

戦略的創造研究推進事業
－CRESTプログラム－

研究領域「生体防御のメカニズム」

研究領域評価用資料

平成 15 年 3 月 17 日

1. 戦略目標

「大きな可能性を秘めた未知領域への挑戦」

我が国が、長引く景気の停滞や国内産業の空洞化を克服し、活力ある社会を維持・発展させていくためには、既存の概念にとらわれず、新たな分野・領域を開拓し、独創的・革新的な技術の創生を通じて、新技術・新産業を創出していかなければならない。また、我が国の国際的立場に鑑みれば、それ自身が価値を有するものとしての、人類の新しい知的資産の拡大にも積極的に貢献していく必要がある。

このような観点から、多くの新たな知見の獲得が期待されてはいるが、未だ知られていないことが多い領域、例えば、複雑で多様な生命現象の解明、分子・原子単位の極微細な領域の解明及び超高圧・超高真空等の極限的な状態における現象の解明、新たな情報技術の探索を通じて、革新的な技術の確立を目指す研究を進めることが不可欠である。

したがって、戦略目標を、以上のような多くの未知を抱えた領域の現象の解明等により知的資産を拡大するとともに、新技術・新産業の創出を目指す「大きな可能性を秘めた未知領域への挑戦」とする。

2. 研究領域

「生体防御のメカニズム」（平成7年度発足）

生物が自らを守るために備えている生体防御のメカニズムについての研究を対象とするものである。

具体的には、動物から植物に至る種々の生物の備えている免疫機能や外的防御の機構を、個体、組織、細胞、分子・遺伝子などの観点から追求する。さらに生体防御の破綻を引き起こす種々の疾病（免疫関連疾患、ウイルス性疾患、癌など）の誘因や、その診断・治療および予防に関する基礎生物科学的な研究も対象とする。

3. 研究総括

氏名 橋本 嘉幸

（共立薬科大学 理事長）

4. 採択課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	終了時 所属・役職	研究課題	研究費
平成 7年度	審良 静男	大阪大学 教授	遺伝子改変に基づく生体防御システムの解明	531
	飯野 正光	東京大学 教授	カルシウムシグナル研究の先端的手法による展開	675
	岩村 俣	京都大学 教授	植物の感染防御機構の生物有機化学的解明	523
	奥村 康	順天堂大学 教授	免疫系と神経・内分泌系の立体的分子機構の解明	647
	神奈木真理	東京医科歯科大学 教授	ウイルス持続感染による生体防御機構の破綻とその免疫治療法の開発	592
	高井 俊行	東北大学 教授	Fc 受容体を介する生体防御システムの解析	529
	永田 和宏	京都大学 教授	普遍的な生体防御機構としてのストレス応答	668
	名取 俊一	理化学研究所 特別招聘研究員	昆虫の生体防御分子機構とその応用	606
平成 8年度	菅村 和夫	東北大学 教授	サイトカイン機能不全の分子機構と遺伝子治療	759
	田中 啓二	都臨床医学総合研究所 部長	超分子システムによる免疫識別の分子機構解明	714
	谷口 克	千葉大学 教授	自己免疫制御の分子基盤	707
	福島 昭治	大阪市立大学 教授	環境発がん物質の低濃度発がんリスクの解明	677
	松島 綱治	東京大学 教授	炎症反応分子機構の IL-8、細胞接着因子を中心とした解析	698
	前田 進	理化学研究所 主任研究員	昆虫ウイルスと宿主との分子応答機構とその応用	306
平成 9年度	石井 俊輔	理化学研究所 主任研究員	仲介因子を介した遺伝子発現制御の解明	600
	大橋 祐子	農業生物資源研究所 特待研究員	遺伝子の不活化・活性化を通じた生体防御	531
	岡田 泰伸	岡崎国立共同研究機構 教授	細胞容積調節の分子メカニズムとその破綻防御	556
	川嵯 敏祐	京都大学 教授	糖鎖シグナルを介する生体防御システムの解析	668
	笹月 健彦	国立国際医療センター研究所 所長	免疫系のフレームワーク決定及び免疫制御の分子機構	596
	杉山 雄一	東京大学 教授	異物排除システムの分子基盤	663
	中内 啓光	東京大学 教授	造血幹細胞の分化と自己複製の制御機構	580
			総研究費	12826

5. 研究総括のねらい

動物から昆虫、植物に至る種々の生物が備えている免疫機能や外的防御の機構を、個体、組織、細胞、分子・遺伝子などの観点から追求し、更には生体防御の破綻を引き起こす種々の疾病の誘因や、その診断・治療及び予防に関する基礎生物学的な研究を対象として研究提案を選定し、基礎的に高水準の独創的な研究を推進することが、ひいては応用へ展開する確かな礎となるものと考えた。

6. 選考方針

(1)先導的、独創的な基礎研究であって、国際的にも高く評価され得るもの、(2)今後の科学技術に大きなインパクトを与え得るもの、或いは技術の進歩に寄与し得るもの、(3)これまでの研究が著名な学術誌等に受理されていること、(4)研究チームを構成する研究者が大いに飛躍し、将来日本の科学技術の中心的役割を果し得ることが期待できること等を基本に、各分野のアドバイザーの意見を参考に、公正で偏りのない選考を心掛けた。

7. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザー名	所属	役職	任期
伊東 信行	名古屋市立大学	名誉教授	平成8年3月～平成15年3月
宇井 理生	東京大学	名誉教授	平成8年3月～平成15年3月
小川 智也	理化学研究所	副理事長	平成8年7月～平成15年3月
岸本 忠三	大阪大学	学長	平成8年3月～平成15年3月
京極 方久	東北大学	名誉教授	平成8年3月～平成15年3月
水谷 純也	北海道大学	名誉教授	平成8年3月～平成15年3月

動物から昆虫、植物に至る対象の生物が多岐にわたり、且つ広い分野を包含する「生体防御のメカニズム」の領域のアドバイザーとして、伊東信行先生は病理学、特に発癌、環境因子の、宇井理生先生は、分子・細胞生物学の、小川智也先生は農学、糖鎖、分子生物学の、岸本忠三先生は免疫、サイトカイン、シグナル伝達の、京極方久先生は免疫、炎症の、水谷純也先生は農学、植物有機化学のエキスパートとして人選した。

