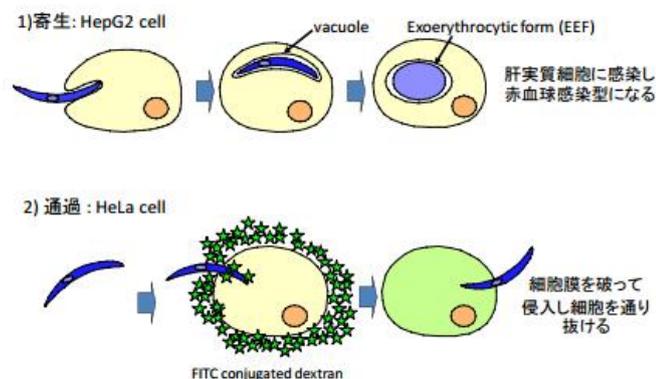


図 3-10 マラリア原虫の肝臓感染過程のモデル⁴⁸

(ii) 肝実質細胞への感染機構の解明

感染後、肝実質細胞へ到達したスポロゾイドは肝細胞に寄生する。マラリア原虫が肝細胞を特異的に認識し、寄生に必要な3種の原虫蛋白質（Pbs36、Pbs36p、Pbs41）が同定された^[2]。Pbs36p、Pbs41はGPIアンカーを有しており原虫の細胞表面に提示されて肝実質細胞の認識に直接的に関与していると考えられた。

(iii) 肝実質細胞内での増殖とそれに関わる分子の解析

スポロゾイドが肝実質細胞内で寄生胞を形成するステップに対して、細胞性免疫による寄

⁴⁸ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei14/menneki/chinzei.pdf

生胞の形成の阻止が可能である。これまで宿主と原虫の相互作用、肝内原虫が発現する蛋白質などは明らかになっていなかった。本研究課題において構築された肝内型原虫の遺伝子発現データベース EST に基づき、スポロゾイドが肝実質細胞に侵入後の細胞内での感染状態の維持に必要な原虫蛋白質として LS1、LS2 が同定された。またこれらの蛋白質を欠損する原虫では肝実質細胞への感染効率が 10 分の 1 以下に低下する事も確認された⁴⁹。

(iv) 肝臓感染に関わる分子を標的とした感染阻止

同定した原虫蛋白質、SPECT、CelTOS、Pbs36、Pbs36p、Pbs41 に対するモノクローナル抗体を作製し、抗体による感染阻止効果を調べたところ、CelTOS (cell traversal protein of ookinete and sporozoite) 以外の抗体において、マウスへの受動免疫による感染阻止効果が確認された^[3]。これら抗体は宿主の免疫系においてスポロゾイド感染阻止効果を有すると考えられる。これまで肝臓感染ステージで感染阻止効果が報告されているのは circum-sporozoite protein に対する抗体のみであったため、新たに同定された多数の抗原分子はワクチンとして新規な候補である。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Ishino, T; Yano, K; Chinzei, Y; Yuda, M ” Cell-passage activity is required for the malarial parasite to cross the liver sinusoidal cell layer” PLOS BIOLOGY January 20, 2004
- [2] Ishino T, Chinzei Y, Yuda M.” A Plasmodium sporozoite protein with a membrane attack complex domain is required for breaching the liver sinusoidal cell layer prior to hepatocyte infection” CELLULAR MICROBIOLOGY 2005 Feb;7(2):199-208.
- [3] Ishino T, Chinzei Y, Yuda M.” Two proteins with 6-cys motifs are required for malarial parasites to commit to infection of the hepatocyte” MOLECULAR MICROBIOLOGY 2005 Dec;58(5):1264-75.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中に組み込まれた科学研究費補助金基盤研究 (A) 「マラリア原虫のステージ特異的宿主細胞感染機構の解明」(2002～2004 年度) ではマラリア原虫を媒介するハマダラカへの感染成立過程と動物体内に侵入したのちの肝臓細胞への感染成立過程に関わる「細胞透過」現象に関与する遺伝子群の解析が行われ、科学研究費補助金 特定研究領域「マラリア原虫スポロゾイドの肝臓細胞への感染機構」(2004～2005 年度) では肝臓細胞への感染に関与する SPECT の性状解析が行われた。科学研究費補助金基盤研究 (A) 「マラリア原虫のステージ特異的宿主細胞感染機構の解明」(2005～2007 年度)、科学研究費補助金基盤研究 (C) 「マラリア肝内型原虫のメロゾイドへの分化に必須な分子の探索と機能の解析」(2009～2011 年度) で研究が継続されマラリア原虫の感染機構に関与する原虫遺伝子の同定と機能解析が進められた。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、肝内型原虫をターゲットとしたワクチン候補分子探索のために肝内型原虫のスポロゾイドからメロゾイドへの発育分化過程に注目し、この発育過程に発現している遺伝子の網羅的解析が行なわれた^[1]。さらに、この分化過程を制御する重要な因子としてマラリア原虫が肝臓に侵入するステージであるスポロゾイドの転写因子 AS2-Sp が同定され

⁴⁹ 研究終了報告書 <http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/heisei17/pdf/a17/f01/s009.pdf>

た^[2]。これによって肝内型原虫を短時間で効率的に調整する方法が確立された。また網羅的遺伝子解析によりデータベースも構築された。

メロゾイド（血液中の原虫）を対象としたワクチン開発に多くの研究者が取り組んでいるが、これはメロゾイドが培養可能であり、実験がやりやすいこと、臨床的に症状が出るのがメロゾイド期であることに起因すると考えられる。しかし、この時期の原虫を対象としたワクチンは症状を和らげるなどの治療には使えるが、感染そのものを防ぐことはできない。本研究領域終了後、肝内原虫の効率的調製法を独自に開発し、研究速度を加速化させ、感染そのものを阻止し、耐性も出にくいとされる肝内原虫を対象としたワクチン候補が得られた。

② 社会・経済的波及効果

マラリアは毎年数億人が感染し数百万人が死亡する世界一級の感染症であるが、いまだ効果的な対策が確立されておらずワクチン開発が期待されている。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト（4報以内）

- [1] Orito Y, Ishino T, Iwanaga S, Kaneko I, Kato T, Menard R, Chinzei Y, Yuda M.” Liver-specific protein 2: a Plasmodium protein exported to the hepatocyte cytoplasm and required for merozoite formation” MOLECULAR MICROBIOLOGY 2013 Jan;87(1):66-79.
- [2] Yuda M, Iwanaga S, Shigenobu S, Kato T, Kaneko I.” Transcription factor AP2-Sp and its target genes in malarial sporozoites.” MOLECULAR MICROBIOLOGY 2010 Feb;75(4):854-63.

④ その他

鎮西康雄はマラリア感染機構の研究成果によって2007年に読売東海医学賞を受賞した。また2013年に鈴鹿医療科学大学大学院長に就任した。研究は三重大学医学部の油田らに引き継がれている。共同研究者であった石野智子は現在愛媛大学プロテオサイエンスセンター寄生病原体学部門分子寄生虫学講座にて准教授の職に、岩田史朗は三重大学医動物・感染医学教室の准教授の職に就いている。

3.2.5 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（宮島篤）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究のねらいは肝臓の発生・分化・再生の分子基盤と胎児肝臓の造血機能の解明と、それらに基づく肝疾患治療法開発であった。具体的には肝臓の構成細胞の厳密な同定・分離法を確立することにより、肝臓細胞の分子レベルでの解析を目指した。肝臓は生体における代謝の中心臓器でありながら、胎生期においては最も主要な造血組織として機能し、造血幹細胞が生涯で最も活発に増殖する組織である。しかしながら、このような肝機能の形成、維持および恒常性破綻の分子的基盤は未だ解明されておらず、本研究によりその分子的基盤の一端が明らかになることが期待された。

② 期間中の研究成果

(i) 肝臓構成細胞の同定と分離

本研究領域の開始当初は肝臓の分類において実質細胞と非実質細胞という分類表現が頻繁に使われていたことから分かるように、肝臓の構成細胞の厳密な同定・分離法とそれに基づく分子レベルの性状解析はほとんど実施されていなかった。本研究領域で各種肝臓構成細胞の細胞膜タンパク質の同定とそれらに対するモノクローナル抗体が作製され、細胞膜タンパク質の発現に基づく肝臓構成細胞の同定・分離が可能になった。分離された細胞の培養方法を確立し、それらの機能および分化について検討を行った結果、類洞内皮細胞がリンパ管内皮細胞と明確に区別され、T細胞などのリンパ球活性化を負に制御することが明らかになった⁵⁰。

(ii) 肝臓の発生・分化および障害

肝臓の幹細胞と考えられる肝芽細胞の分化について詳細な検討が行われ、肝芽細胞のマーカー分子として Dlk (Delta-like protein)、EpCAM (Epithelial cell adhesion molecule) が同定された。EpCAM⁺（右肩の+は遺伝子の発現を表し、+の数でその発現量を表示している。）かつ Dlk⁺細胞が最も未熟な肝幹細胞であること、その肝幹細胞が Dlk⁺の肝芽細胞を経て Dlk⁻の成熟肝細胞となる発生過程が明らかになった^[1]。さらに EpCAM⁺胆管上皮細胞も肝芽細胞に由来し、肝芽細胞から胆管上皮細胞への分化過程には Notch シグナルの活性化が重要であることが明らかになった^[1]。

また、肝障害とそれに続く肝再生現象に注目し、慢性肝炎時に門脈周辺に形成される偽胆管とそこに存在するオーバル細胞の由来が検討された。オーバル細胞は発がんとの関わりも指摘されている増殖性細胞である。オーバル細胞の細胞膜マーカータンパク質として EpCAM が同定され、分離され、性状が解析された。その結果、オーバル細胞は正常肝臓の胆管に存在する EpCAM 陽性細胞集団に由来するものであることが判明した³。（図 3-11）

⁵⁰ Nonaka H, Tanaka M, Suzuki K, Miyajima A. "Development of murine hepatic sinusoidal endothelial cells characterized by the expression of hyaluronan receptors." DEVELOPMENTAL DYNAMICS 2007 Aug;236(8):2258-67.

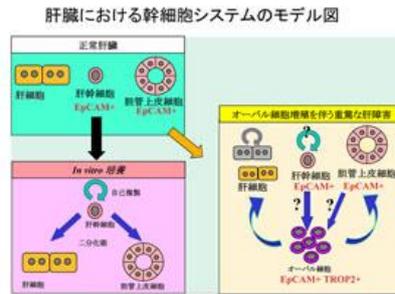


図 3-11 肝臓における幹細胞システム⁵¹

(iii) 胎児肝臓の造血機能

肝臓は胎児期において造血器官として中心的な役割を果たしている。HCS (Hematopoietic Stem Cell : 造血幹細胞) は胎児肝臓において劇的に増殖することから、胎児肝造血が *in vitro* で再現できるかどうかを調べたところ、胎生 14 日目のマウス肝臓の初代培養系に AGM (aorta-gonad-mesonephros : 胎生中期に大動脈・生殖腺・腎臓を形成する領域) 由来の造血幹細胞分画を加えて共培養することで造血幹細胞が著しく増幅した。また、胎児肝臓から Dlk⁺ の肝芽細胞を分離精製しフィーダー細胞として共培養することにより造血が盛んになることから、肝芽細胞が胎児肝臓における造血幹細胞ニッチの形成に関与すると考えられた⁵²。

(iv) 肝がん抗原

胎児肝臓の肝細胞に発現し成体肝臓には全く発現が認められない Dlk がヒト肝がんの 20～30% (特に悪性度の高い肝がんで高頻度) において発現しており、肝臓がんにおいて幹細胞が存在することが示唆された。これらの結果はオーバル細胞などの肝幹細胞が肝がんの前駆細胞となる可能性や分化した肝細胞が脱分化して幹細胞様の性質を獲得する可能性を示している⁵³。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト 3 報以内

- [1] Tanimizu N, Nishikawa M, Saito H, Tsujimura T, Miyajima A. "Isolation of hepatoblasts based on the expression of Dlk/Pref-1." JOURNAL OF CELL SCIENCE. 2003 May 1;116(Pt 9):1775-86.
- [2] Tanimizu N, Miyajima A. "Notch signaling controls hepatoblast differentiation by altering the expression of liver-enriched transcription factors" JOURNAL OF CELL SCIENCE 2004 Jul 1;117(Pt 15):3165-74.
- [3] Takeuchi M, Sekiguchi T, Hara T, Kinoshita T, Miyajima A. "Cultivation of aorta-gonad-mesonephros-derived hematopoietic stem cells in the fetal liver microenvironment amplifies long-term repopulating activity and enhances engraftment to the bone marrow" BLOOD 2002 Feb 15;99(4):1190-6.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から厚生労働科学研究費補助金「肝細胞移植系の確立と肝幹細胞の分離および培養」(2001～2004 年度)、科学研究費補助金 特定研究領域「肝細胞の発生・増殖・

⁵¹ 東京大学分子生物学研究所 宮島研究室 <http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/cytokine/research/oval.html>

⁵² 東京大学分子生物学研究所 宮島研究室 <http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/cytokine/research/oval.html>

⁵³ Tanimizu N, Tsujimura T, Takahide K, Kodama T, Nakamura K, Miyajima A. "Expression of Dlk/Pref-1 defines a subpopulation in the oval cell compartment of rat liver" GENE EXPRESSION PATTERNS 2004 Dec;5(2):209-18.

分化の分子機構」(2003～2004年度)、科学研究費補助金 特定研究領域「肝細胞のがん化における分化制御の異常」(2005～2009年度)など、肝芽細胞の分化過程解明などの基礎研究が行われてきた。特に本研究領域の研究成果を引き継ぐ「肝細胞のがん化における分化制御の異常」(2005～2009年度)では肝細胞分化に関与する転写因子や細胞膜タンパク質の機能解析が行われ、肝細胞の分化、とりわけ出生時期における劇的な遺伝子発現変化の分子基盤が解明された。その他に、科学研究費補助金基盤研究(B)「胸腺上皮細胞の機能と遺伝子発現の解析」(2002～2003年度)や科学研究費補助金基盤研究(B)「SLEモデルとしてのOncostatin M欠損マウスの自己免疫疾患発症機構の解析」(2006～2007年度)に採択された。本研究領域終了後は、科学研究費補助金基盤研究(A)「発生・病態における肝幹細胞を中心とする細胞間相互作用」(2010～2012年度)や科学研究費補助金新学術領域研究(研究領域提案型)「肝臓における造血細胞の運命決定に関わる環境因子の解析」(2010～2014年度)において研究が継続されている。またCREST研究領域「人工多能性幹細胞(iPS細胞)作製・制御等の医療基盤技術」の「肝分化指向性iPS細胞からの高機能性肝組織の構築」(2010～2014年度)において、本研究領域で得られた肝幹細胞に関する研究成果を基盤とした研究が進行中である。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後も本研究領域において確立された肝臓の各種細胞の分離精製方法の基盤技術を活用して研究が進められた。重篤な肝障害時に出現し、幹細胞の性質を持ったオーバル細胞の性状解析を進める中で、オーバル細胞と近接してThy1陽性細胞が存在することが発見され^[1,2]、Thy1陽性細胞がオーバル細胞の肝細胞ニッチ環境を形成し、ニッチ環境を形成するシグナル分子としてFGF7が機能している可能性が示された^[3]。オーバル細胞は肝実質細胞及び胆管上皮細胞に分化・増殖することにより肝臓の再生を行うことが知られ、再生医療の材料としても注目されており、オーバル細胞の由来、性状、増殖・分化機構についての解明が進められている。また、新学術領域「肝臓における造血細胞の運命決定に関わる環境因子の解析」(2010～2014年度)において、胎児肝臓の造血機能のさらなる検討が進められている。胎児肝臓細胞の詳細な分類と造血因子の発現解析により造血因子SCF(stem cell factor)、TPO(Thrombopoietin)、EPO(erythropoietin)、はDLK1+の肝芽細胞で強く発現しており、本研究領域の研究成果を支持する成果が得られた^[2]。胎児肝芽細胞に発現するDlkは肝細胞がんなどに発現する胎児性がん抗原であり^[4]、これを標的とするがん治療抗体の開発につながった。また近年は、組織幹細胞の分離培養法に基づき、iPS細胞から膵臓細胞や肝臓細胞を分化誘導する方法の開発も開始された⁵⁴。臨床応用を目指した研究として、肝硬変の新規治療法の開発に取り組んでいる。肝硬変患者に対する次世代の治療法として「自己骨髄細胞投与療法(ABMi療法)」を開発した山口大学の研究グループとの共同研究により、マウス肝硬変モデルを用いて投与骨髄細胞が肝線維化改善に寄与するメカニズムの詳細を細胞レベルおよび分子レベルで解明することに取り組んでいる。

② 社会・経済的波及効果

⁵⁴ Saito, H ; Takeuchi, M ; Chida, K ; Miyajima, A” Generation of Glucose-Responsive Functional Islets with a Three-Dimensional Structure from Mouse Fetal Pancreatic Cells and iPS Cells In Vitro” PLOS ONE December 01, 2011.

宮島らの iPS 細胞を用いた膵臓の組織再生に関する新聞報道が最近 1 年間で 28 件あった。実用化段階にある再生医療には、培養表皮、培養軟骨の利用があり、将来的には心臓、肝臓、膵臓、肺などのバイタルな臓器の培養とその移植が求められているが現時点で臓器そのものを培養する技術は確立されていない。宮島 篤らの iPS 細胞からの膵臓細胞や肝臓細胞の分化誘導研究は、成体組織幹細胞の制御や臓器再生の普遍的な原理の理解、様々な肝疾患の原因究明や治療法の確立にも役立つと考えられる。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト（4 報以内）

- [1] Okabe M, Tsukahara Y, Tanaka M, Suzuki K, Saito S, Kamiya Y, Tsujimura T, Nakamura K, Miyajima A. " Potential hepatic stem cells reside in EpCAM+ cells of normal and injured mouse liver. *Development*. 2009 Jun;136(11):1951-60.
- [2] Tanaka M, Itoh T, Tanimizu N, Miyajima A. " Liver stem/progenitor cells: their characteristics and regulatory mechanisms." *JOURNAL OF BIOCHEMISTRY* 2011 Mar;149(3):231-9.
- [3] Takase HM, Itoh T, Ino S, Wang T, Koji T, Akira S, Takikawa Y, Miyajima A. " FGF7 is a functional niche signal required for stimulation of adult liver progenitor cells that support liver regeneration" *GENES & DEVELOPMENT* 2013 Jan 15;27(2):169-81.
- [4] Yanai, H; Nakamura K; Hijioka S; Kamei A; Ikari T; Ishikawa Y; Shinozaki E; Mizunuma N; Hatake K; and Miyajima A. Dle, a cell surface antigen on foetal hepatic stem/progenitor cells, is expressed in hepatocellular, colon, pancreas and breast carcinoma at a high frequency. *JOURNAL OF BIOCHEMISTRY*. March 2010; 148:85-92.

④ その他

文部科学省再生医療実現拠点ネットワークプログラムにおいて、疾患・組織別実用化研究拠点に選出された。次世代型膵臓移植法の開発拠点として、ヒト iPS 細胞から膵臓を作り 1 型糖尿病患者に移植する治療法の開発を進めている⁵⁵

⁵⁵科学技術振興機構 再生医療実現拠点ネットワーク事業 http://www.jst.go.jp/saisei-nw/kadai_05.html

3.3 2003 年度採択課題

3.3.1 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（菊谷仁）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究が開始される以前に、Sema (Semaphorin) 4A と Sema4D の 2 つのセマフォリン分子が免疫系で発現し重要な免疫調節機構を有していることが報告されていた⁵⁶。神経回路軸索ガイダンス因子として知られてきたセマフォリンが、「免疫セマフォリン」という新たな免疫制御分子ファミリーを形成していることの世界で初めての報告であった。本研究では「セマフォリンによる免疫調節機構」という免疫学分野に新たな領域を確立すること、それを基盤にした免疫病治療の開発を目指した。

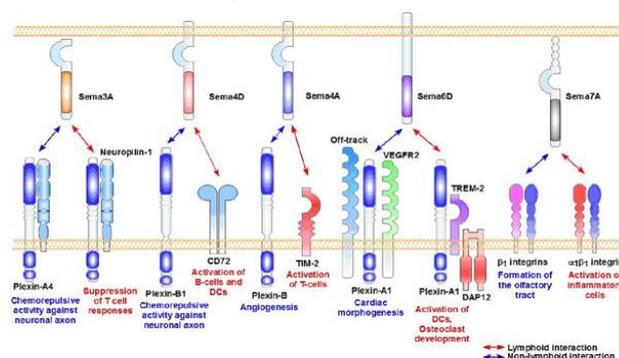


図 3-13 代表的な免疫セマフォリン⁵⁷

② 期間中の研究成果

(i) Sema4D (CD100) シグナル伝達と B 細胞のホメオスタシスの維持

Sema4D はセマフォリンファミリーのなかで免疫系において生理的な機能が初めて報告されたセマフォリンである。Sema4D は B 細胞の抑制型受容体 CD72 が BCR (B cell receptor) 複合体へ会合する反応を阻害し、その結果 BCR を介したシグナル伝達が増強されることが明らかとなった。Sema4D を欠損する B 細胞は野生型 B 細胞と比較して生体内におけるターンオーバーが著しく低下しており、Sema4D による BCR シグナルの調節 (fine tuning) が B 細胞の恒常性維持に必須の役割を果たしていることが示された⁵⁸。

(ii) Sema4A による T 細胞 (Th1 細胞) の分化制御

In vitro で Sema4A 欠損 T 細胞の分化実験を行った所、Th1 細胞への分化が著しく抑制されていた。Sema4A 欠損マウスは Th1 反応を強力に誘導する *P. acnes* (*Propionibacterium acnes*) が接種されても INF- γ を産生する T 細胞の出現が認められなかった (INF- γ は Th1 細胞が

⁵⁶ Kumanogoh A¹, Marukawa S, Suzuki K, Takegahara N, Watanabe C, Ch'ng E, Ishida I, Fujimura H, Sakoda S, Yoshida K, Kikutani H. "Class IV semaphorin Sema4A enhances T-cell activation and interacts with Tim-2." NATURE 2002 Oct 10;419(6907):629-33.

⁵⁷ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター 菊谷研究室

<http://www.ifrec.osaka-u.ac.jp/jpn/laboratory/moleculairimmunology/outline.php>

⁵⁸ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei15/menneki/kikutani.pdf

産生する Th1 サイトカインである)。以上より Sema4A は Th1 細胞分化に必須の役割を果たしていることが明らかになった⁵⁹。

(iii) Sema7A の T 細胞依存性炎症反応における役割

炎症局所における活性化 T 細胞やマクロファージによる抗原特異的な結合には Sema7A と $\alpha 1 \beta 1$ インテグリン/VLA1 相互作用による免疫シナプスの形成が必要であり、Sema7A 欠損 T 細胞は局所において炎症反応を惹起することが出来ないことが明らかになった。Sema7A は活性化 T 細胞に特異的に発現し、局所における炎症反応に関与していることが初めて報告された^[2]。

(iv) Sema6D による心臓形成

Sema6D は受容体 Plexin-A1 を介して心臓の初期形成、特に心室の形成に必須の役割を果たしており、特に受容体として機能して肉柱形成に寄与し Plexin-A1 からの逆行性シグナルを心筋細胞に伝達していることが明らかになった^[2]。

(v) Plexin-A1 の T 細胞活性化における役割

Sema6D および Plexin-A1 は免疫細胞においても発現しており、Sema6D は樹状細胞に対して種々の炎症性サイトカインの産生や補助刺激分子の発現を誘導する。Plexin-A1 欠損マウスを用いた解析により、Plexin-A1 は Plexin-A1 から樹状細胞に入力されるシグナル伝達経路を介して T 細胞による免疫反応を制御していることが示された。また、破骨細胞の分化や骨形成の制御にも関与していることが明らかになった。シグナル伝達経路の解析の結果、樹状細胞、破骨細胞において Plexin-A1 が Trem-2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2) や Dap (death-associated protein)-12 と複合体を形成していることが明らかになった。ヒトにおいて DAP12、TREM-2 に遺伝子変異を有する Nasu-Hakola 病で大理石骨病の発症が報告されていることから、Plexin-A1 が TREM-2、DAP12 と会合して Sema6D のシグナルを伝え、破骨細胞の機能制御にも関与していることが強く示唆された^[3]。

(vi) Plexin-4A による T 細胞反応の抑制的制御

免疫系において Plexin-4A が Neuropilin-1 と複合体を形成し Sema3A の受容体として機能することで T 細胞活性化を負に制御していることが明らかになった⁶⁰。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Suzuki K, Okuno T, Yamamoto M, Pasterkamp RJ, Takegahara N, Takamatsu H, Kitao T, Takagi J, Rennert PD, Kolodkin AL, Kumanogoh A, Kikutani H. "Semaphorin 7A initiates T-cell-mediated inflammatory responses through alpha 1 beta 1 integrin" NATURE 2007 Apr 5;446(7136):680-4.
- [2] Toyofuku T, Zhang H, Kumanogoh A, Takegahara N, Suto F, Kamei J, Aoki K, Yabuki

⁵⁹ Kumanogoh A¹, Shikina T, Suzuki K, Uematsu S, Yukawa K, Kashiwamura S, Tsutsui H, Yamamoto M, Takamatsu H, Ko-Mitamura EP, Takegahara N, Marukawa S, Ishida I, Morishita H, Prasad DV, Tamura M, Mizui M, Toyofuku T, Akira S, Takeda K, Okabe M, Kikutani H. "Nonredundant roles of Sema4A in the immune system: Defective T cell priming and Th1/Th2 regulation in Sema4A-deficient mice" IMMUNITY 2005 Mar;22(3):305-16.

⁶⁰ Yamamoto M¹, Suzuki K, Okuno T, Ogata T, Takegahara N, Takamatsu H, Mizui M, Taniguchi M, Chédotal A, Suto F, Fujisawa H, Kumanogoh A, Kikutani H. "Plexin-A4 negatively regulates T lymphocyte responses" INTERNATIONAL IMMUNOLOGY 2008 Mar;20(3):413-20.

M, Hori M, Fujisawa H, Kikutani H.” Dual roles of Sema6D in cardiac morphogenesis through region-specific association of its receptor, Plexin-A1, with off-track and vascular endothelial growth factor receptor type 2.” *Genes Dev.* 2004 Feb 15;18(4):435-47.

- [3] Takegahara N, Takamatsu H, Toyofuku T, Tsujimura T, Okuno T, Yukawa K, Mizui M, Yamamoto M, Prasad DV, Suzuki K, Ishii M, Terai K, Moriya M, Nakatsuji Y, Sakoda S, Sato S, Akira S, Takeda K, Inui M, Takai T, Ikawa M, Okabe M, Kumanogoh A, Kikutani H.” Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis” *NATURE CELL BIOLOGY* 2006 Jun;8(6):615-22.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から、科学研究費補助金 特定研究領域「免疫系ホメオスタシスを制御するシグナルの解析」（2001～2005 年度）、科学研究費補助金基盤研究（A）「ガイダンス因子による臓器形成の制御機構」（2006～2007 年度）で研究が進められ、本研究領域終了後には、科学研究費補助金基盤研究（S）「ガイダンス因子による免疫制御機構」（2008～2012 年度）の競争的研究資金を受けた。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域において得られた免疫セマフォリンファミリーに関する知見を元に研究が発展した。特に Th1 と Th2 の分化において重要な役割を果たしている事が明らかとなった Sema4A 分子に注目して研究が継続された。過剰な Th2 型免疫反応が原因で気道アレルギーを発症するモデルマウスの Sema4A を欠損させると好酸球数と T 細胞による IL-4 分泌量が増大していることが分かり、Sema4A が Th2 型の気道アレルギーにおいて抑制的に働いていることが明らかになった^[1]。さらにセマフォリンのシグナル伝達を解析する過程において、セマフォリン受容体の下流分子 Rho GTPase に結合することが知られている PKN1 が全く新規の分子機構によって B 細胞受容体の下流の Akt を抑制的に制御し、高親和性 B 細胞のセレクションに関わっていることが発見された^[2]。また、PKN1 欠損マウスにおいては T 細胞の生体内の分布に異常があることが分かり、この発見はリンパ球のガイダンス機構の解明につながる可能性がある^[2]。

② 社会・経済的波及効果

これまで、セマフォリン分子は神経系における機能に注目して研究されてきたが、本研究領域において初めて免疫学的役割に注目した検討がなされた。本研究領域を通じて「免疫セマフォリンファミリー」というあらたな免疫制御機構の存在を提唱した意義は大きい。近年は菊谷 仁らの研究を追従し欧米の研究グループも免疫セマフォリンファミリーの研究を進めている。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト（4 報以内）

- [1] 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” *PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA* “ 2012 Dec 18;109(51):21022-7.
- [2] Nkyimbeng-Takwi EH, Shanks K, Smith E, Iyer A, Lipsky MM, Detolla LJ, Kikutani H, Keegan AD, Chapoval SP.” Neuroimmune semaphorin 4A downregulates the severity of allergic response” *MUCOSAL IMMUNOLOGY* 2012 Jul;5(4):409-19.
- [3] Wannemacher KM, Zhu L, Jiang H, Fong KP, Stalker TJ, Lee D, Tran AN, Neeves KB, Maloney S, Kumanogoh A, Kikutani H, Hammer DA, Diamond SL, Brass

LF."Diminished contact-dependent reinforcement of Syk activation underlies impaired thrombus growth in mice lacking Semaphorin 4D" BLOOD 2010 Dec 16;116(25):5707-15.