8. 研究領域の運営について

採択された課題は、大型研究費を5年間に渡って受領する研究代表者の決意表明を兼ねて、その研究内容や計画を一般に公開するためのシンポジウムを採択年度順に3年間に渡り開催した。研究開始から約2年の経過を目途に、共同研究者を含む研究成果の報告会を研究代表者の研究実施場所で開催し、研究目標の妥当性、研究の進捗状況と今後の発展性、研究組織の妥当性について、一部アドバイザーの参加の下に検討した。幾つかの課題に関しては、研究体制の変更やテーマの絞込みを助言し、その結果、研究目標が明確になり、その後の研究が進捗したものもある。この成果報告会は中間評価の約半年前に行われ、研究課題毎に、研究の進捗状況や研究成果を把握し、これを基に適切な予算配分、研究計画の見直しを行う等により、研究運営の改善及び事業団の支援体制の改善に資することを目的する中間評価や、研究の実施状況、研究成果、波及効果等を明らかにし、今後の研究成果の展開及び事業の運営の改善に資することとする事後評価をスムーズに行うことを可能にした。また、毎年度の予算配分を決定した後、5月から6月にかけて、研究代表者による、前年度の研究進捗状況と本年度の研究計画の説明

会を研究事務所で開催し、建設的なアドバイスをを行った。

9. 研究を実施した結果と所見

平成7年度

160件の応募課題の中から8件の研究課題を採択した。平成8年4月から平成13年3月までの5年間の研究成果として、国際的学術雑誌への論文掲載数は400報以上に及んでいる。特に科学的インパクトが高いとされている、Nature 及びその姉妹誌 Nature Medicine、Nature Cell Biology、Nature Immunology に合計6報が掲載され、その他 Science 4報、Cell 1報、Immunity 7報、Trends in Neurosciences 1報、Genes & Development 1報、Molecular Cell 2報、Neuron 2報、Journal of Experimental Medicine 15報、EMBO Journal 9報、Journal of Cell Biology 4報、Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 14報に掲載されるなど、独創性が高く、国際的にも高く評価できる研究成果が挙げている。各研究課題の主要な成果は以下の通りである。

- 1) 審良代表者；「遺伝子改変に基づく生体防御システムの解明」：それぞれ対応する遺伝子のノックアウトマウスを作成し、細胞質内領域において IL-1 受容体と相同性の高い Toll-like receptor (TLR) の中で、TLR9 が病原菌の DNA を認識する受容体であること、TLR2 がグラム陽性菌のペプチドグリカンや病原菌のリポ蛋白を、TLR4 がリポ多糖を認識することを明らかにした他、免疫応答の誘導に関わる I κ B キナーゼ α (IKK α) が四肢や皮膚の分化で重要な役割を担っていることを明らかにした。これらの成果は、自然免疫 (innate immunity) 系の活性化機構から抗原特異的な獲得免疫系の活性化に至る経路の解明につながるものである。
- 2) 飯野代表者；「カルシウムシグナル研究の先端的手法による展開」：二光子励起法、カルシウム貯蔵内腔のカルシウムイメージング、ケージド化合物法、遺伝子ターゲティング法等の研究手法を組み合わせ、中枢神経細胞、筋細胞、B 細胞、外分泌腺細胞などにおけるカルシウムシグナル伝達の分子メカニズムを追究し、カルシウムシグナルと生理機能との関連を明らかにするなどの成果を挙げた。細胞内シグナル可視化法の先鞭をつけるこの研究は、シグナル伝達機構研究に強いインパクトを与えるものである。
- 3) 岩村代表者；「植物の感染防御機構の生物有機化学的解明」：共同研究者と共に、植物における感染防御機構を感染により誘導される化学物質 (フィトアレキシン) を中心に研究を進め、コムギにおけるベンゾキサジノン生合成遺伝子の細胞遺伝学的解析は学術的に興味深い成果であり、イネのサクラネチン生合成遺伝子のクローニングは、この遺伝子のトランスジェニック植物の作出から実用化につながる技術として役立つものである。また植物とその根圏微生物との関わりの化学生態学的考察は農作物の病害防除に新たな道を拓くものと期待される。
- 4) 奥村代表者；「免疫系と神経・内分泌系の立体的分子機構の解明」：TNF (腫瘍壊死因子)/TNFR (TNF 受容体) ファミリー分子の生理的機能の追究にテーマを絞り、キー分子のモノクローナル抗体を世界に先駆けて作製して、診断・治療への応用を図った。また、アポトーシスを誘導する分子として認識されていた Fas リ癌ドが好中球を誘引して炎症を惹起すること、TRAIL (TNF 関連アポトーシス誘導リ癌ド) が種々の癌細胞の肝転移に対する抑制因子として働くことを発見するなどの成果を挙げた。
- 5) 神奈木代表者；「ウィルス持続感染による免疫均衡の破綻機序とその免疫治療法の開発」：ヒト成人 T 細胞白血病ウィルス、HTLV-I による T 細胞リンパ腫瘍のモデルラットを樹立して、生体レベルでの抗腫瘍免疫の解析を可能にした。その解析から得られたウィルス抗原によってワクチンを試作し、抗腫瘍効果を確認するなどの成果を挙げた。成人 T 細胞白血病 (ATL) や後天性免疫不全症候群 (AIDS) の治療法の開発につながる成果として期待できる。
- 6) 高井代表者；「Fc 受容体を介する生体防御システムの解析」：抗体の一部である Fc に対する受容体の欠損マウスを作出してアレルギーや自己免疫疾患の発症機序の解明に貢

献した。これら欠損マウスは治療法開発のためのモデル動物としても極めて有用であり、今後の発展が期待できる。

- 7) 永田代表者；「普遍的な生体防御機構としてのストレス応答」：コラーゲン特異的分子シャペロンである熱ショック蛋白 HSP47 の発見とその機能の解明、マンノース 8 型レクチンとして小胞体での品質管理を担う新規 II 型膜蛋白質の発見、変性基質のシャペロン間の受け渡し機構の解明、小胞体ストレス制御を担う新規蛋白質 IRE1 β による rRNA を介した翻訳調節機構の発見などの成果を挙げた。特に HSP47 はさまざまな線維化疾患に関わっており、その治療法開発につながるものとして期待される。
- 8) 名取代表者；「昆虫の生体防御分子機構とその応用」：昆虫のセンチクバエを研究材料に、その生体防御分子として発見された 5-S-GAD の生理活性機構の解明、抗菌蛋白ザーペシン B の活性部位の同定の他、幼虫の体液細胞と蛹の体液細胞の間での蛋白質の質的相違を調べ、不要になった幼虫細胞を掃除するために蛹の時期だけに出現するスカベンジャー受容体であることを示唆する 120kDa 蛋白を発見するなどの成果を挙げた。これらは国内外に殆ど類例がない独創的な研究であり、将来細胞選択性のある抗癌剤、感染症治療薬、骨粗鬆症治療や予防薬の開発につながるものとして期待される。

以上の本領域における成果の一部は、国内 37 件、外国・国際 18 件の特許として出願され、疾病モデル動物やモノクローナル抗体に関するものが、企業との間で実施許諾の契約が取り交わされつつある。また、ヒト白血病ウィルスに対するワクチンの開発や自己免疫疾患モデル動物の開発に関する発明が、権利化試験などの事業団プログラムに採択されて、知的財産の蓄積に貢献した。