④ その他

菊谷は2009年に「セマフォリン分子群による免疫制御機構の研究」によって文部科学大臣表彰・科学技術賞を受賞している。

3.3.2 制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発（坂口志文）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

制御性 T 細胞による免疫応答の抑制的制御は、免疫自己寛容または、生体の恒常性維持に重要であり、制御性 T 細胞の機能的異常はヒトの自己免疫疾患、アレルギー疾患などの直接の原因となりうる。本研究では CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞（右肩の+は遺伝子の発現を表している）の分化機構と免疫抑制機能を分子レベル、細胞レベル、個体レベルで解明することを目的とした。臨床面では制御性 T 細胞による自己免疫疾患の治療法の開発、制御性 T 細胞の強化による臓器移植時の免疫寛容導入療法あるいは減弱による腫瘍免疫誘導法、さらに制御性 T 細胞機能の操作による感染症・アレルギー治療法の開発を目指した。

② 期間中の研究成果

(i) Treg(regulatory T cell)の発生・機能における Foxp3 の役割

本研究により CD25⁺CD4⁺Treg の発生・分化に Foxp3 遺伝子が必須であることが判明した^[1]。Foxp3 は胸腺、抹消の CD25⁺CD4⁺Treg に特異的に発現しているが、ナイーブ T 細胞に Foxp3 を強制発現させると、機能的にも表現型的にも Treg 様細胞に転換され、生体内で自己免疫性炎症を抑制することが明らかになった。以上はマウス細胞を用いた結果であったが、ヒト T 細胞に Foxp3 を強制発現させると同様に Treg 様細胞に転換できることが示されたことから、Foxp3 遺伝子操作によりヒト自己免疫病、炎症性疾患の治療の可能性が示された。また、Yeast-Two-Hybrid 法を用いて Foxp3 と結合する転写因子 AML1(acute myeloid leukemia 1)/Runx1 が同定され、Foxp3 は Treg においてサイトカイン産生に抑制的に働くことが明らかとなった。Foxp3 により発現量の調節を受ける遺伝子として IL-2 と CTLA-4(Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4)が挙げられる。これらの分子に注目し、抗 IL-2 抗体の投与により Treg の細胞数を減少させることや Treg の細胞数の減少により自己免疫病が誘導されることが明らかになり、Treg による広範な免疫応答制御機構の存在が示された^[2]。

(ii) Treg 機能の分子機構

Foxp3 の発現により正常 T 細胞を制御性 T 細胞へ転換することができる。CTLA-4(Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4)の Treg 細胞特異的ノックアウトマウスを作出し、その誘導機構について解析が行なわれた。この条件的遺伝子欠損マウスは致死的な自己免疫病を発症し、さらに腫瘍細胞に対する強い抗腫瘍免疫活性を獲得していた。さらに制御性 T 細胞に特異的に CTLA-4 を欠損しているマウスを解析したところ、CTLA-4 が抗原提示細胞である樹上細胞上の CD80/CD86 分子の発現を抑制することにより T 細胞の活性化を阻害することが判明した。このように Foxp3 は CTLA-4 発現量調節を介して T 細胞の活性化を制御していることが示された^[3]。

(iii) Treg の分子操作による免疫応答制御

Treg に発現する CTLA-4 などの分子の機能を阻害することで Treg による免疫応答の制御が可能であり、臨床応用を目指した検討が開始された。Treg に特異的に発現する 4 型葉酸受容体 (FR4) を特異抗体によって阻害することで Treg の減少と個体レベルでの腫瘍免疫の

惹起に成功した。これは FR4 が単に Treg の特異的マーカーとなるだけでなく、Treg を標的とした創薬に繋がる成果である。臨床面では、Treg を試験管内においてアロ抗原特異的に増殖させた後、患者に戻すことにより移植免疫寛容を誘導できる可能性を示した。IL-2 の中和抗体を用いた検討で Treg が選択的に減少するという実験結果から、Treg において発現が見られる IL-2 受容体/CD25 が単なる Treg のマーカー分子ではなく Treg 機能の発揮に必須であることが明らかになった⁶¹。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト（3 報以内）

- [1] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. "Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3." *Science*.(2003) Feb 14;299(5609):1057-61.
- [2] Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S. "Homeostatic maintenance of natural Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization." *J. Exp. Med.* (2005) 201:723-735.
- [3] Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, Nomura T, Sakaguchi S. "CTLA-4 control over Foxp3⁺ regulatory T cell function." *Science*. (2008) Oct 10;322(5899):271-5.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域と並行して、科学研究費特定領域研究「免疫系ホメオスタシスの維持と破綻—自己免疫の解明と修復を目指して—」（2001～2006 年度）において制御性 T 細胞による自己寛容の維持機構についての研究が進められた。本研究領域と特定領域研究の両方を通じて、制御性 T 細胞の発生・機能に関与する Foxp3 およびその関連分子を世界に先駆けて同定した。また、ヒト関節リウマチと酷似する関節炎を自然発症するマウス系統を樹立し、その疾患原因遺伝子を同定するとともに、その関節炎発症機構を解析するなど免疫自己寛容の維持機構、自己免疫病の発症機構に関する成果が得られ、免疫学に多大なインパクトを及ぼした。本研究領域終了後は科学研究費補助金特別推進研究「制御性 T 細胞機能の分子的基础に関する研究」（2008～2013 年度）において Treg の TCR (T cell receptor) レパートリー形成に関する ZAP-70 (Zeta-chain-associated protein kinase 70) の役割など免疫の分子機構に関する基礎的な研究が継続された。臨床応用面ではこれまでのマウスの研究で得られた Treg に関する成果を受けて、ヒト Treg を標的としたがん免疫療法の開発が進行している。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後もマウスやヒトの Treg について様々な遺伝子改変マウスが作製され、分子、細胞レベルでの Treg の発生機構、抑制機構、機能安定性の維持機構について研究が継続された。Foxp3 の Treg の抑制機構における役割について詳細な研究が行なわれ、構成的に Foxp3 を発現させることによる Treg の免疫制御における役割が明らかになった^[1]。さらに、IL-2 と CTLA-4 発現制御により、より自己認識能が高い Treg の産生が可能となることが報告されている^[2]。また、Treg 細胞の系譜を決定する要因として Foxp3 タンパク質の発現の有無だけではなく非ゲノム情報であるエピゲノムについて全ゲノムに渡る Treg 細胞の DNA メチル化パターンが解析された。その結果、Foxp3 の発現変化と Treg 特異的エピゲノム変化は独立した事象であり、両者が協調して Treg の分化に関わることが示唆された^[3] (図 3-14)。その他、自己免疫疾患である関節リウマチの基礎研究として関節リウマチモ

⁶¹ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei15/menneki/sakaguchi.pdf

デルマウスである SKG マウスを用いて、T 細胞シグナル分子 ZAP70 の一塩基突然変異に着目した発症メカニズム解析研究が行われている。

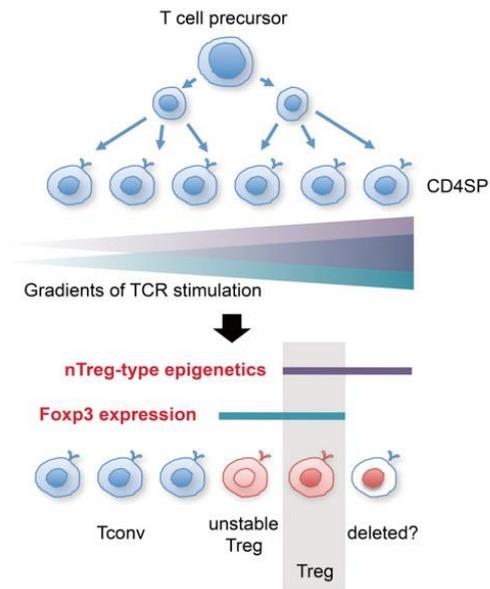


図 3-14 制御性 T 細胞の分化段階と Foxp3 の発現との関係⁶²

⁶²大阪大学免疫学フロンティア研究センター坂口研究室 http://exp.immunol.ifrec.osaka-u.ac.jp/?page_id=19

② 社会・経済的波及効果

自己免疫疾患治療を見据えた Treg 誘導において、従来の Foxp3 誘導だけでなく Treg 型エピゲノム誘導による T 細胞の完全な分化誘導が必要であり、制御性 T 細胞の活性化に基づく自己免疫疾患治療、抑制による抗がん治療の可能性を探る研究が展開されている。また制御性 T 細胞の機能を調節する薬剤候補が得られ、臨床研究が計画されている。抗 CCR4 抗体の投与によりヒト制御性 T 細胞の働きを抑制することにより抗腫瘍効果認められた^[4]。今後の研究により、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できる。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト（4 報以内）

- [1] Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A, Parizot C, Taflin C, Heike T, Valeyre D, Mathian A, Nakahata T, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M, Amoura Z, Gorochov G, Sakaguchi S. “Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the Foxp3 transcription factor.” *Immunity*. (2009) Jun 19;30(6):899-911
- [2] Kitoh, A., Ono, M., Naoe, Y., Ohkura, N., Yamaguchi, T, Yaguchi, H., Kitabayashi, I., Tsukada, T., Nomura, T., Miyachi, Y., Taniuchi, I., and Sakaguchi, S. “Indispensable role of the Runx1-Cbfbeta transcription complex for in vivo-suppressive function of Foxp3+ regulatory T cells.” *Immunity*. (2009) Oct 16;31(4):609-20
- [3] Ohkura N, Hamaguchi M, Morikawa H, Sugimura K, Tanaka A, Ito Y, Osaki M, Tanaka Y, Yamashita R, Nakano N, Huehn J, Fehling HJ, Sparwasser T, Nakai K, Sakaguchi S. “T Cell Receptor Stimulation-Induced Epigenetic Changes and Foxp3 Expression Are Independent and Complementary Events Required for Treg Cell Development” *Immunity*. (2012) Nov 16;37(5):785-99.
- [4] Sugiyama D, Nishikawa H, Maeda Y, Nishioka M, Tanemura A, Katayama I, Ezoe S, Kanakura Y, Sato E, Fukumori Y, Karbach J, Jäger E, Sakaguchi S. “Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans.” *PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA* (2013) Oct 29;110(44):17945-50.

④ その他

坂口は 2007 年に文部科学大臣表彰科学技術賞を、2008 年には「免疫応答のブレーキ役となるリンパ球（制御性 T 細胞）を発見し、制御性 T 細胞の機能、各種免疫疾患における役割の解明、さらにこの細胞の発生の鍵となる遺伝子を同定」した業績で慶応医学賞を受賞し、2009 年に紫綬褒章を受賞した。2011 年に「制御性 T 細胞の発見を通じた免疫寛容の解明」によって朝日賞、2012 年に学士院賞を受賞した。2012 年に米国科学アカデミー外国人会員に選出された。また 2013 年には大阪大学から特別教授の称号が付与された。

3.3.3 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（笹川千尋）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

本研究は赤痢菌をモデルとして、病原細菌の腸粘膜バリアーへの普遍的な感染機構を解明し、その知見をワクチン開発や感染動物モデルの開発へ応用することを目指した。具体的には赤痢菌の持つⅢ型分泌装置を通じて赤痢菌が分泌するエフェクター分子と宿主側標的因子の相互作用の解析を行い、赤痢菌の感染と自然免疫抑制・回避メカニズムについて検討した。またこれらの知見を利用し、弱毒化赤痢ワクチンおよび感染モデル動物の開発を検討した。

② 期間中の研究成果

(i) 赤痢菌の感染におけるエフェクター機能の役割の検討

赤痢菌が腸上皮細胞に対して感染した際にⅢ型分泌装置から分泌されるエフェクター分子（IpgB1、IpgB2、VirA）に注目し検討が行なわれた。赤痢菌の細胞侵入時に腸上皮細胞の側底面に作られる大規模なラッフル膜の形成に IpgB1 が関与していることが明らかとなった。このラッフル膜の形成は IpgB1 と ELM0-Dock180 複合体の結合によって引き起こされる Rac1 の活性化を通じて起こることが示された。IpgB2 は IpgB1 と競合的に働き IpgB1 により形成されるラッフル膜の終結に関与していることが示唆された。また VirA は赤痢菌が細胞侵入後に細胞質中を移動する際に物理的障害となっている微小管の破壊に必要であることが明らかになった^[1]。

(ii) 免疫抑制、生体防御回避に関わるエフェクターの役割の検討

炎症抑制に関わるエフェクター

赤痢菌は腸粘膜へ感染後、上皮細胞内では菌体から遊離するペプチドグリカンによって炎症性サイトカイン、ケモカイン、抗菌性ペプチドの産生を誘導し、また貪食されたマクロファージ内では菌体から遊離した LPS 成分により炎症性サイトカイン、ケモカイン、抗菌性ペプチドの産生を誘導する。これらの免疫反応は赤痢菌を排除するために働くが、赤痢菌はこれらの免疫反応に対抗するために自然免疫を抑制もしくは回避するメカニズムを有している。これに関連してⅢ型分泌装置から分泌されるエフェクター分子として赤痢菌に共通した IpaH 遺伝子（ipaH9.8、ipaH7.8、ipaH4.5、ipaH0722、ipaH1383、ipaH1880、ipaH2610、ipaH0887、ipaH2022、ipaH2202）が存在することが明らかになった。ipaH9.8 は核内ではスプライシングファクターである U2AF³⁵ と結合し炎症性サイトカインを含む多数の遺伝子発現を抑制し、細胞質中では NF- κ B (nuclear factor-kappa B) の活性化状態を調節している NEMO (NF- κ B essential modulator) に対する E3 リガーゼとして働き、プロテアソームによる分解を誘導することで NF- κ B の活性化を抑制することが判明した⁶³。

⁶³ Seyedarabi A¹, Sullivan JA, Sasakawa C, Pickersgill RW." A disulfide driven domain swap switches off the activity of Shigella IpaH9.8 E3 ligase." FBES LETTERS 2010 Oct 8;584(19):4163-8.

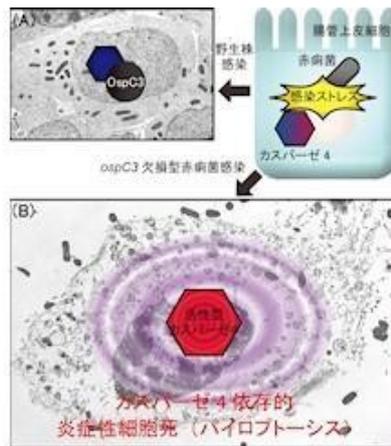


図 3-15 細菌感染時における細胞死により細菌除去⁶⁴

(iii) オートファジー回避に関わるエフェクター

赤痢菌がⅢ型分泌装置から分泌する IcsB が細胞室内におけるオートファジーの回避に不可欠であること、また赤痢菌が細胞内を移動するのに必要な VirG がオートファジーの標的になることが明らかになった^[2]。

(iv) 上皮細胞維持

病原菌の粘膜への定着を防ぐための生体防御機構として腸粘膜細胞のターンオーバーが挙げられる。赤痢菌のⅢ型分泌装置から分泌される IpaB が腸前駆体細胞において、細胞周期調節に関わる Mad2L2 に結合することで核内に移行し、サイクリン B1 をユビキチン化し細胞周期抑制に関わっていることが明らかにされた^[3]。同じくⅢ型分泌装置から分泌される OspE が ILK (Integrin-linked Kinase) への結合を通じて感染細胞が基底膜から剥離することを抑止していることが明らかになった^[3]。

(v) 赤痢菌のマクロファージ細胞死誘導機構の解明とその応用

・細胞死誘導

赤痢菌はマクロファージに取り込まれたのちマクロファージの細胞死を誘導する。その原因物質はリピド A を含む画分に含まれることが明らかになった⁶⁵。

・ワクチンへの応用

細胞侵入能を有している弱毒化赤痢菌ワクチンはマクロファージの細胞死を誘導し副作用として炎症を引き起こす。赤痢菌の細胞侵入性欠損株 (ipaB) をさらに遺伝改変することで、マクロファージに侵入することはできるがマクロファージ食胞からの離脱が不能となり、マクロファージの細胞死が全く誘導されない変異株を得ることに成功した。この変異株をマウスに投与したところ赤痢菌の LPS に対する IgG、IgA 抗体価が有意に上昇した⁶⁶。

⁶⁴ 東京大学記者発表資料 http://www.u-tokyo.ac.jp/public/pdf/20130516_01.pdf

⁶⁵ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei15/menneki/sasakawa.pdf

⁶⁶ 研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei15/menneki/sasakawa.pdf

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Yoshida S, Handa Y, Suzuki T, Ogawa M, Suzuki M, Tamai A, Abe A, Katayama E, Sasakawa C.” Microtubule-severing activity of Shigella is pivotal for intercellular spreading.” *Science*. 2006 Nov 10;314(5801):985-9.
- [2] Ogawa M, Yoshimori T, Suzuki T, Sagara H, Mizushima N, Sasakawa C.” Escape of intracellular Shigella from autophagy” *Science* 2005 Feb 4;307(5710):727-31
- [3] Iwai H, Kim M, Yoshikawa Y, Ashida H, Ogawa M, Fujita Y, Muller D, Kirikae T, Jackson PK, Kotani S, Sasakawa C.” A bacterial effector targets Mad2L2, an APC inhibitor, to modulate host cell cycling. *Cell*. 2007 Aug 24;130(4):611-23.

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から科学研究費補助金基盤研究 (B) 「ヘリコバクター・ピロリのエフェクタータンパク質の機能と胃粘膜感染機構の研究」 (2003～2004 年度)、科学研究費補助金特定研究領域「細胞外増殖性グラム陰性菌の増殖・生活環および病原性発現機構の研究」 (2006～2010 年度)、また、本研究領域終了後に科学研究費補助金基盤研究 (S) 「赤痢菌の腸粘膜バリアー感染戦略の解明」 (2008～2012 年度)、科学研究費補助金特別推進事業「病原細菌の自然免疫克服戦略の解明とその応用」 (2011～2016 年度) において研究が進められた。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、赤痢菌が感染後に上皮細胞の細胞死を誘導するエフェクター分子の同定が進められ、赤痢菌をはじめサルモネラ菌や腸管出血性大腸菌が上皮細胞に感染すると、宿主細胞に生体防御反応としてカスパーゼ 4 依存的な細胞死が誘導されることが明らかになった⁶⁷。また、カスパーゼ 4 を特異的に阻害するエフェクター蛋白質 OspC3 を同定した^{68, 59}。OspC3 遺伝子を欠損した赤痢菌を上皮細胞へ感染させるとカスパーゼ 4 に依存的な炎症性細胞死が惹起され、感染した細胞が排除されることが細胞および動物個体のレベルにおいて明らかになった。また細胞内に取り込まれたマクロファージに対しても赤痢菌のⅢ型分泌装置から分泌される IpaH7.8 が glomulin を標的にした E3 リガーゼとして働くことでインフラマソームを活性化し、ピロトーシスを引き起こすことが明らかになった⁶⁹。

また、赤痢菌が隣接細胞に感染を拡大する際には二重の形質膜からなる偽足と呼ばれる突起を隣接する細胞に挿入して PI3K を活性化し、偽足の取り込みには Clathrin 依存的なエンドサイトーシスが関与していることが示された。赤痢菌に対する治療薬としての化合物の探索では、東大創薬イノベーションセンターとの共同研究で、赤痢菌の IpaH のユビキチンリガーゼ活性を阻害する化合物の小規模スクリーニングを実施し、いくつかの候補化合物を得た⁷⁰。

⁶⁷ 自己評価報告書 <http://kaken.nii.ac.jp/pdf/2010/hyoka/jsps/12601/20229006hyoka.pdf>

⁶⁸ Ashida H¹, Kim M, Schmidt-Supprian M, Ma A, Ogawa M, Sasakawa C. “A bacterial E3 ubiquitin ligase IpaH9.8 targets NEMO/IKK gamma to dampen the host NF-kappa B-mediated inflammatory response” *NATURE CELL BIOLOGY* 2010 Jan;12(1):66-73; sup pp 1-9.

⁷⁰ 病原細菌の自然免疫克服戦略の解明とその応用 2011 年 研究実績報告書
<http://kaken.nii.ac.jp/d/p/23000012/2011/3/ja.ja.html>

② 社会・経済的波及効果

以上の研究成果は乳幼児にも適応可能な、炎症反応を引き起こさない弱毒性ワクチンの開発に資するものである。さらなる赤痢菌の感染メカニズム解明と自然感染動物モデルが早期に確立されることで、ワクチン開発が飛躍的に進むと考えられるため、国際保健的な意義が認められる。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト（4報以内）

- [1] Sanada T, Kim M, Mimuro H, Suzuki M, Ogawa M, Oyama A, Ashida H, Kobayashi T, Koyama T, Nagai S, Shibata Y, Gohda J, Inoue J, Mizushima T, Sasakawa C." The *Shigella flexneri* effector OspI deamidates UBC13 to dampen the inflammatory response." *NATURE*. 2012 Mar 11;483(7391):623-6. doi: 10.1038/nature10894
- [2] Fukumatsu M, Ogawa M, Arakawa S, Suzuki M, Nakayama K, Shimizu S, Kim M, Mimuro H, Sasakawa C." *Shigella* targets epithelial tricellular junctions and uses a noncanonical clathrin-dependent endocytic pathway to spread between cells." *CELL HOST & MICROBE*. 2012 Apr 19;11(4):325-36.
- [3] Hiroshi Ashida, Hiroyasu Nakano, Chihiro Sasakawa "Shigella IpaH0722 E3 Ubiquitin Ligase Effector Targets TRAF2 to Inhibit PKC-NF-kappa B Activity in Invaded Epithelial Cells" *PLOS Pathogens*. 2013 June; 9(6)
- [4] Yoshikawa Y, Ogawa M, Hain T, Yoshida M, Fukumatsu M, Kim M, Mimuro H, Nakagawa I, Yanagawa T, Ishii T, Kakizuka A, Sztul E, Chakraborty T, Sasakawa C." *Listeria monocytogenes* ActA-mediated escape from autophagic recognition." *NATURE CELL BIOLOGY*. 2009 Oct;11(10):1233-40.

④ その他

笹川は2012年、感染生物学領域を創成した貢献が評価され、紫綬褒章を授賞した。また、2012年より日本微生物学連盟の理事長、および2013年より千葉大学真菌医学研究センター・センター長を務めている。さらに2014年には、米国微生物学会（American Society for Microbiology）の米国微生物アカデミー会員（American Academy of Microbiology）へ選出された。

3.3.4 真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立（山中 伸弥）

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

ES (Embryonic stem cells)細胞と体細胞を融合すると体細胞の核が初期化されることから、ES 細胞に初期化因子が存在していることが想定されていた。山中伸弥らはES 細胞で特異的に発現している遺伝子群 ECATs (ES cell associated transcripts) を同定し、これらの遺伝子の機能解析を進めてきた。本研究は、これらの遺伝子群の解析によりES 細胞が有する多能性維持機構を解明し、体細胞から分化多能性を有し、かつ免疫源性や倫理的問題の無い、幹細胞を作り出すことを目指した。

② 期間中の研究成果

(i) マウス線維芽細胞からの多能性幹細胞の創出

ES 細胞の特性維持に関与する遺伝子群 ECAT s には Nanog、ERas、Fbx15 などが含まれている。これらのES 細胞の多能性維持に関わる遺伝子は、体細胞の核を初期化して多能性を誘導する因子であるという仮説を立て、線維芽細胞の核を初期化し、多能性を誘導する因子の同定が試みられた。検討の結果、胚仔線維芽細胞、マウス尾部皮膚の線維芽細胞に4 因子 (Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc) を導入することで、ES 細胞類似の形態を有し、分化多能性を有する iPS 細胞を誘導することに成功した^[1]。

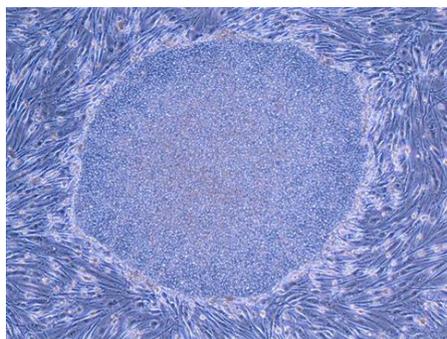


図 3-12 iPS 細胞⁷¹

(ii) 生殖系列への伝承が可能な iPS 細胞の樹立

初めて iPS 細胞の誘導に成功した際には、ES 細胞マーカーとして Fbx15 プロモーターが用いられたが、この方法により得られた Fbx15-iPS 細胞はES 細胞とは異なる遺伝子発現やDNA メチル化様式を有し、生殖系列への移行も見られなかったため、キメラマウスの作製には至らなかった。そこで、Fbx15 よりも多能性により深く関与していると考えられる Nanog を選択マーカーとして iPS 細胞の樹立が検討された。胎仔線維芽細胞に4 因子を導入することで Fbx15-iPS 細胞よりも強力にES 細胞マーカー遺伝子を強く発現する Nanog-iPS 細胞を得ることに成功した。さらにこの Nanog-iPS 細胞を C57BL/6 系統マウス由来胚盤胞へ移植するとキメラマウスが誕生し、さらにもう1 世代交配させることで生殖系列への移行が確認された^[2]。

⁷¹ ニュースな科学キーワード <http://kids.gakken.co.jp/kagaku/keywords/080229.html>

(iii) ヒト成人線維芽細胞からの iPS 細胞の作製

これまでにマウスの線維芽細胞を用いた iPS 細胞の誘導実験に取り組み iPS 細胞の樹立に成功していたが、マウスの場合と同様にヒトの皮膚由来線維芽細胞にレトロウイルスを用いて 4 因子 (Oct3/4, Klf4, Sox2, c-Myc) を導入することによりヒト iPS 細胞を樹立することに成功した^[3]。この方法で樹立したヒト iPS 細胞は OCT3/4、SOX2、Nanog、SALL4、E-CADHERIN、hTERT のタンパク質量はヒト ES 細胞と同等であり、*in vitro* で神経や心筋などの特定組織への分化誘導も可能であることが分かった。

(iv) c-Myc なしでのマウス及びヒトの線維芽細胞からの iPS 細胞樹立

iPS 細胞は多くの点で ES 細胞に類似したものであったが、誘導に用いたがん遺伝子である c-Myc の再活性化によりキメラマウスや F2 (第二世代) に腫瘍が発生する可能性が危惧された。c-Myc レトロウイルスを用いずに iPS 細胞を誘導する方法を探索したところ、従来の 4 因子 (Oct3/4, Klf4, Sox2, c-Myc) から c-Myc を除いた 3 因子を用い、薬剤選択開始のタイミングを変更することで iPS 細胞を誘導することに成功した⁷²。Myc⁻ (マイナス) iPS 細胞の腫瘍形成性について検討したところ、従来の 4 因子を用いて樹立した iPS 細胞由来のキメラマウスでは 100 日齢までに約 20%に腫瘍発生が認められた一方で、c-Myc 以外の 3 因子にて作製した iPS 細胞由来のキメラマウスでは腫瘍形成が見られなかった。同様の方法でヒトについても皮膚由来線維芽細胞を用いた iPS 細胞が樹立された⁷³。

(v) 生体マウスの肝臓および胃由来細胞からの iPS 細胞の作製

Fbx15 に β geo をノックインしたマウスの肝細胞及び胃上皮細胞を採取し、これらの細胞にレトロウイルスを用いて 4 因子が遺伝子導入された。遺伝子導入効率はマウス胎仔線維芽細胞と比較すると低かったがいずれからも ES 細胞様の細胞を得ることに成功し、ES 細胞マーカーの発現と多能性が確認された。Fbx15、Nanog それぞれを選択マーカーとして肝細胞、胃上皮細胞由来の iPS 細胞を樹立し、これらの細胞由来のキメラマウスと iPS-MEF 細胞由来のキメラマウスの腫瘍発生率を比較したところ、iPS-MEF 細胞由来のマウスでは 30 週間のうちに約 30%のマウスに腫瘍が発生したが、肝細胞、胃上皮細胞から樹立された iPS 細胞由来のキメラマウスでは腫瘍は発生しなかった。これらの検討から分化した細胞から iPS 細胞を樹立することができることが確認された。またこれらのゲノムに対するレトロウイルスベクターの遺伝子の挿入は少なかった⁷⁴。

③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- [1] Takahashi K, Yamanaka S." Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors." Cell. 2006 Aug 25;126(4):663-76.
- [2] Okita K, Ichisaka T & Yamanaka S." Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells" Nature 448, 313–317 (19 July 2007)
- [3] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S." Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors." Cell. 2007 Nov 30;131(5):861-72.