平成 8 年度

167 件の応募課題の中から 6 件の研究課題を採択した。残念なことに、平成 10 年 3 月に理化学研究所主任研究員前田進代表者が逝去され、一課題が途中で終了せざるを得なくなった。平成 8 年 12 月から平成 13 年 11 月までの 5 年間の研究成果として、国際的学術雑誌への論文掲載数は 300 報以上に及んでいる。特に科学的インパクト (Impact Factor) が高い Nature 及びその姉妹誌 Nature Medicine、Nature Genetics に合計 4 報が掲載され、その他 Science 2 報、Immunity 6 報、Genes & Development 2 報、Molecular Cell 2 報、Journal of Experimental Medicine 15 報、EMBO Journal 7 報、Journal of Cell Biology 2 報、Journal of Clinical Investigation 6 報、Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 7 報など、独創性が高く、国際的にも高く評価できる研究成果が挙げている。各研究課題の主要な成果は以下の通りである。

- 1) 菅村和夫代表者；「サイトカイン機能不全の分子機構と遺伝子治療」：複数の新規シグナル分子を単離し、それらの中で T 細胞の分化・増殖・生存に必須に関わる STAM1 と 2、並びに Grf40/Gads を同定すると共に、OX40L 欠損マウスが抗原提示機構に障害を示すことを見出し、これらの遺伝子変異がヒト免疫不全症の原因になる可能性を指摘した。一方、OX40L のトランスジェニックマウスを作出して解析し、T 細胞において OX40L が恒常的に発現すると免疫寛容破綻が生じ、自己免疫様間質性肺炎並びに腸炎が自然発症することを見出し、自然発症自己免疫モデルマウスとして極めて有用と思われる。また、IL-6 ファミリーのサイトカインであるオンコスタチン M(OSM)の機能と受容体の分子構造を明らかにすると共に、その機能解析から造血系と肝臓の分化を調整するパラクライン因子であることを明らかにするなどの成果を挙げた。
- 2) 田中啓二代表者；「超分子システムによる免疫識別の分子機構解明」：巨大な多分子集合体であるプロテアソームが抗原プロセッシング酵素として作用するとき、主要な免疫調節サイトカインである IFN γ に応答して構造変換し、抗原提示による免疫識別を巧妙に制御していることを明らかにした。その過程で触媒サブユニットを変換した免疫プロテアソームや調節ユニット PA28 と PA700 の二種の活性化因子を共有したハイブリッド

プロテアソームを発見した。また、シャペロン型ユビキチン連結酵素 CHIP の特異的な機能の解明、若年性パーキンソン病の原因遺伝子パーキンの機能解析、主組織適合抗原複合体 (MHC) の染色体重複モデルの提唱等の重要な成果を挙げている。

- 3) 谷口克代表者；「自己免疫制御の分子基盤」：NKT 細胞にのみ分化する前駆細胞の存在の証明、V α 14 抗原受容体遺伝子の発見と NKT 細胞分化、V α 14 抗原受容体リ癌ド (α -GalCer) の発見、 α -GalCer と CD1d 分子の相互作用、NKT 細胞欠損マウスと NKT 細胞以外の他のリンパ球のないマウスを作製して、NKT 細胞の自己免疫疾患抑制など Th2 型作用を証明する等の成果を挙げた。また、肺癌を対象に NKT 細胞療法の臨床試験を開始するなど、癌治療、自己免疫病の解明と治療に向けて今後の展開が大いに期待される。
- 4) 福島昭治代表者；「環境発癌物質の低濃度発癌リスクの解明」：低用量発癌性を種々のマーカーを用いて解析し、遺伝毒性発癌物質及び非遺伝毒性発癌物質の両者で無作用量のあることを示し、社会的に意義の大きな問題を真に科学的な実験の積み重ねで追及したことは高く評価できる。また、トランスジェニックラットの作製による、乳腺前立腺などの発癌高感度検出法や遺伝子変異高感度定量法は、さらなる発展の余地があり医薬品や農薬の開発に有用であるばかりでなく、環境汚染物質のマネジメントの上でも不可欠なものになると思われる。
- 5) 松島綱治代表者；「炎症反応分子機構の IL8、接着因子を中心とした解析」：様々な疾患モデルを通して、走化性因子であるケモカインが、種々の炎症性疾患で重要な役割を演じていることを示し、炎症制御因子としてのケモカインの役割を鮮明にした。また、TARC/MDC の受容体 CCR4 が、ヒト末梢血 CD4 陽性、CD45RO 陽性 Th2 細胞に特異的に発現していること明らかにし、アトピー性皮膚炎、喘息患者の病態等の疾病に連ねた研究を推進した他に、樹状細胞の局所から所属リンパ節への遊走機能が実際の病変の転帰に極めて需要であることが判明し、ケモカインによってリクルートされる樹状細胞が局所免疫と獲得免疫をリンクすると言う新しい概念を提供するなどの成果を挙げた。
- 6) 平成8年12月から平成11年3月まで行われた前田代表者の研究課題「昆虫ウィルスと宿主との分子応答機構とその応用」：昆虫を宿主とするバキュロウィルスに着目しアポトーシスを阻止する p53、死後の幼虫の体を崩壊するプロテアーゼ、宿主の脱皮を抑制する UDP-glucosyltransferase などの遺伝子をウィルスが保持することを見出すなどの成果を挙げている。

以上の成果の一部は、国内20件、外国・国際10件の特許として出願され、また遺伝子導入動物に関する発明のいくつかは、実施許諾について企業と協議されている。

平成9年度

112件の応募課題の中から7件の研究課題を採択した。平成9年11月から平成14年10月までの5年間の研究成果として、国際的学術雑誌への論文掲載数は360報以上に及んでいる。特に科学的インパクトが高い Nature 及びその姉妹誌 Nature Genetics、Nature Medicine、Nature Immunology に合計7報が掲載され、その他 Science 2報、Cell 2報、Immunity 1報、Genes & Development 1報、Molecular Cell 2報、Journal of Experimental Medicine 6報、EMBO Journal 4報、Journal of Cell Biology 3報、FASEB Journal 1報、Trends in Pharmacological Sciences 1報、Journal of Clinical Investigation 1報、Plant Cell 2報、American Journal of Human Genetics 1報、Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 7報など、独創性が高く、国際的にも高く評価できる研究成果が挙げられた。各研究課題の主要な成果は以下の通りである。

- 1) 石井俊輔代表者；「仲介因子を介した遺伝子発現制御の解明」：発癌遺伝子 *ski* とこの関連遺伝子 *sno* の産物が HDAC (histone deacetylase) と複合体を形成し、コリプレッサーとして機能すること、またある場合には細胞増殖を負に制御して癌抑制因子とし