⁷²研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei15/menneki/yamanaka.pdf

⁷³研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei15/menneki/yamanaka.pdf

⁷⁴研究終了報告書 http://www.jst.go.jp/kisoken/crest/report/sh_heisei15/menneki/yamanaka.pdf

(2) 研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から、科学研究費補助金基盤研究 (B)「胚性幹 (ES) 細胞で特異的に発現する遺伝子群 ECAT の機能解明」(2004～2005 年度)、科学研究費補助金 特定研究領域「幹細胞生物学と腫瘍生物学の接点」(2005～2009 年度)、科学研究費補助金特別推進研究「細胞核初期化の分子基盤」(2006～2011 年度)の研究が進められ、本研究領域終了後には、JST 戦略的創造研究推進事業「山中 iPS 細胞特別プロジェクト」(2008～2012 年度)、FIRST(最先端研究開発支援プログラム)「iPS 細胞再生医療応用プロジェクト」(2010～2014 年度)、再生医療実現拠点ネットワークプログラム「疾患特異的 iPS 細胞樹立促進のための基盤形成」(2012～2016 年度) や再生医療実現拠点ネットワークプログラム「再生医療用 iPS 細胞ストック開発拠点」(2013～2022 年度) など複数の国家的規模での後継プロジェクトが進められている。

① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後、iPS 細胞を山中らが目指す真に臨床応用可能な医療技術にまで昇華させるべく規模を拡大しながら研究が継続されている。山中が研究代表を務める FIRST(最先端研究開発支援プログラム)「iPS 細胞再生医療応用プロジェクト」(2010～2014 年度)においては、創薬・再生医療への応用を目指し、由来となる細胞や樹立方法の違いによる iPS 細胞の性質が比較されている。世界標準と呼べる最適な iPS 細胞の樹立技術の確立するために、異なる研究グループが提案する複数の iPS 細胞樹立方法の比較解析、細胞特性の把握、GMP 準拠レベルでの細胞調製が試みられ、性質や安全性面で優れた iPS 細胞を作製する技術開発研究が進められている。iPS 細胞の効率的な作製のために新しい細胞ソースとして、歯髄幹細胞が見出され iPS 細胞の樹立に成功した^[1]。初期化因子としては、c-Myc の代替因子として Glis1 が見出され、3 因子 (Oct3/4、Klf4、Sox2) と共に導入して樹立された iPS 細胞は、腫瘍形成率が低だけでなく初期化が不完全な細胞の増殖を抑制するなど iPS 細胞作製効率向上に資する成果が得られた^[2]。他にも挑戦的な取り組みとして DNA メチル化やヒストン修飾といったエピゲノム修飾を解析することにより分化能や分化抵抗性を予測するエピゲノム修飾の同定に取り組み、infinium assay (イルミナ社が提供するエピゲノム解析法)により線維芽細胞と iPS 細胞で異なる DNA メチル化を受ける領域が同定された^[3]。

iPS 細胞の臨床応用を目指した取り組みとして、多施設での iPS 細胞の培養経過や遺伝子発現、ゲノムコピー数変化などのデータ収集と解析が行なわれた。動物での移植実験にも取り組み、腫瘍形成の評価が行なわれ、適切なクローンを選択することで腫瘍形成能が低く、ES 細胞と同程度の安全性が確保できることが示された。また将来的な臨床応用に向けて iPS 細胞の分化誘導を GMP 準拠で行う必要があることから、線維芽細胞の樹立から遺伝子導入、iPS 細胞の誘導までを細胞調製施設内のクリーンルームで行い、実際に実験室で作製したものと同等のものができかどうか検討を重ね、SOP (Standard Operating Procedures : 標準作業手順書) が作成された。また、無菌性などの品質管理にとどまらず、iPS 細胞の品質を担保するための試験に関しても、評価基準・方法の検討が開始された⁷⁵。

以上のように、iPS 細胞樹立に関わる基礎的な研究、臨床応用のために安全性の担保を目指した基礎研究、実際の臨床での利用を想定した制度や手順の設計など iPS 細胞を用いた再生医療の実現に向けて包括的な取り組みが行なわれている。

⁷⁵iPS 細胞再生医療応用プロジェクト <http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/ips-rm/>

② 社会・経済的波及効果

iPS細胞を用いた再生医療については社会的な関心も高く、加齢黄斑変性症患者に対する網膜色素細胞シートの移植など臨床試験への目途が立った研究成果が得られているものの^[4]、腫瘍化の抑制などの安全性の確保など課題は多い。一方、iPS細胞の活用方法の一つとして、難病のメカニズム解明や医薬品開発における薬効薬理試験へ利用され、治療薬開発が加速されている。実際、疾患的特異的 iPS 細胞を作製して研究用に保存するバンク計画がある⁷⁶。これらの研究は iPS 細胞を用いた再生医療よりも早期に実現する可能性がある。iPS 細胞に関しては 2012 年一年間の新聞報道回数が 5000 回を超えるなど注目度が非常に高い。本研究領域終了後の特許の登録数も国内 5 件、海外 12 件と増加している。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト（4 報以内）

- [1] Tamaoki N, Takahashi K, Tanaka T, Ichisaka T, Aoki H, Takeda-Kawaguchi T, Iida K, Kunisada T, Shibata T, Yamanaka S, Tezuka K.” Dental Pulp Cells for Induced Pluripotent Stem Cell Banking” JOURNAL OF DENTAL RESEARCH 2010 Aug;89(8):773-8.
- [2] Maekawa M, Yamaguchi K, Nakamura T, Shibukawa R, Kodanaka I, Ichisaka T, Kawamura Y, Mochizuki H, Goshima N, Yamanaka S.” Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1” NATURE 2011 Jun 8;474(7350):225-9.
- [3] Sato S, Yagi S, Arai Y, Hirabayashi K, Hattori N, Iwatani M, Okita K, Ohgane J, Tanaka S, Wakayama T, Yamanaka S, Shiota K.” Genome-wide DNA methylation profile of tissue-dependent and differentially methylated regions (T-DMRs) residing in mouse pluripotent stem cells” GENES TO CELLS 2010 Jun;15(6):607-18.
- [4] Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S.” Generation of Mouse Induced Pluripotent Stem Cells Without Viral Vectors” SCIENCE 2008 Nov 7;322(5903):949-53.

④ その他

山中伸弥は 2012 年のノーベル生理学・医学賞をはじめ、NAIST 賞（2003）、東京テクノフォーラム・ゴールドメダル（2004）、日本学術振興会賞（2004）、大阪科学賞（2006）、朝日賞（2007）、井上學術賞（2007）、マイエンブルグ賞（2007）、ロベルト・コッホ賞（2008）、科学技術賞（2008）、シヨウ賞（2008）、上原賞（2008）、山崎貞一賞（2008）、島津賞（2008）、武田医学賞（2008）、中日文化賞（2008）、ガードナー国際賞（2009）、アルバート・ラスカー基礎医学研究賞（2009）、恩賜賞・日本学士院賞（2010）、発生生物学マーチ・オブ・ダイヤモンド賞（2010）、トムソンロイター引用栄誉賞（2010）、京都賞先端技術部門賞（2010）、バルザン賞（2011）、ウルフ賞医学部門（2011）、ミレニアム技術賞（2012）、生命科学ブレークスルー賞（2013）を受賞した。

⁷⁶ 再生医療用 iPS 細胞ストック開発拠点

http://www.jst.go.jp/ips-trend/network/pdf/event/symposium/no05/poster/ks_c01.pdf

第 4 章 科学技術イノベーションに資する研究成果の状況

4.1 インフルエンザ感染過程の解明とその応用（河岡義裕）

4.1.1 研究の概要

(1) 研究テーマの状況（国内）

本研究領域では国際公衆衛生・保健の向上に資するべくインフルエンザ制圧法、インフルエンザウイルスの撲滅法の開発を目指した。本研究領域がスタートする以前の 1999 年にインフルエンザの人工合成法、リバースジェネティクス法、が開発され⁷⁷、この手法を用いて開発されたワクチンが世界保健機構を通じて世界中に配布された。現在に至るまでこのリバースジェネティクス法という非常に強力な基盤技術を活用することにより研究が推進されている。

本研究領域終了後の主要な研究成果について以下に示す。

科学研究費補助金特別推進事業「新型インフルエンザウイルスの出現機構とその制圧」（2006～2010 年度）においては 5 年で約 6 億円という潤沢な研究資金を活用して研究が展開され、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザによるパンデミックの危機に備えるために H5N1 ウイルスの生物学的性状が分子レベルで解析された。また、H5N1 型ウイルスが鳥からヒトへ伝播するために必要なアミノ酸が特定され、ヒトの呼吸器におけるレセプター分布などが明らかになり鳥インフルエンザウイルスが鳥からヒトへ伝播するメカニズムが解明された（図 4-1）⁷⁸。武田科学振興財団「新型インフルエンザウイルスの制圧に関する研究」（2007）を経て、戦略的創造研究推進事業（ERATO 型研究）ライフイノベーション「河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト」（2009～2014 年度）では、インフルエンザウイルス感染における宿主細胞応答のネットワークを明らかにするために研究が展開され、インフルエンザウイルスの感染に関与する宿主因子が多数同定され、これらの宿主因子がウイルス増殖のどの過程に関与するのか、その作用機序が解明されつつある⁷⁹。また本研究領域に特徴的な取り組みとして、計算システム生物学グループが設立され、当グループが実験的検証を必要とする反応過程や未知の宿主因子を *in silico* 解析によって推定し、実験グループが実証実験を進める、という方式が採用された。また、厚生労働科学研究費「半生インフルエンザウイルスを基盤とする新規多価ワクチンの開発」（2009～2013 年度）において半生インフルエンザウイルスを基盤とするウイルス感染症多価ワクチンの開発が進められている^[1]。

⁷⁷ Neumann G, Watanabe T, Ito H, Watanabe S, Goto H, Gao P, Hughes M, Perez DR, Donis R, Hoffmann E, Hobom G, Kawaoka Y. "Generation of influenza A viruses entirely from cloned cDNAs." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 1999 Aug 3;96(16):9345-50.

⁷⁸ 東京大学医科学研究所 河岡研究室 <http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/research.html>

⁷⁹ 河岡 ERATO プロジェクト http://www.jst.go.jp/erato/kawaoka/research_j.html

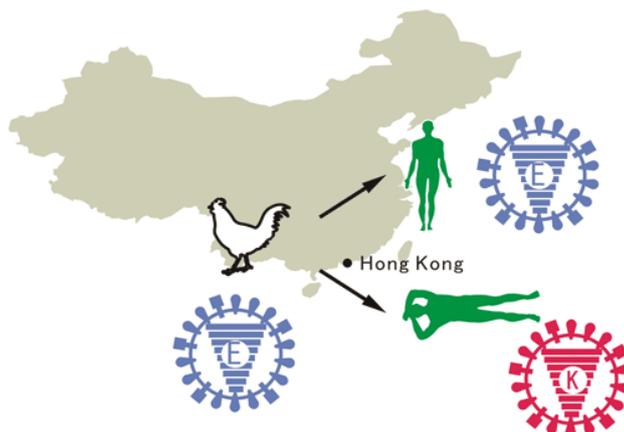


図 4-1 H5N1 インフルエンザの PB2 タンパク質の 1 塩基変異によるヒトへの感染性の違い⁸⁰

(2) 海外での共同研究の状況

H5N1 型ウイルスによるパンデミックについては専門家の間でも意見が分かれていたが、イスコンシン大学との共同研究の結果、高病原性のインフルエンザウイルス H5N1 の亜型ウイルスはフェレット間において飛沫感染が起こることが証明され、動物を用いて感染の可能性が示された⁸¹。

4.1.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

我が国が目指すべきインフルエンザ対策は発生するインフルエンザ患者の分散化である。医療現場が対応できない程の大量のインフルエンザ感染患者が発生してしまうと医療現場は崩壊してしまう。一般にインフルエンザ対策としてはワクチン、抗インフルエンザ薬、公衆衛生対策の 3 つの方策があるが、現在の日本では公衆衛生対策に関しては改善の余地は小さいと考えられることから、ワクチンと抗インフルエンザ薬の開発が重要になる。

① 薬剤耐性が起き難い抗インフルエンザ薬の開発

抗インフルエンザ薬の開発は ERATO「河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト」の研究結果が基となって発展したものであり、企業との共同研究が行われ臨床応用に向けて検討が進められている。

近年タミフル耐性のインフルエンザウイルスの出現が報告されてきており、耐性ウイルスがヒトからヒトへ急速に広まりを見せているため、耐性ウイルスが出現し難い抗インフルエンザウイルス薬の開発が急務となっている。ERATO「河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト」ではインフルエンザウイルスと相互作用しインフルエンザウイルスの増殖に参与する宿主因子が数十個同定された。これらの宿主因子はデータベースを基に設計された siRNA を用いてスクリーニングすることにより発見され、siRNA 等を用いた遺伝子発現抑制実験において宿主へ大きな影響が無いことが確かめられた。宿主蛋白質を標的とした新規の抗ウイルス薬、あるいは宿主遺伝子を標的とした siRNA、shRNA 等によるウイルス増殖抑制などの

⁸⁰ 東京大学医科学研究所 河岡研究室 <http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/research.html>

⁸¹ インフルエンザの人工合成報告書 <http://www.jst.go.jp/chizai/docs/report3.pdf>

治療法は耐性ウイルスが出現し難いと予想されることから開発が期待されており、企業との共同研究についても前向きに検討がなされている^[2]。宿主側のウイルス増殖因子を標的としていることからウイルスによる薬剤耐性獲得などに対抗できると期待される。

② 生インフルエンザウイルスを基盤とする新規多価ワクチンの開発

現行のインフルエンザワクチンが抱える課題は、季節性インフルエンザに対する不活化ワクチンの免疫原性が低い点にある。さらにウイルスの侵入口である上部気道上に粘膜免疫を誘導できず、感染防御並びに発症防御効果に限界がある点が指摘されている。米国で承認されている FluMist (AstraZeneca 社の経鼻接種型インフルエンザ生ワクチン) などの弱毒化ワクチンは粘膜免疫を誘導できるが安全性に課題が存在する。厚生労働科研費「半生インフルエンザウイルスを基盤とする新規多価ワクチンの開発」(2009～2013 年度)において、細胞に一度だけ感染し、ウイルスタンパク質を生成するが新たな感染性ウイルス粒子を生成しない半生インフルエンザウイルスの開発が進められている本研究領域の研究成果を基にインフルエンザウイルスの増殖に必要な PB2 遺伝子を欠損させその部位に他の抗原遺伝子を挿入した多価ワクチンを開発する試みもなされている。

③ 卵での増殖性の低下を克服する培養細胞を用いたワクチン製造技術の開発

培養細胞を用いたワクチン製造は ERATO「河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト」の研究成果の一部を活用しつつ、主として厚生労働科研費「半生インフルエンザウイルスを基盤とする新規多価ワクチンの開発」(2009～2013 年度) 研究の成果を基に行われている。現在のインフルエンザワクチンは A 型ウイルスに対する二種類のワクチンと B 型ウイルスに対するワクチンが存在するが、B 型ウイルスに対するワクチンは効果が薄く、さらに近年ではウイルスの遺伝子変異により鶏卵でのウイルスの増殖効率が著しく低下し、充分量のワクチンが製造し難いなどの問題が生じている。そのためウイルス遺伝子の変異が起こり難い培養細胞を用いたワクチン製造技術が開発されつつある。今後薬事承認されていくと思われるが、充分量のワクチンを確保するための製造方法の開発が求められている。