ても機能すること、複数のコリプレッサーが、癌遺伝子産物 Myb による転写活性化を阻害すること等を明らかにした。これらの成果は、従来ブラックボックスであった核内構造体と遺伝子発現制御との関連を解き明かす手がかりを与えるものと高く評価される。

- 2) 大橋祐子代表者；「遺伝子の不活化・活性化を通じた植物の生体制御」：植物特有の自己防御機構である過敏感細胞死とこれに伴う誘導抵抗性のメカニズムを研究し、過敏感細胞死には葉緑体が重要な役割を果たしていること、カルモジュリンが誘導抵抗性に関与していること等を明らかにした。また、導入遺伝子の不活化機構を解析し、外来遺伝子の不活性化が細胞増殖により回復すること、DNA メチル化を伴う遺伝子不活性化はトランスポゾン抑制のための自己防御であること等の知見を得た。これらは、植物での外来遺伝子導入、発現を人為的に制御する技術開発にとって重要と思われる。
- 3) 岡田泰伸代表者；「細胞容積調節の分子メカニズムとその破綻防御」：細胞容積調節、特に膨張後の容積調節 **Regulatory Volume Decrease (RVD)** の分子メカニズムの詳細な解析を行い、容積増を検知して活性化する容積センサーチャネルとして容積感受性 Cl^- チャネルを同定した他、新たな容積依存性・ATP 伝導性マキシアニオンチャネルを見出した。また、アポトーシスやネクローシス細胞死に容積調節性アニオンチャネルの変調などの細胞容積調節異常が本質的に関与することを初めて明らかにし、細胞容積調節装置を虚血性細胞死防御のターゲットとする可能性を示唆した。
- 4) 川崎敏祐代表者；「糖鎖シグナルを介する生体防御システムの解析」：マンナン結合タンパク質(MBP)が補体非依存的細胞傷害作用により癌増殖抑制作用を持つこと、癌細胞表面の MBP リ癌ドがフコースを含む血液型関連糖鎖エピトープ含む新規なポリラクタミン型糖鎖であること等を明らかにした。更に、各種サイトカインがレクチン活性を持ち、サイトカインによるシグナル伝達において、糖鎖リ癌ドとの結合が調節因子として重要な役割をもつことを明らかにした。これらの知見は、癌の遺伝子治療や先天的 MBP 欠損者に対する補充療法に利用されることが期待される。また、カプトガニより新たに数種のレクチンを単離し、これらのX線結晶構造解析に成功して「パターン認識」機構を原子レベルで解明し、自然免疫の分子基盤解明に役立つものと期待できる。
- 5) 笹月健彦代表者の研究課題「免疫系のフレームワーク決定及び免疫制御の分子機構」では、1種類の抗原ペプチドのみを結合した MHC(主要組織適合抗原)を発現する遺伝子改変マウスを作製し、T 細胞レパートリー形成における TCR(T 細胞受容体)-MHC/ペプチド相互作用の解析から、同じ MHC/自己抗原ペプチド複合体が胸腺での発現量に応じて正の選択のリ癌ドにも負の選択のリ癌ドにもなり得ること、正の選択においても特異的な TCR-ペプチド相互作用が関与し得るが、その際 TCR と直接相互作用を持つアミノ酸残基の側鎖の大きさや荷電の有無が、選択される T 細胞レパートリーの多様性に影響することを明らかにした。また、細胞骨格を制御する CDM ファミリーに属し、リンパ球特異的に発現する分子として DOCK2 を同定し、これがリンパ球遊走に必須な分子であることを明らかにする等の成果を挙げた。ここで得られた知見は、自己免疫、移植免疫、或いは癌免疫といった様々な分野で応用されることが期待できる。
- 6) 杉山雄一代表者；「異物排除システムの分子基盤」：一次性および二次性能動輸送担体による異物解毒の分子機構について、薬物体内動態および病態との関連、蛋白構造と機能との関連という観点から検討を加え、多くの新規トランスポーターの同定・機能解析、薬物体内動態・抗癌剤耐性における役割を明らかにした他、カルニチン欠乏症の疾患遺伝子の同定、Dubin-Johnson 症候群発症の分子機構を明らかにした。また、大腸菌の異物排出蛋白 ArcB の X 線結晶構造解析に成功し、その構造を基に異物認識・輸送機構を論じることが可能にした。これらは、医薬品開発において重要な知見を提供しているだけでなく、薬物投与設計を行うテーラーメイド医療を実践する上で基本

骨格をなすものと期待される。

- 7) 中内啓光代表者；「造血幹細胞の分化と自己複製の制御機構」：高度に純化された造血幹細胞を用いて *in vitro* ならびに *in vivo* の両方で造血幹細胞の分化と自己複製の様式をクローナルに解析する方法を確立した。また、造血幹細胞の能力を定量的に解析する方法を開発し、造血幹細胞の自己複製能に限界があることを実験的に証明するとともに、自己複製に関与する分子群を同定した。これらは、他人の骨髄細胞に依存している骨髄移植の問題を克服するために重要である。また、造血幹細胞の分離に用いた方法を応用して実質臓器である肝臓の幹細胞を分離同定することにも成功し、他の組織幹細胞の解析に重要な方法論を提供した。

以上の成果の一部は、国内14件、外国・国際8件の特許として出願され、疾病モデル動物に関するものが、企業との間で実施許諾の契約が取り交わされつつある。また、細胞容積調節装置を虚血性細胞死防御のターゲットとする薬剤の開発が、権利化試験などの事業団プログラムに採択されて、知的財産の蓄積に貢献した。

10. 総合所見

1. 現時点での研究領域としての成果（課題選考、領域運営、中間・事後評価等を総合して）

「生体防御のメカニズム」研究領域においては、先ず、その目指す研究目的を明確にすることにより研究者の選考を行うことが要求された。そのためには研究分野の範囲や実用性をどこまで考慮するべきかが問題となった。考慮の結果、対象はヒトや動物に限らず、昆虫や植物を包含した生物全体における防御機構を、高度の基礎研究を基にして、実用化を目指す研究に絞ることとして研究課題を募集した。課題の採用に当たっては各分野で指導的立場にあ方々5人をアドバイザーとして人選した。書類選考、ヒアリングにより各年度の採択課題を決定したが、各アドバイザー間の若干の視点の相違もあり、ホットな論議を重ねての結果であった。

領域終了時まで得られた研究成果は当初の予想をはるかに越えていた。その成果は多くの一流国際誌に発表され、総数は1000報を越えた。また、それらの中には国際的に最高のジャーナルと評価されている *Nature* 及びその姉妹誌、*Science*, *Cell* などへの発表も多く含まれ、研究レベルの高さを物語っている。研究成果の実用化につながる特許に関しても国内71、国外36が出願されている。これらの中で、3件が企業に実施許諾され、12件が実施許諾の交渉中である。