(2) 社会・経済への波及と展望

ERATO「河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト」が開始されて間もない 2009 年に発生した「新型インフルエンザ(H1N1pdm09)」に対して、迅速な対応とパンデミックに影響するインフルエンザウイルスの特性についての解析と新型インフルエンザの出現に関する基礎研究が実施された。H1N1pdm09 ウイルスに関するリスク評価が行われ、H1N1pdm09 ウイルスが季節性ウイルスと比較して肺での増殖能が強いこと、当該ウイルスに対して抗インフルエンザ薬が効果を有すること、が世界に先駆けて報告され^[3]、国際公衆衛生の緊急事態に際して迅速かつタイムリーに情報が提供された。ERATO プロジェクトにおいては、実験グループと北野宏明がリーダーである計算システム生物グループからなるグループ編成で、既存文献情報に基づくシステムバイオロジーの手法を用いてインフルエンザウイルス感染における細胞内パスウェイマップの作成に取り組み、インフルエンザウイルス研究の共通基盤が構築された⁸²。また 2013 年に中国において、鳥インフルエンザウイルス(H7N9)のヒトへの感染が確認されたことを受け、国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターとの共

⁸² 河岡 ERATO プロジェクト http://www.jst.go.jp/erato/kawaoka/research_j.html

同研究が開始された。

インフルエンザは世界的にパンデミックの危機が迫っており、国境を越えた迅速な共同研究と、国際保健の改善に資する情報提供が求められる。ERATO プロジェクトでは東南アジアへの研究者派遣、カナダの P4 レベルの施設利用など海外の研究機関との研究が円滑に進められた。

(3) その他特筆すべき事項

河岡は 2006 年に結核菌を発見したコッホが設立したロベルト・コッホ財団から医学研究で新しい発見をした者に対して与えられる Robert Koch 賞を受賞し、2013 年にはノーベル賞受賞者を多数輩出しているアメリカ科学アカデミーの外国人会員に選出された。また 2011 年にインフルエンザ対策に資するワクチン開発に大きく貢献した業績により紫綬褒章を授賞し、国際微生物学会連合、ウイルス部門にて部門長を務めている。

【引用文献等】

- [1] NIBRO 「半生インフルエンザウイルスを基盤とする新規多価ワクチンの開発」 報告書
http://www.nibio.go.jp/part/promote/fundamental/doc/pdf/report/report_0914.pdf
- [2] ERATO 「河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト」 ホームページ
http://www.jst.go.jp/erato/kawaoka/research_j.html
- [3] 科学研究費補助金研究成果報告書「新型インフルエンザウイルスの出現機構とその制圧」
<http://kaken.nii.ac.jp/pdf/2011/seika/C-19/12601/18002014seika.pdf>

4.2 自然免疫とヒト難治性免疫疾患（瀬谷司）

4.2.1 研究の概要

(1) 研究テーマの状況（国内）

これまで、さきがけ研究領域「遺伝と変化」研究課題「悪性細胞を除去する免疫活性化遺伝情報」（1994-1996）に始まり、農業・食品産業技術総合研究機構 研究課題「臓器移植医療に応用するためのブタの品種改良・増産に関する研究」（1996-2000）、CREST 研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」研究課題「自然免疫とヒト難治性免疫疾患」（2002～2007年度）、厚生労働科学研究費 研究課題「エフェクター選別性の抗がん免疫アジュバントの開発」（2008～2010年度）、新学術領域研究(研究領域提案型) 感染・炎症が加速する発がんスパイラルとその遮断に向けた制がんベクトル変換「感染発がんを変調する宿主炎症応答機構」（2010～2015年度）など、切れ目なく大型の科学研究助成金を獲得し継続的かつ円滑に免疫学研究が進められてきた。

近年の公衆衛生の改善と抗生物質の開発により感染症はかなり克服されつつあるが、がんは年間 35 万人以上が亡くなり十分な治療効果が得難い難治性の疾患である。さきがけ研究領域「遺伝と変化」研究課題「悪性細胞を除去する免疫活性化遺伝情報」（1994～1996年度）の頃より、自然免疫を利用してがんの治療を目標にして研究が進められてきた。がんの治療法を確立するためにはさらなる基礎研究が必要であり、抗がんペプチドワクチン療法において抗がん活性を高める作用を持つとされるアジュバントの作用機序を解明することを目標として本研究領域を計画し、樹状細胞が TLR3(toll like receptor3)を介したシグナル入力によって活性化することが明らかになった。本研究領域終了後 TLR3 を起点とした抗がん免疫アジュバントの開発が行われた。

厚生労働科学研究費 研究課題 厚生科学基盤研究分野 創薬基盤推進研究(創薬総合推進研究)「エフェクター選別性の抗がん免疫アジュバントの開発」（2008～2010年度）において、真に臨床応用が可能な安全で QOL の高い抗がん免疫アジュバントを開発し、がん医療の現場に速やかに導入されることを目的として、樹上細胞に発現する TLR(Toll like receptor)のアゴニストであり、微生物成分を模したものを基盤としたアジュバントに関する研究が行われた。少ない副作用で CTL(cytotoxic T lymphocyte: 細胞傷害性 T 細胞)や NK(Naturel killer)細胞の活性化を効果的に誘導する物質が抗がん免疫アジュバントの候補となった。その内 M161 antigen のリポ蛋白(Pam2)と RNA duplex (dsRNA X)の NK 活性化能が比較され、両者ともに NK 細胞の活性化能を有しているものの、前者は樹状細胞の TLR2 を、後者は TLR3 を介したシグナル伝達経路を活性化することがわかり、M161 antigen のリポ蛋白(Pam2)と RNA duplex (dsRNA X)では、異なった経路で樹状細胞を成熟化させることが明らかになった^[1]。担がんモデルマウスに dsRNAX と polyI:C (一重鎖 RNA) を投与する実験では i. p. (腹腔内) 投与により dsRNAX と polyI:C のどちらでも効果的に腫瘍退縮を起こし、これらの腫瘍の退縮はミトコンドリアでにおいてエンドサイトーシスで取り込まれたウイルス由来の RNA を認識する分子である IPS-1 に全く依存せず、TLR3 の下流の TICAM-1 経

路に依存していることが分かった⁸³。従って、抗がん活性を持つ CTL、NK 細胞の両方が TLR3 を活性化する経路で誘導されることが証明された。この新規アジュバントは「アジュバント活性を有する新規核酸およびその利用」（国際公開番号 W02012/014945）として特許も出願済みである。

また、以上の研究成果に関連して細胞外のウイルス RNA のセンサーである TLR3 の新しいリガンドが同定された。このリガンドはポリオウイルスの遺伝子配列を参考にし、改変した様々な長さの二本鎖、一本鎖 RNA であり、TLR3 ウイルス由来の二本鎖 RNA 以外に安定な構造を取る一本鎖 RNA を認識することが初めて明らかになった⁸⁴。

がんだけではなく炎症疾患に関して、新学術領域研究(研究領域提案型) 感染・炎症が加速する発がんスパイラルとその遮断に向けた制がんベクトル変換「感染発がんを変調する宿主炎症応答機構」(2010-2015)において、C型肝炎ウイルスのゲノム RNA に対する免疫応答を回避するメカニズム、肝臓においてC型肝炎ウイルスが持続感染するメカニズムが明らかになった。

(2)海外での共同研究の状況

海外との共同研究は行われていない。

4.2.2 研究成果の波及と展望

① 科学技術への波及と展望

RNA アジュバントの一種の polyI:C は以前から高いがん治療効果が知られていたものの TLR3-TICAM-1 経路のほか IPS-1 経路も活性化しサイトカイン血症やショックを誘発するためヒトへの応用は困難であった。新規開発物質である dsRNAX は樹状細胞の TLR3-TICAM-1 という経路を選択的に活性化し、副作用の原因となる血中の炎症性サイトカイン量は polyI:C 投与では増加するが、dsRNAX では低レベルに留まることが分かった^[2]。この dsRNAX は長鎖で、完全化学合成は困難を極めたが3年の月日を費やして開発された。現在この新規 RNA アジュバントを用いた臨床試験を目指して、北海道大学医学部、医薬基盤研究所と国立がんセンターの支援のもと、臨床試験を目指した企画が進められている。北海道臨床開発機構と協力して前臨床試験を行い安全性を確認し、医師主導治験で企業が注目する臨床試験結果を取得して製薬企業による治験を開始するという計画が立てられている。

② 社会・経済への波及と展望

dsRNAX は、がんワクチンや感染症ワクチンの効果を増強するアジュバントとしての可能性を持っている。今後様々な機関と連携しながら、臨床応用に向けて、製造方法のさらなる検討や、安全性試験などの非臨床試験を進めていくことが計画されている。同様に取り組んでいるC型肝炎ウイルスの肝臓における持続的感染メカニズムについても、ヒトの肝癌の約70%がC型肝炎ウイルスの原因で引き起こされることから、C型肝炎ウイルスに対する免疫

⁸³ Akazawa T, Ebihara T, Okuno M, Okuda Y, Shingai M, Tsujimura K, Takahashi T, Ikawa M, Okabe M, Inoue N, Okamoto-Tanaka M, Ishizaki H, Miyoshi J, Matsumoto M, Seya T. "Antitumor NK activation induced by the Toll-like receptor 3-TICAM-1 (TRIF) pathway in myeloid dendritic cells" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2007 Jan 2;104(1):252-7.

⁸⁴ Tatematsu M¹, Nishikawa F, Seya T, Matsumoto M. "Toll-like receptor 3 recognizes incomplete stem structures in single-stranded viral RNA" NATURE COMMUNICATION 2013;4:1833.

応答を誘導する Riplet タンパク質の分解を抑えることができれば新規の C 型肝炎治療薬も可能になる。

抗原と dsRNAX による EG7 腫瘍退縮

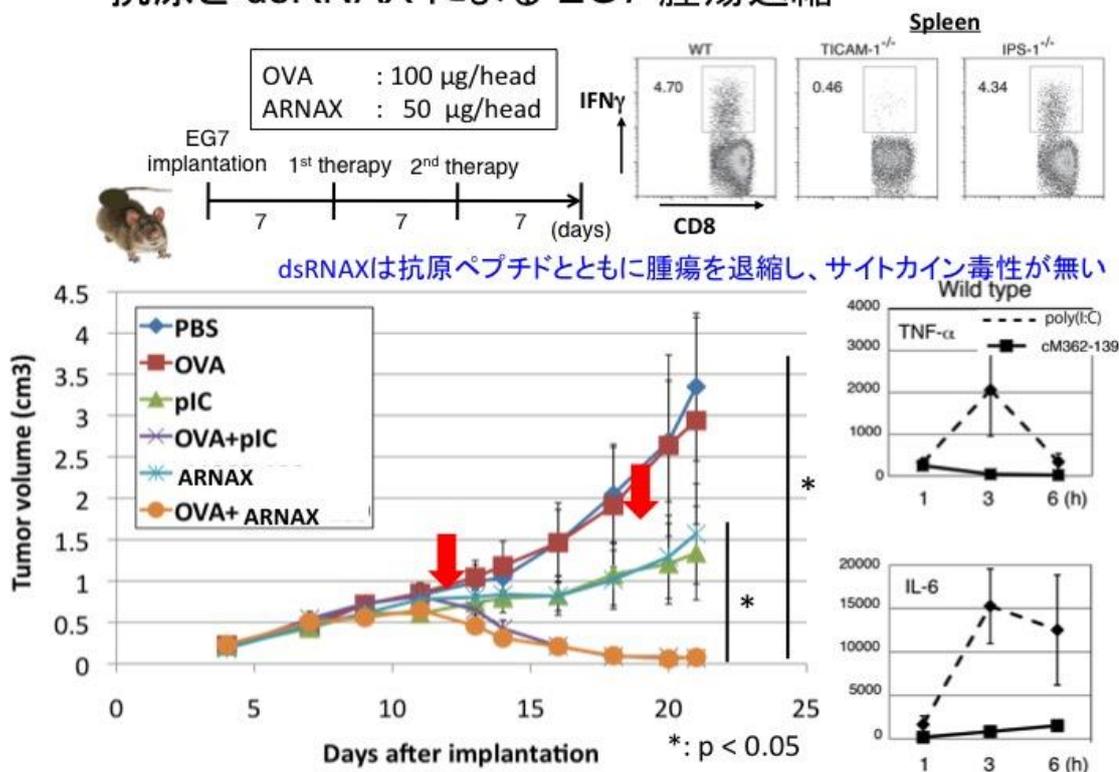


図 4-1 抗がん免疫アジュバントによる抗がん効果^[3]

【引用文献】

- [1] エフェクター選別性の抗がん免疫アジュバントの開発 (2010 年報告書)
- [2] 文部科学省科学研究費補助金新学術領域「感染・炎症が加速する発がんスパイラルとその遮断に向けた制がんベクトル変換」ホームページ
http://www.microbiol.m.u-tokyo.ac.jp/spiral/jp/p_research/
- [3] 北海道大学産学連携本部ホームページ
http://www.mcip.hokudai.ac.jp/cms/cgi-bin/index.pl?page=contents&view_category_lang=1&view_category=1275

4.3 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（清野宏）

4.3.1 研究の概要

(1) 研究テーマの状況（国内）

本研究領域開始前、科学研究費助成事業基盤研究特定領域研究「粘膜ワクチンへの基礎研究：HIV 特異的分泌型 IgA 誘導システムの開発」や科学研究費助成事業基盤研究（A）「粘膜免疫における上皮細胞と $\gamma\delta/\alpha\beta$ T 細胞間インターネットの解明」（1997～2000 年度）において、外来生物に対する第一線の防御バリアーとして作用している粘膜免疫機構に注目し、その構成細胞である $\gamma\delta/\alpha\beta$ T 細胞、B 細胞、抗原提示細胞に代表される免疫担当細胞と上皮細胞との間に存在する細胞間の相互作用のネットワーク機構について分子・細胞レベルでの解析研究が進められた。本研究領域はこれらの基盤研究において得られた知見を元にして、免疫難病・感染症等への先進医療技術の確立を目指したものである。

本研究領域終了後は CREST 二期目に当たる CREST 研究領域「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究課題「炎症性腸疾患の慢性化制御機構の解明と治療戦略の基盤構築」（2009～2014 年度）において、これまで確立してきた腸管における粘膜免疫に関する知見を元に研究が進められた。腸管組織内共生細菌、上皮細胞糖鎖、腸管粘膜自然免疫細胞に注目して、腸管の恒常性維持メカニズムを解明することにより、慢性炎症性腸疾患の新規治療法の確立を目指している。

これまでに *Alcaligenes* 菌を中心とするパイエル板内共生細菌の存在を証明し、組織内共生菌による慢性炎症制御機構の解明に取り組み IL-22 を産生する自然リンパ球の消失に伴い *Alcaligenes* が全身組織への拡散すること、またこの拡散が全身性の炎症反応を惹起することが明らかになった。さらに腸内細菌の恒常性維持に腸管上皮細胞フコースが重要な役割を果たしフコースが慢性炎症性腸疾患マーカーになる可能性が示された^[1]。