運営に当たっては各年度の当初において各代表者より当該年度の計画を聴取し、代表者及び共同研究者が提出した備品、消耗品、人件費などの細目にわたる経費を綿密に調査して配分額を決定した。決定後は事務部が実際の運営に当たり、備品購入に当たっての機種選定、価格、設置場所などについて研究者と話し合っ決定し、消耗品についてもその適切さを検討の上、購入に当たった。また、国外旅費については提出された申請書を統括も含めての検討を行い支給し、出張後の報告も統括により検討された。

研究費の運用に当たって特記すべきことは、上記のようにすべての項目に亘って事務部が正当な運用を図ったため、使途そのたの問題が本領域の終了まで皆無であったことであろう。

研究評価は1) 研究費配分当初（統括）、2) 中間評価並びに3) 終了時評価などで行った。中間評価は統括及びアドバイザーにより行い、その一つは2年次終了時に

統括及びアドバイザーが各代表者の施設を訪問（サイトビジット）し、そこで共同研究者の発表も聴取して行った。研究終了時の評価は前述の終了報告公開シンポジウムの後に統括及びアドバイザーにより新たに代表者のヒアリングを行い評価した。最終報告は各年次、研究終了報告者として印刷、公表されている。なお、各課題の成果並びに評価の結果は科学技術振興事業団のウェブを介しても公表されている。

2. 本研究領域が存在したことによるメリット、基礎研究に対する功績、問題点等

「生体防御のメカニズム」研究領域設定により、これまで各生物や各分野で分離して行われていた諸研究が、一つの組織として活動することにより、生物における“生体防御のメカニズム”についての総括的な知見の集積と統合的な解釈が可能になったことは大きな収穫であったと思われる。昆虫における防御遺伝子の一つを植物に導入すると植物でも感染防御に働くこと、昆虫における防御タンパク質がほ乳動物の癌に有効であるとの知見、さらにはヒトや動物細胞における受容体（TLR, Fc、ケモカイン受容体など）が感染防御のみならずアレルギーなどの炎症や癌にも関係することが本領域の研究で明らかになり、関連するヒトや動物、さらには植物の疾病予防や治療への応用が示唆されたことなどが例として挙げられる。

もう一つのメリットは高額の研究費が長期（5年間）に継続して補助されたことにより、研究者が集中して自分の目指す研究に取り組めたことで、そのために研究費から人件費を支給しえたことが挙げられる。世界中でその必要性が考えられていた癌原性物質の量的な閾値の存在が本領域の一つの研究により初めて明らかにされたことなどがその一例である。

本領域での研究は上述のごとくいずれも高度のレベルの基礎研究として世界的にも評価されされているものが多い。しかし、単に基礎研究に留まらず、研究者が実用化という目途をもって研究を計画し、遂行したことがその特徴でもある。

問題点としては課題研究終了後の処理があろう。高度の研究成果が挙げられ、実用化への夢が生まれたとしても、その研究を続行するための補助が必ずしも十分ではない。せっかく生み出された財産を活用するための方策を打ち出すことが必要であろう。

3. 研究領域単位で研究を遂行することの意義

2に記述

4. 感想、その他

本領域は「戦略的基礎研究推進事業（CREST）」の発足時に設定された領域であり、成功するか否かについてはやや不安もあった。特に採択に漏れた研究者からは批判も強かったが、終わってみれば多大の成果が挙り、その批判に対する心配は杞憂に終わった。CRESTの成功はこれまでにない多額の研究費補助を行うという政府の英断によると同時に、それを支えた科学技術振興事業団の努力にも負うところが多い。

本領域に関しては、成功の原因はの一つは適切なアドバイザーの参画にあったと思う。それにより各分野の優れた研究者を採択することができ、またその後の研究の進展に対して有用な助言を賜った。さらに、各代表者が統括やアドバイザーの助言を真摯に受け入れて研究に活かしてくれたこともよい成果が挙がる原因ともなったと思われる。特に中間評価での共同研究者の評価により、共同研究者の入れ替えを行って研究の焦点を合わせてくださったことは大変有難かった。運営に関しては技術参事、事務参事並びに事務員が公正に事務処理を行い、予算執行を適正に行い、またそれに対して事業団の方々が懇篤に援助してくださったことも本領域の運営が成功した原因と考える。

領域評価用資料 添付資料（CRESTプログラム）
研究領域「生体防御のメカニズム」

1. 応募件数・採択件数

応募件数・採択件数一覧表

採択年度	(A)応募件数	(B)採択件数	(C)倍率
7 年度	1 6 0 件	8 件	2 0 . 0 倍
8 年度	1 6 7 件	6 件	2 7 . 8 倍
9 年度	1 1 2 件	7 件	1 6 . 0 倍

2. 主要業績

研究領域「生体防御のメカニズム」における研究成果の概要（H7 年度採択課題）

H7年度採択 研究代表者名	論文発表		学会発表		外部発表計	特許出願件数 国内（外国）
	英文	和文	国際	国内		
審良 静男	5 6	0	9	6 4	1 2 9	9（8）
飯野 正光	6 1	5	9	3 5	1 1 0	3（1）
岩村 俣	5 1	2 5	9	9 5	1 8 0	4（2）
奥村 康	5 1	0	1 5	5	1 5 1	2
神奈木 真理	3 1	6	9	6 0	1 0 6	2（2）
高井 俊行	3 8	1 0	1 1	6 8	1 2 7	1 0（5）
永田 和宏	8 6	5	5 8	1 6 5	3 1 4	2
名取 俊二	7 2	5	6	8 7	1 7 0	5
合計	4 4 6	5 6	1 2 6	6 5 9	1 2 8 7	3 7（1 8）

代表的な論文

（1）審良 静男 「遺伝子改変に基づく生体防御システムの解明」

① Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, and Akira S. A Toll-like receptor that recognizes bacterial DNA. *Nature*, 408, 740-745 (2000)

新規 Toll-like receptor (TLR) である TLR9 を同定し、その欠損マウスを作製、解析した。欠損マウス由来のマクロファージ、脾細胞や樹状細胞は CpG DNA に対する反応性が欠如していた。更にシグナル伝達経路を解析すると NF- κ B や JNK、IRAK の活性化も欠如していた。細菌 DNA に対する免疫細胞の活性化には、TLR9 が重要な役割を担っていることが明らかになった。

② Takeda K, Takeuchi O, Tsujimura T, Itami S, Kawai T, Sanjo H, Yashikawa K, Terada N, and Akira S. Limb and skin abnormalities in mice lacking IKK α . *Science*, 284, 313-316 (1999)

IKK α の欠損マウスを作製し、解析した。IKK α は NF- κ B の活性化を通じた四肢、皮膚の発生において必須であることが示された。一方、IL-1、TNF による NF- κ B の活性化は傷害されておらず、IKK α はサイトカインによる NF- κ B の活性化には必須ではないことが示された。

③ Takeda K, Tsutsui H, Yoshimoto T, Adachi O, Yoshida N, Kishimoto T, Okamura H, Nakanishi K, and Akira S. Defective NK cell activity and Th1 response in IL-18-deficient mice. *Immunity*, 8, 383-390 (1998)

IL-18 欠損マウスでは、LPS 刺激後の IFN- γ 産生の低下、NK 細胞活性の低下、P. acnes、BCG 感染後の Th1 反応の低下がみとめられ、これらの障害は完全ではない。同様の障害は IL-12 欠損マウスでも認められたので、IL-12、IL-18 両欠損マウスを作製したところ、NK 活性、Th1 反応の顕著な低下が認められ、両サイトカインが生体内で、共同作用を示すことで、十分な機能を発揮することが明らかにされた。

（2）飯野 正光 「カルシウムシグナル研究の先端的手法による展開」

① Hirose K, Kadowaki S, Tanabe M, Takeshima H, and Iino M. Spatiotemporal dynamics

of inositol 1,4,5-trisphosphate that underlies complex Ca^{2+} mobilization patterns. *Science*, 284, 1527-1530 (1999)

IP3 受容体上流のシグナル伝達機構について解明するため、細胞内 IP3 濃度の変動を単一細胞レベルで実時間測定できるシステムを開発することに成功した。これにより、IP3 自身も時間的・空間的分布をすることを初めて明らかにした。

② Nemoto T, Kimura R, Ito K, Tachikawa A, Miyasita Y, Iino M, and Kasai H. Sequential- replenishment mechanism of exocytosis in pancreatic acini. *Nature Cell Biology*, 3, 253-258 (2001)

腺房構造を保った膵臓外分泌腺細胞の 3 光子自家蛍光イメージング、2 光子イメージングを行い、新しい逐次開口放出過程を可視化し、その定量法を確立した。これにより、単一の分泌顆粒の融合によって生じるオメガ構造の構造的な安定性に起因することや、新しい融合準備顆粒の充填機構の存在を明らかにした。

③ Takeshima H, Komazaki S, Nishi M, Iino M, and Kangawa K. Junctophilins : a novel family of junctional membrane complex proteins. *Molecular Cell*, 6, 11-22 (2000)

骨格筋三つ組構造中に存在する新規膜タンパク質、ジャンクトフィリンは表層膜と特異的に結合し小胞体膜を貫通することにより、結合膜構造の形成に寄与する分子であることを明らかにした。

(3) 岩村 俣 「植物の感染防御機構の生物有機化学的解明」

① Sue M, Ishihara A, and Iwamura H. Purification and characterization of a hydroxamic acid glucoside β -glucosidase from wheat(*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Planta*, 210, 432-438 (2000)

コムギにおいてベンゾキサジノン類配糖体に特異的なグルコシダーゼが従属栄養期に特異的に発現していることを見出し、このグルコシダーゼを単離精製してその性状を明らかにした。

② Tamogami S, Rakwal R, and Kodama O. Phytoalexin production by amino acid conjugates of jasmonic acid through induction of naringenin-7-O-methyltransferase, a key enzyme on phytoalexin biosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.). *FEBS Letters*, 401, 239-242 (1997)

イネのファイトアレキシンのエリシターによる誘導について調べ、アミノ酸結合型ジャスモン酸の中で、ロイシン、フェニルアラニン結合型が特に高い活性を有すること、このエリシター活性とサクラネチン合成酵素活性との間には相関関係があることを明らかにした。

③ Mizutani M, Hashidoko Y, and Tahara S. Factors responsible for inhibiting the motility of zoospores of the phytopathogenic fungus *Aphanomyces cochlioides* isolated from the non-host plant *Portulaca oleracea*. *FEBS Letters*, 438, 236-240 (1998)

ハウレンソウ根腐病菌の遊走子の遊泳停止は N-trans-ferykiyltyramine と 1-lynoleoyl-2-lysophosphatidic acid の共存によって引き起こされ、前者は単独では遊走子を興奮させ後者は単独では忌避させた。

(4) 奥村 康 「免疫系と神経・内分泌系の立体的分子機構の解明」

① Takeda K, Hayakawa Y, Smyth MJ, Kayagaki N, Yamaguchi N, Kakuta S, Iwakura Y, Yagita H, and Okumura K. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells. *Nature Medicine*, 7, 94-100 (2001)

TNF ファミリーに属し、アポトーシスを誘導する TRAIL は、肝臓の NK 細胞では恒常的に発現されていて、それは IFN γ に依存していること、種々の癌細胞の肝転移に対して抑

制因子として機能していることを明らかにした。

② Akiba H, Miyahira Y, Atsuta M, Takeda K, Nohara C, Futagawa T, Matsuda H, Aoki T, Yagita H, and Okumura K. Critical contribution of OX40 ligand to T helper 2 cell type 2 differentiation in experimental leishmaniasis. *Journal of Experimental Medicine*, 191, 375-380 (2000)

OX40 を介するシグナルが CD28 非依存的に T 細胞に補助シグナルを導入すること、リーシュマニア感染症における Th2 タイプのサイトカイン産生には OX40/OX40L 相互作用が必須であることを明らかにした。

③ Takumi T, Taguchi K, Miyake S, Sakakida Y, Takashima N, Matsubara C, Maebayashi Y, Okumura K, Takekida S, Yamamoto S, Yagita K, Yan L, Young MW, and Okamura H. A light independent oscillatory gene mPer3 in mouse SCN and OVLT. *EMBO Journal*, 17, 4753-4759 (1998)

新規な哺乳類 period ファミリーとして見出した mPer3 の発現は、SCN において著明な概日リズムを示し、従来の時計遺伝子とは異なって光誘導が見られなかった。さらに発熱のリズムセンサーである OVLT においても、その発現に概日リズムが見られ、感染と発熱の関連に示唆を与えるものと期待される。

(5) 神奈木 真理 「ウィルス持続感染による免疫均衡の破綻機序とその免疫治療法の開発」

① Ohashi T, Hanabuchi S, Kato H, Tateno H, Takemura F, Tsukahara T, Koya Y, Hasegawa A, Masuda T, and Kannagi M. Prevention of adult T cell leukemia-like lymphoproliferative disease in rats by adoptively transferred T cells from a donor immunized with HTLV-I Tax-coding DNA vaccine. *Journal of Virology*, 74, 9610-9616 (2000)