清野は以上のような粘膜免疫の基礎的解明と学問的体系確立の功績が評価され、2007 年に第 51 回野口英世記念医学賞を受賞した。

(2) 海外での共同研究状況

海外との共同研究は行われていない。

4.3.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

現在のワクチンが抱える課題は以下の通りである。

1. 注射を用いたワクチン接種が主流であるため医療廃棄物が出る。
2. 粘膜系に十分な免疫が誘導できない。
3. 輸送時にコールドチェーンの流通を確保する必要がある。
4. コスト面から途上国での普及が遅れている。

これらの課題を解決するために粘膜免疫システムを用いた経口ワクチンや経鼻ワクチンに注目し、本研究領域における研究対象である M 細胞をターゲットとした「飲む」粘膜ワクチン開発を指向し、コメを用いたワクチン製造貯蔵システムの構築が目標に掲げられた。コンセプトとしての M 細胞指向性ワクチンの実用化については、厚生科学基盤研究分野創薬基盤推進研究「新興・再興感染症に対するヒト M 細胞標的型粘膜ワクチン開発」（2008

～2010年度)において研究が進められ、M細胞を含めた上皮細胞特異的抗体のワクチン抗原送達効果がカニクイザルの腸管を用いて検討された。コメを用いたワクチン製造は穀物であれば長期保存性や消化酵素に対する抵抗性を有していることから有効なワクチン媒体である。農業生物資源研究所の高岩文雄ら、京都府立大学の田中英明らとの共同研究によりコメのタンパク質貯蔵体にワクチンを作らせるシステムが構築され、このワクチン生産するコメはムコライス (Mucorice) と呼ばれている^[3] (図 4-5)。現在では先端医療特区 (ワクチン) を通して、完全閉鎖系でワクチン抗原を発現する米の生産システムが構築された^[2]。

またこのムコライスでワクチンを作るシステムを利用し、ワクチンに限らず、粘膜疾患に対する免疫療法のツールとしてのコメ型経口医薬品の開発も進んでいる。2013年にはロタウイルスに対するナノ抗体の中和抗体を産生するムコライスが開発された。同様に粘膜を介して感染する他の病原体に対するワクチンの開発も検討されている。植物にワクチンを作らせる技術はヒトの食物ではなく、家畜用のワクチンとしての利用の活用も考えられており、技術的な波及効果は非常に大きいと考えられる。

ムコライス技術を用いて開発した「飲むワクチン」やナノゲル技術を応用した「吸うワクチン」は、粘膜面を介したタンパク質抗原の投与だけでは免疫原性が非常に弱い。従ってワクチンの免疫原性を向上させ効果ある予防免疫を実現するためにはアジュバントの併用投与も必要であり、粘膜アジュバントの開発研究が行われている。これまで毒性が強かったため粘膜アジュバントとしての機能を持ちながら十分に活用できなかったコレラ毒素を粘膜アジュバント活性を有しながら無毒化することに成功した。現在ではボツリヌス毒素を元にした新たな粘膜アジュバントの作製研究が行われている⁸⁵。

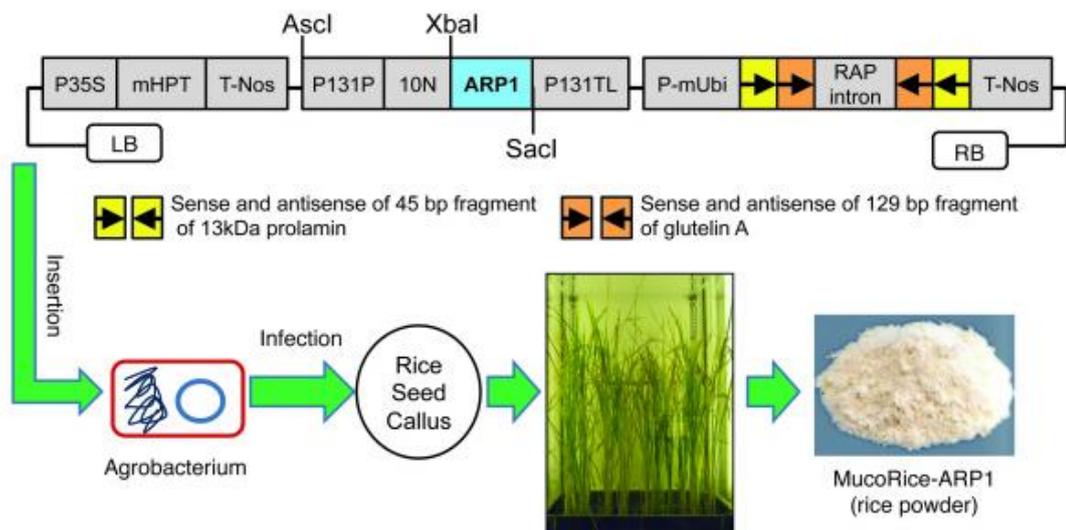


図 4-2 ムコライス作製過程^[3]

(2) 社会経済への波及と展望

開発されたムコライス技術はヒトの経口ワクチンだけではなく、家畜用飼料として活用することで、動物用ワクチンとしての利用の活用も考えられている。実際ブタの毒素原性大腸

⁸⁵ 日本ワックスマン財団学術奨励研究助成 (H19年度報告会)
http://www.waksman.or.jp/wks_trea/research_task/H19_H_Kiyono.pdf

菌に対するワクチンとして検討され、他にも鳥インフルエンザウイルス対策としての活用方法が考えられており、従来の注射型ワクチンとの併用や新興国への展開など今後の社会経済への波及効果は大きいと言える。また、現在取り組んでいる、CREST 研究領域「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究課題「炎症性腸疾患の慢性化制御機構の解明と治療戦略の基盤構築」では、C 型肝炎ウイルスの感染患者と小児期クローン病患者において、組織内共生細菌である *Alcaligenes* の腸管関連リンパ組織からの消失と全身伝播が認められ、重症化への原因が示唆された。クローン病は口腔から肛門までの全消化管に非連続性の慢性肉芽腫性炎症を生じる原因不明の炎症性疾患である。

(3) その他特筆すべき事項

清野は 2003 年より現在に至るまで、日本ワクチン学会理事を務めている。また、2013 年代 42 回日本免疫学会学術集会の会長に選出された。

【引用文献】

- [1] CREST 研究「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」実績報告書
- [2] http://www.inflam.jst.go.jp/research/c_2204kiyono/H23-04_Kiyono.pdf
- [3] 新興・再興感染症に対するヒト M 細胞標的型粘膜ワクチン開発 (2010 年度報告書)
- [4] “Rice-based oral antibody fragment prophylaxis and therapy against rotavirus infection” The Journal of Clinical Investigation
- [5] <http://www.jci.org/articles/view/70266?key=de80321a713532149b56>

4.4 「制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発」(坂口志文)

4.4.1 研究の概要

(1) 研究テーマの状況 (国内)

本研究領域終了後、科学研究費補助金 特別推進研究「制御性 T 細胞機能の分子的基础に関する研究」(2008～2013 年度)において、制御性 T 細胞の分化・機能のマスター因子である Foxp3 に結合する Runx1 や Runx3、Foxp3 の下流制御分子である CTLA-4 に注目し、これらの遺伝子欠損マウスを用いた機能解析が行われた。

制御性 T 細胞の生体内での機能、動態に関する基礎研究の成果を受けて、ヒト制御性 T 細胞の機能調節による腫瘍免疫応答の制御が臨床的に可能か否かの検討がされた。本研究領域終了後 2011 年に、ヒトへの制御性 T 細胞の機能調節の研究に軸足を移して本格的な臨床研究を展開する為に、活動拠点が京都大学再生医科学研究所から大阪大学免疫学フロンティア研究センターに移され、制御性 T 細胞に注目した臨床研究が行われている。治療法を確立するには臨床における活動は基礎研究と同様に大切であり、大学病院の役割として臨床研究が重要であると考えた結果であった。

2 度目の CREST である CREST 研究領域「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」、研究課題「制御性 T 細胞による慢性炎症制御技術の開発」(2012～2016 年度)では、制御性 T 細胞を標的として、自己免疫疾患などの慢性炎症や臓器移植における慢性拒絶反応をいかに抑制するかについて、また、がん抗原に対する免疫応答をいかに引き起こすかについて研究が展開されている。①Treg の増殖また免疫抑制機能の強化による自己免疫、移植臓器拒絶の抑制、②Treg の減少、免疫抑制機能の減弱によるがん免疫強化、に繋がるのが想定される。具体的には Foxp3 陽性細胞と制御性 T 細胞は厳密には同じものではないことが明らかになり、機能的に安定な制御性 T 細胞の誘導・作製には Foxp3 発現誘導と同時に制御性 T 細胞型エピゲノム誘導の両者が必要であるという仮説が提唱された。この仮説のもと、全ゲノムに渡る制御性 T 細胞の DNA メチル化パターンが MeDIP (methylated DNA immunoprecipitation) シーケンス法によって網羅的に解析され、制御性 T 細胞特異的脱メチル化部位が決定された。Treg 特異的エピジェネティクスは単なる T 細胞活性化によって誘導される Th1、Th2、Th17 などその他の T 細胞サブセットや試験管内で誘導された Foxp3⁺Treg 細胞 (右肩の+は遺伝子の発現を示している) では導入されないことが明らかになった⁸⁶。現在もバイオインフォマティクスを用いた解析により制御性 T 細胞の分化を規定するエピゲノムの解明を目指した研究が行われている^[1]。制御性 T 細胞型のエピゲノムが制御性 T 細胞の細胞分化の道筋を決定するのに対し、制御性 T 細胞の機能的な中核を制御しているのは Foxp3 である。Foxp3 転写複合体の構成要素である Bcl11b に注目し、Treg 特異的遺伝子欠損マウスが作製され解析が行われている^[2]。

(2) 海外との共同研究の状況

海外との共同研究は行われていない。

⁸⁶ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター研究概要

<http://www.ifrec.osaka-u.ac.jp/jpn/laboratory/experimentalimmunology/outline.php>

4.4.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

ヒト制御性 T 細胞の機能調節による生理的免疫応答の制御に関わる知見の蓄積は、制御性 T 細胞の発生や機能発現を細胞、遺伝子レベルで操作し、自己免疫病、アレルギーなどの免疫疾患に対する治療技術の可能性を広げるものである（図 4-2）。制御性 T 細胞に対する免疫治療の戦略は以下の大きく 2 つに分けられる。

① 生体内で構成的に Foxp3 を発現する安定な制御性 T 細胞を作製する。

試験管内で TGF- β などのサイトカインとともに T 細胞を活性化して作製した制御性 T 細胞は生体内で Foxp3 発現量を安定に維持することが出来ず減少してしまう。この問題は制御性 T 細胞を臨床応用する際の大きな課題であり、その克服のために制御性 T 細胞の全ゲノムに渡るエピジェネティクス研究に取り組んでいる。

② 薬剤により生体内の制御性 T 細胞の量や機能を調節する。

薬剤による制御性 T 細胞の調節について臨床試験や企業との共同研究が複数開始されている。

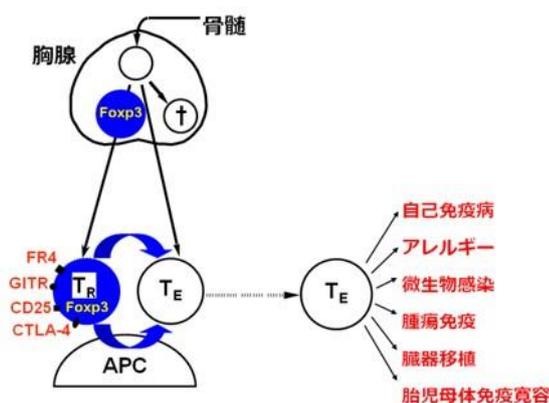


図 4-2 制御性 T 細胞による免疫応答制御⁸⁷ (T_E: エフェクター T 細胞)

(2) 社会経済への波及と展望

制御性 T 細胞の機能を制御することにより骨髄移植後の拒絶反応の抑制や、臓器移植後の拒絶反応の抑制に応用できるが、この分野では欧米において臨床応用が進んでおり日本では遅れている。本研究領域の研究成果は、新しい免疫応答制御法の開発、さらには次世代の免疫抑制剤、免疫賦活剤の開発につながるものである。また TPP (Trans-Pacific Strategic Economic Partnership Agreement) による医療の自由化をにらみ、日米によるコンソーシアムによるがん免疫療法のデータ共有の為の標準化活動の必要性が指摘されている。「Human immunity フォーラム」が坂口により主宰され、若手研究者とベテラン研究者の交流促進や、自己免疫、消化管・神経免疫などの免疫研究の横串を通す活動が行われ、免疫学分野の啓蒙活動が行われている。

⁸⁷ 大坂大学免疫学フロンティア研究センター実験免疫学

<http://www.ifrec.osaka-u.ac.jp/jpn/laboratory/experimentalimmunology/outline.php>

(3) その他特筆すべき事項

坂口志文は制御性 T 細胞の発見と、自己免疫疾患、アレルギー、移植免疫寛容、ガン免疫などにおいて制御性 T 細胞が果たす重要な役割を解明したことが評価され 2009 年に紫綬褒章を授賞した。また「制御性 T 細胞による免疫応答制御」の研究成果により日本の学術賞としては最も権威のある賞である学士院賞を 2012 年に受賞した。同じく 2012 年にはノーベル賞受賞者を多数輩出しているアメリカ科学アカデミーの外国人会員に選出された。

【引用文献】

- [1] 特別推進研究「制御性 T 細胞機能の分子的基礎に関する研究」（2008 年～2012 年）
自己評価報告書
<http://kaken.nii.ac.jp/pdf/2010/hyoka/mext/14301/20002007hyoka.pdf>
- [2] CREST 研究「制御性 T 細胞による慢性炎症制御技術の開発」平成 24 年実績報告書
- [3] http://www.inflam.jst.go.jp/research/c_2403sakaguchi/H24-16_Sakaguchi.pdf

4.5 「真に臨床応用できる多能性幹細胞の樹立」(山中伸弥)

4.5.1 研究の概要

(1) 研究テーマの状況(国内)

JST 戦略的創造研究推進事業「山中 iPS 細胞特別プロジェクト」(2008～2012 年度)、FIRST(最先端研究開発支援プログラム)「iPS 細胞再生医療応用プロジェクト」(2010～2014 年度)、再生医療実現拠点ネットワークプログラム「疾患特異的 iPS 細胞樹立促進のための基盤形成」(2012～2016 年度)や再生医療実現拠点ネットワークプログラム「再生医療用 iPS 細胞ストック開発拠点」(2013～2022 年度)など複数の国家的プロジェクトの代表を務めている。高品質で安全性の高い再生医療用 iPS 細胞ストックを構築し、臨床応用の実現を目指す研究機関への iPS 細胞ストックの供給体制を整備することにより再生医療の実現化に大きく貢献し、我が国における関連産業の発展に寄与することを目的としている。具体的な活動としては、iPS 細胞の安全性、標準化に取り組み、知財形成等に関する中核的研究機関として臨床応用を目指す各機関との連携体制の強化が図られている。