著者らが HTLV-I 感染 T 細胞株 (FPM1-V1AX) をヌードラットに接種して樹立した ATL 様疾患モデル系で、HTLV-I Tax に対する DNA ワクチンを投与したものでは、有意に高い HTLV-I 感染細胞特異的 CTL 活性を有していた。この T 細胞を FPM1-V1AX の接種と同時にヌードラットに移入すると腫瘍形成と転移が抑制された。このモデルは、ATL の免疫治療の研究に有用である。

② Tsurutani N, Kubo M, Maeda Y, Ohashi T, Yamamoto N, Kannagi M, and Masuda T. Identification of critical amino acid residues in HIV-1 IN required for efficient proviral DNA formation at steps prior to integration in dividing and non-dividing cells. *Journal of Virology*, 74, 4795-4806 (2000)

種々のインテグラーゼ変異体を作成し、各変異のウィルス感染初期過程への影響を調べた。HIV-I インテグラーゼが逆転写及び核移行過程等ウィルス遺伝子の組み込み過程以前に機能的に関与していることを明らかにし、こうした機能に重要であるアミノ酸残基を同定した。

③ Ohtani K, Iwanaga R, Arai M, Huang Y, Matsumura Y, and Nakamura M. Cell type-specific E2F activation and cell cycle progression by the oncogene product Tax of human T-cell leukemia virus type I. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 11154-11163 (2000)

ヒト T 細胞株 Kit 225 に HTLV-I Tax 遺伝子を導入すると、E2F および E2F 依存性の細胞周期促進遺伝子群が活性化されることを明らかにした。これは、NFκB 活性化を伴うが p16INK4a 非依存的であり、HTLV-I による細胞増殖の新規メカニズムと考えられる。

(6) 高井 俊行 「Fc 受容体を介する生体防御システムの解析」

① Nakamura A, Yuasa T, Ujike A, Ono M, Nukiwa T, Ravetch JV, and Takai T. Fcγ receptor IIB-deficient mice develop Goodpasture's syndrome upon immunization with

type IV collagen : A novel murine model for autoimmune GBM disease. *Journal of Experimental Medicine*, 191, 899-905 (2000)

IV型コラーゲンをFc γ RII B欠損マウスに免疫することによりヒト Goodpasture's 症候群モデルを作成することに成功した。本症候群にFc γ RII Bが抑制的に関与していることを示すと共に、新規治療法や薬剤開発に有用なモデルである。

② Ujike A, Ishikawa Y, Ono M, Yuasa T, Yoshino T, Fukumoto M, Ravetch JV, and Takai T. Modulation of Immunoglobulin (Ig)E-mediated systemic anaphylaxis by low-affinity Fc receptors for IgG. *Journal of Experimental Medicine*, 189, 1573-1579 (1999)

Fc γ RII Bという抑制性IgGレセプターを欠損したマウスでは、IgEアナフィラキシーが亢進し、逆に活性化型レセプターであるFc γ RIIIの欠損マウスではIgEアナフィラキシーが低下した。IgGが開始、調節する過敏症反応だけでなく、マスト細胞上のFc γ RII BとFc γ RIIIはIgEの応答を調節する因子で、新規な調節機構の存在を示唆している。

③ Ono M, Yuasa T, Ra C, and Takai T. Stimulatory function of paired immunoglobulin-like receptor-A (PIR-A) in mast cell line by associating with subunits common to Fc receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 274, 30288-30296 (1999)

マスト細胞上の新規活性化型受容体PIRは膜貫通領域、細胞内領域の違いにより、2種のサブタイプPIR-Aと-Bに分類される。PIR-Aは活性化型のレセプターであり、Fc γ と β サブユニットを活性化シグナル伝達に利用していることを明らかにした。

(7) 永田 和宏「普遍的な生体防御機構としてのストレス応答」

① Tanabe M, Kawazoe Y, Takeda S, Morimoto RI, Nagata K, and Nakai A. Disruption of the HSF3 gene results in the severe reduction of heat shock gene expression and loss of thermotolerance. *EMBO Journal*, 17, 1750-1758 (1998)

ストレス転写因子HSF3は、HSF1とストレスの強度に応じて、相補的に活性化されることを明らかにした。HSF1は比較的軽度のストレスに応じて活性化され、より強いストレスが付加されると、先ずHSF1が活性化された後、HSF3がゆっくりと活性化されて、長く活性化状態が持続する。

② Nagai N, Hosokawa M, Itohara S, Adachi E, Matsushita T, Hosokawa N, and Nagata K. Embryonic lethality of molecular chaperone Hsp47 knockout mice is associated with defects in collagen biosynthesis. *Journal of Cell Biology*, 150, 1499-1505 (2000)

コラーゲン特異的分子シャペロンと予想されてきたタンパク質、Hsp47のノックアウトマウスと細胞の解析を行い、Hsp47が欠損することにより、コラーゲンの性状、コラーゲン線維形成に異常が起きることを示した。

③ Iwawaki T, Hosoda A, Okuda T, Kamigori Y, Nomura C, Kimata Y, Tsuru A, and Kohno K. Translational control by the ER transmembrane kinase/ribonuclease IRE1 under ER stress. *Nature Cell Biology*, 3, 158-164 (2001)

動物細胞小胞体ストレス応答のシグナル伝達に關与する新規の小胞体膜タンパク質hIRE1は、小胞体ストレスに応じて28S rRNAを特異的に切断し、タンパク質生合成を抑えることを明らかにした。

(8) 名取 俊二 「昆虫の生体防御分子機構とその応用」

① Nakajima Y, Tsuji Y, Homma K, and Natori S. A novel protease in the pupal body of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) ; its purification and cDNA cloning. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 23805-23810 (1997)

センチクバエの蛹の中期のみに出現し、yellow body内に局在する26kDaの新規セリンプロテアーゼを単離・精製し、cDNAをクローニングした。このプロテアーゼのmRNAの発現は、yellow body内には見られず、前腸、後腸、マルピーギ管を含む組織においてのみ見られ、これらで合成された後、yellow bodyへ輸送されて機能することが示された。

② Akiyama N, Hijikata M, Kobayashi A, Yamori T, Tsuruo T, and Natori S. Anti-tumor effect of N-β-alanyl-5-S-glutathionyl-dehydroxyphenylalanine (5-S-GAD), a novel anti-bacterial substance from an insect. *Anticancer Research*, 20, 357-362 (2000)

5-S-GAD の細胞増殖抑制効果を 38 のヒト株化癌細胞を用いて調べた結果、メラノーマ 1 株と乳癌 2 株に有効であることがわかった。感受性株の中、メラノーマおよび乳癌をヌードマウスの皮下および乳腺に接種し、5-S-GAD を腹腔に投与して治療した結果、有意な腫瘍増殖抑制効果が見られた。