(2) 海外での共同研究の状況

現時点で海外の研究機関との積極的な共同研究は展開されていない。

4.5.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

① iPS 細胞創出が生物学に与えた影響とノーベル賞受賞に至った経緯

iPS 細胞の創出は医学への貢献だけでなく基礎的な生命科学に対して「数種類の遺伝子の組み合わせによって細胞の運命を変えることができる。」という大きなインパクトを与えた。iPS 細胞が作製される以前の 1986 年にフレッドハッチンソン癌研究所のハロルド・ワイントローブが線維芽細胞などに MyoD を導入して筋肉細胞に分化させることに成功していた。iPS 細胞の開発はこの科学的知見を拡張したものと捉えることができる。線維芽細胞に対して 4 因子 (Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc) を導入することにより、iPS 細胞が樹立された後、後続の研究者によって数種類の遺伝子を導入することで iPS 細胞を経ずに違う種類の細胞に直接変える、ダイレクトリプログラミングと呼ばれる研究が盛んになった。2010 年にはスタンフォード大学のチームが Ascl1、Brn2、Myt1 という 3 つの神経細胞の分化に関わる遺伝子をマウス尾部線維芽細胞に導入することで線維芽細胞から iPS 細胞を経ずに直接神経細胞に分化させることに成功した。iPS 細胞を経ずに細胞の性質を変える研究も、山中らの iPS 細胞研究の延長線にあると言える。

iPS 細胞樹立はケンブリッジ大学のジョン・ガードンの実験が源流にある。ガードンのアフリカツメガエルの胚の核移植実験により、体細胞は分化した後もすべての遺伝子は失われず保持しており、細胞の核を初期化 (リプログラミング) すれば再び様々な細胞に分化する能力を持つことが証明された。このアフリカツメガエルの胚を用いた細胞の初期化実験に引き続き、1997 年にイギリスのイアン・ウィルマットが羊のクローンドリーを作製し、哺乳類でも細胞のリプログラミングが可能である事が示された。山中のノーベル賞受賞理由は「動物の分化した細胞が、多能性幹細胞へと初期化できることを発見した」であり、4 因子

(Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc) の遺伝子導入という簡便な方法で iPS 細胞を樹立した点が評価された。ノーベル財団の発表した授賞理由は上記の通りだが、一般には 1998 年に樹立されたヒト ES 細胞の抱える種々の課題が解決されたという意味で大きな意義があるとされている。

ヒト ES 細胞の樹立により再生医療の実現の可能性が高まったが、ヒト ES 細胞を樹立するには命の萌芽であるヒトの受精卵を材料にする必要があり、倫理的課題が指摘されていた。ES 細胞の中で働く遺伝子のデータベースとそれまでの研究成果より、細胞の性質を変える可能性のある遺伝子が 24 種類にまで絞り込まれ皮膚から取り出した線維芽細胞に遺伝子を導入することで ES 細胞様の多能性幹細胞が作製できないかどうかを繰り返し検討された。その結果、4 つの遺伝子 (Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc) にその性質があることが判明した^[1]。

当初、マウス由来の胎児性線維芽細胞 (MEFs) 及び、成体マウスの尾部皮膚に由来する線維芽細胞に 4 因子 (Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc) を導入することで iPS 細胞が作製された。この技術をヒトに応用するためヒト成人皮膚線維芽細胞 (HDF) に 4 因子 (Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc) を遺伝子導入し、ES 細胞用の bFGF (basic fibroblast growth factors) 添加培地で培養することでヒト ES 細胞様の細胞が得られた。この細胞はヒト ES 細胞特異的な表面抗原と多くの ES 細胞マーカー遺伝子を発現しており、分化多能性を有すること、ヒト ES 細胞で報告のある特定組織への分化能を有することから、ヒト線維芽細胞からも iPS 細胞を樹立できることが明らかになった。ヒト iPS 細胞の樹立から 5 年後、山中はノーベル賞を受賞した。

② iPS 細胞が医学へ与えた影響

病気や怪我を治療するために医学研究が進められてきたが、ヒトの疾患研究に用いるヒト細胞は入手が難しいため研究が制限されてきた。iPS 細胞が医学に与えた影響は次の通りである。

iPS 細胞がヒトの皮膚細胞から樹立できることに成功したことから、患者の細胞から樹立された iPS 細胞を用いて病気の発症メカニズムや病気の原因を解明する研究することが可能になった。また iPS 細胞から分化させた細胞を用いて薬効評価や毒性試験を行うことが可能になった。さらに iPS 細胞を分化させて作製した組織を用いた再生医療にも期待がかけられている。

③ iPS 細胞研究の将来への展望

iPS 細胞が作製された当初は、がん関連遺伝子の c-Myc の導入やレトロウイルス、レンチウイルスを用いた遺伝子導入が必要であったことから、腫瘍化のリスクが懸念されていた。そのため、この 2 年ほどの iPS 細胞の研究では c-Myc やレトロウイルスに代わる腫瘍形成リスクを低減した安全な iPS 細胞樹立方法が盛んに検討されてきた。さらに iPS 細胞の樹立作製効率が低いために、その向上方法の検討も盛んに行われて来た^[2]。

・ 遺伝子導入法の改良

初期化因子の細胞導入にはレトロウイルスを用いた方法が取られていたが、レトロウイルスは核内の染色体に取り込まれる性質を保有することからがん化の可能性が指摘されていた。CiRA (京都大学 iPS 細胞研究所) の沖田らにより科学技術振興機構研究課題「山中

iPS 特別プロジェクト」(2008～2012 年度)においてレトロウイルスに依らない iPS 細胞樹立法の開発が検討されプラスミド DNA をベクターに用いた iPS 細胞樹立法が確立された。2011 年には遺伝子導入効率を高めるために、細胞の中で自律的に複製されるエピソーム・プラスミドを用いた遺伝子導入法が確立され、さらに初期化因子として Oct3/4、Sox2、Klf4、LIN28、L-Myc、p53shRNA の 6 つの因子を用いることで iPS 細胞細胞の作製効率が高められた^[3]。2014 年現在、エピソーム・プラスミドを用いた方法が医療応用には有効である。

・腫瘍化リスクを最小限にする高効率 iPS 細胞樹立方法の確立

本研究領域において c-Myc を用いずに iPS 細胞を樹立することが可能であることが示され、iPS 細胞の腫瘍化リスクを小さくすることが示されたが、iPS 細胞の樹立効率の低下、樹立にかかる時間の延長、樹立した iPS 細胞の多能性の劣化などの新たな問題が出現した。これらの課題を克服するために科学技術振興機構研究課題「山中 iPS 細胞特別プロジェクト」(2008～2012 年度)や日本学術振興会研究課題最先端研究開発支援プログラム (FIRST)「iPS 細胞再生医療応用プロジェクト」(2009～2013 年度)において c-Myc の代替因子探索の研究が継続され、c-Myc と同じ Myc ファミリーである L-Myc が代替因子として有望であることが報告された⁸⁸。L-Myc を用いて作製された iPS 細胞は腫瘍形成率が低く、作製効率が高く、多能性も高い状態であることが示された。近年では iPS 細胞の腫瘍化はかなりコントロールできる水準にまで技術革新が進んでいる。

(2) 社会経済への波及と展望

① iPS 細胞を用いた我国の再生医療実現状況

ウイルスベクターを用いずに iPS 細胞が樹立されたとしても、目的の組織に分化させて移植する際に未分化状態の iPS 細胞が混在していると移植後に腫瘍が生じる可能性が残る。腫瘍化のリスクが皆無ではないが現在国内においていくつかの臨床研究が進行している。もっとも実用化に近いのは、2013 年 8 月 1 日に臨床研究がスタートした理化学研究所発生・再生科学総合研究センターの高橋政代らによる加齢黄斑変性に対する iPS 細胞を用いた細胞移植療法である。加齢黄斑変性が最も早く臨床研究を開始できたのは、もともと目という場所ではがんが発生しにくいと言われており、また、万が一がん化し移植部に何かしらの異常が発生してもレーザー治療などによって比較的簡単に移植部位からがんを取り除くことができるためであると言われていた。京都大学 iPS 細胞研究所の高橋淳らはヒト iPS 細胞から作製したドーパミン産生神経細胞の細胞移植によるパーキンソン病の治療の臨床研究を実施する準備に入っている。また臨床研究開始までには少し時間がかかるが慶應義塾大学の岡野栄之らは iPS 細胞を用いた脊髄損傷の治療法開発に取り組んでいる。東京大学の中内啓光らは iPS 細胞を用いて、マウスの体内にラットの膵臓を作製することに成功しており、将来より大型の動物を用いてヒトの臓器を作らせることが可能になるかもしれない。

⁸⁸ Nakagawa M¹, Takizawa N, Narita M, Ichisaka T, Yamanaka S. "Promotion of direct reprogramming by transformation-deficient Myc." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 2010 Aug 10;107(32):14152-7.

② 世界の再生医療における iPS 細胞の位置づけ及び ES 細胞、間葉系幹細胞を用いた再生医療との比較

臨床に向けた取り組みは、組織幹細胞が約 40 年、ES 細胞が約 20 年、iPS 細胞が約 10 年の歴史を有している。iPS 細胞に関しては世界に先駆けて、日本での加齢黄斑変性に対する iPS 細胞を用いた再生医療の臨床試験が行われることとなった。ES 細胞を用いた臨床試験は 2010 年に米国のジェンロン社が世界で初めて取り組んだ。脊椎損傷患者に対してヒト ES 細胞をオリゴデンドロサイト前駆細胞に分化させたものを注射し、15 年間追跡する試験であったが、コストがかかりすぎることから打ち切りになっている。他にも米国アドバンスト・セル・テクノロジー社が加齢黄斑変性に対する ES 細胞を用いた臨床試験を行った経緯がある。この試験で視力の改善効果が報告されている⁸⁹。アメリカでは幹細胞を用いた再生医療製品が日本と比べ、多く承認されており、代表企業に Organogenesis があり、主力製品である Apligraf（培養皮膚）の 2011 年の売り上げは約 125 億円となっている。

③ iPS 細胞の創薬、診断への応用状況

iPS 細胞の登場は製薬業界にとっても画期的なものとして受け入れられた。「時空を超えて病気の本体に迫ることができる。」と評されるように、患者由来の iPS 細胞を分化させることで、発病する様子を解析することが可能となったためである。創薬のどのようなプロセスでヒト iPS 細胞由来細胞がどのように利用されるのかをまとめると、

1. 正常ヒト iPS 細胞から分化させた心筋細胞や肝細胞による毒性試験
2. 各種ヒト体細胞に分化させて創薬スクリーニングに利用
3. 患者由来 iPS 細胞を分化させて疾患細胞モデルを作製し、新規ターゲット探索や疾患メカニズムの解明に利用
4. 臨床試験前に患者由来の細胞を用いて *in vitro* 臨床試験を行い、被験者を絞り込むこと

以上 4 点が存在する。

現時点でヒト iPS 細胞を用いた創薬の主な製品や受託サービスでは毒性試験系の開発・販売が主である。また、疾患メカニズムの解明のため樹立された疾患特異的 iPS 細胞には糖尿病、筋ジストロフィー、アルツハイマー病、CINCA (Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome) 症候群、ALS (筋委縮性側索硬化症) があり、CINCA 症候群、ALS (筋委縮性側索硬化症) 患者由来 iPS 細胞の樹立は科学技術振興機構研究課題再生医療ネットワークプログラム「疾患特異的 iPS 細胞樹立促進のための基盤形成」(2012-2016) における成果である。また、このような創薬の場における iPS 細胞の活用の為には疾患研究用 iPS 細胞バンクの整備が急務であり、再生医療実現拠点ネットワークプログラム「再生医療用 iPS 細胞ストック開発拠点」(2013~2022 年度) においてバンク整備プロジェクトが進行している。

④ 課題と将来展望

理化学研究所発生・再生科学総合研究センターの加齢黄斑変性に対する iPS 細胞を用いた細胞移植療法では、網膜色素上皮細胞の作製に時間がかかることが課題のひとつとしてあげ

⁸⁹ Schwartz SD, Hubschman JP, Franco-Cardenas GHV, Pan CK, Ostrick RM, Mickunas E, Gay R, Klimanskaya I, Lanza R, Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report, *Lancet* 379 (9817): 713-20

られている。一人の患者から iPS 細胞を作製し、その iPS 細胞から網膜色素上皮細胞を作製し移植するまでには、半年以上の時間を要する。この問題を解決するためには、移植細胞の元となる iPS 細胞を様々な主用組織適合性抗原を持つ提供者から、あらかじめ樹立、保存し、『再生医療用 iPS 細胞ストック』を構築することが考えられ、これにより迅速かつ低コストの iPS 細胞の提供が可能となる。再生医療実現拠点ネットワークプログラム「再生医療用 iPS 細胞ストック開発拠点」（2013～2022 年度）において、臨床応用を見据えた iPS 細胞の樹立および維持培養技術の標準化、安全性の確保の研究が開始されている。具体的には、初期化メカニズムの解明等に基づく iPS 細胞の高効率樹立法および安全性確認試験法の開発などを通して、今後 10 年間で、日本人の大半に適用でき、さらに欧米でも使用可能な再生医療用 iPS 細胞ストックを構築することを目指している。

(3) その他特筆すべき事項

山中は「動物の分化した細胞が、多能性幹細胞へと初期化できることを発見した。」ことにより 2012 年ノーベル生理学・医学賞を受賞した。

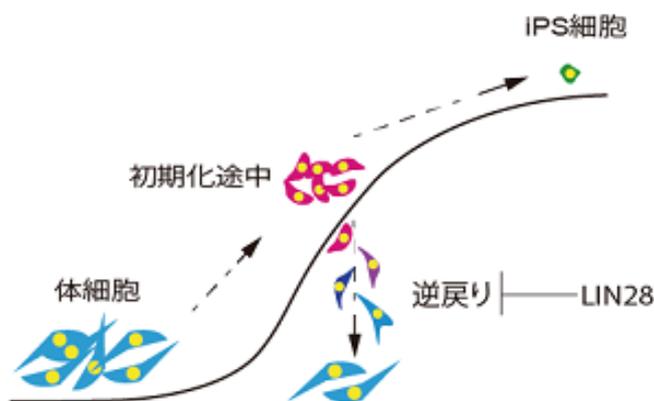


図 4-3 リプログラミング過程を表したモデル図⁹⁰

【引用文献】

- [1] 科学技術振興機構 報告書 特別シンポジウム「多能性幹細胞研究のインパクトー iPS 細胞研究の今後ー」
- [2] 山中伸弥著「iPS 細胞の世界ー未来を拓く最先端生命科学」
- [3] 最先端研究開発プログラム FIRST iPS 細胞再生医療応用プロジェクト活動報告 研究実施状況 http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/ips-rm/?page_id=1053

⁹⁰ 京都大学 iPS 細胞研究所 研究活動 <http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/pressrelease/news/130625-045041.html>