③ Cho JH, Homma K, Kanegasaki S, and Natori S. Activation of human neutrophils by a synthetic anti-microbial peptide, KLKLLLLLKLK-NH₂, via cell surface calreticulin. *European Journal of Biochemistry*, 266, 878-885 (1999)

抗菌ペプチド、KLKLLLLLKLK-NH₂ の感染防御効果の一因と考えられる好中球の活性化には、G タンパク質が関与し、細胞膜上に存在する calreticulin と結合することが活性化に必須であることを示した。

研究領域「生体防御のメカニズム」における研究成果の概要（H8 年度採択課題）

H8年度採択 研究代表者名	論文発表		学会発表		外部発表計	特許出願件数 国内（外国）
	英文	和文	国際	国内		
菅村 和夫	9 6	0	1 0 4	4 2 1	6 2 1	6（5）
田中 啓二	1 4 0	7 5	2 8	1 2 6	3 6 9	1
谷口 克	5 2	0	2 1	3 0	1 0 3	1（1）
福島 昭治	4 8	1	2 3	2 7 7	3 4 9	4（4）
松島 綱治	3 1	0	7	1 6	5 4	8（3）
前田 進	1 1	0	1 1	8	3 0	0
	3 7 8	7 6	1 9 4	8 7 8	1 5 2 6	2 0（1 3）

代表的な論文

（1）菅村 和夫 「サイトカイン機能不全の分子機構と遺伝子治療」

① Takeshita, T., Arita, T., Higuchi, M., Asao, H., Endo, Y., Kuroda, H., Tanaka, N., Murata, K., Ishii, N. and Sugamura, K. STAM, signal transducing adaptor molecule, is associated with Janus kinases and involved in signaling for cell growth and c-myc induction. *Immunity* 6:449-457 (1997).

サイトカイン受容体の下流において Jak2 や Jak3 と直接会合し、シグナル伝達制御にかかわる新規分子として STAM を単離した。

② Asada, H., Ishii, N., Sasaki, Y., Endo, K., Kasai, H., Tanaka, N., Takeshita, T., Tsuchiya, S., Konno, T. and Sugamura, K. Grf40, a novel Grb2 family member, Is involved in T-cell signaling through interaction with SLP-76 and LAT. *Journal of Experimental Medicine* 189:1383-1390 (1999).

新たな Grb2 ファミリー分子として、Grf40 を単離し、Grf40 が従来知られていた Grb2 よりも SLP-76 や LAT と強く会合し、T細胞受容体（TCR）下流のシグナル伝達に必須にアダプター分子であることを明らかにした。

③ Murata, K., Ishii, N., Takano, H., Miura, S., Ndhlovu, L. C., Nose, M., Noda, T. and Sugamura, K. Impairment of antigen-presenting cell function in mice lacking expression of OX40 ligand. *Journal of Experimental Medicine* 191:365-374 (2000).

TNF ファミリー分子である OX40L の欠損マウスを樹立し、OX40L が樹状細胞の抗原提示機能における福刺激分子の 1 つであることを証明した。

(2) 田中 啓二 「超分子システムによる免疫識別の分子機構解明」

① Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S., Mizuno, Y., Asakawa, S., Minoshima, S., Shimizu, N., Iwai, K., Chiba, T., Tanaka, K. and Suzuki, S. Familial Parkinson's disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nature Genetics* 25:302-305 (2000).

常染色体劣性遺伝性若年性パーキンソン病 (ARJP) の原因遺伝子産物パーキンがユビキチン連結酵素であることを証明した。ユビキチンは蛋白質分解のマーカー分子であり、この結果、パーキンソン病が蛋白質分解の破綻によって発症することが初めて明らかになった。

② Murata, S., Udono, H., Tanahashi, N., Hamada, N., Adachi, K., Amano, Y., Yuki, K., Kobayashi, N., Kasahara, M., Tanaka, K. and Chiba, T. Immunoproteasome assembly and antigen presentation in mice lacking both PA28 α and PA28 β . *EMBO Journal* 20:5898-5907 (2001).

インターフェロン γ 誘導型のプロテアソーム活性化因子 (PA28 α と PA28 β) をコードする遺伝子を二重欠損したノックアウトマウスを作製した結果、内在性抗原のプロセッシング機構には、PA28 に依存する経路と依存しない経路に大別できることが判明した。

③ Flajnik, M.F. and Kasahara, M. Comparative genomics of the MHC: glimpses into the evolution of the adaptive immune system. *Immunity* 15:351-362 (2001)

インターフェロン γ で誘導される免疫プロテアソーム遺伝子や主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) の分子進化研究から、MHC が脊椎動物進化の初期に起きたと想定される少なくとも二回の染色体重複によって形成されたとする「MHC の染色体重複モデル」を提唱し、適応免疫の起源を解明した。

(3) 谷口 克 「自己免疫制御の分子基盤」

① Sato, H., Nakayama, T., Tanaka, Y., Yamashita, M., Shibata, Y., Kondo, E., Saito, Y., and Taniguchi, M. Induction of differentiation of pre-NKT cells to mature V α 14 NKT cells by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:7439-7444 (1999).

V α 14 NKT 細胞の前駆細胞はプレ T 細胞レセプター α 鎖、遺伝子組換え活性化遺伝子等を発現しており、インターロイキン 15、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) 存在下で T 細胞レセプター α 鎖の遺伝子再構成を行い、成熟した細胞に分化しうることが明らかになった。GM-CSF 受容体欠損マウスでは生体内での V α 14 NKT 細胞の分化が阻害されており、生体内においても GM-CSF 受容体からの刺激が重要であることが明らかになった。

② Cui, J., Shin, T., Kawano, T., Sato, H., Kondo, E., Toura, I., Kaneko, Y., Koseki, H., Kanno, M., and Taniguchi, M. Requirement for V α 14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors. *Science* 278:1623-1626 (1997).

IL-12 サイトカインは最も強力な抗腫瘍効果をもつことが知られており、これまで NK 細胞、T 細胞がその標的であると考えられてきた。この論文では IL-12 の直接の標的が V α 14 NKT 細胞であり、この細胞の直接作用により抗腫瘍効果が出ることを示された。

③ Kawano, T., Cui, J., Koezuka, Y., Toura, I., Kaneko, Y., Motoki, K., Ueno, H., Nakagawa, R., Sato, H., Kondo, E., Koseki, H., and Taniguchi, M. CD1d-restricted and TCR-mediated activation of V α 14 NKT cells by glycosylceramides. *Science* 278:1626-1629 (1997).

V α 14 NKT 細胞のみが欠失している J α 281 遺伝子欠損マウス V α 14 NKT 細胞のみを有する RAG-1 欠損 V α 14/V β 8 トランスジェニックマウスを用いた実験より、糖脂質の一

つである α -ガラクトシルセラミドがリガンドとして作用しうることが判明した。 α -ガラクトシルセラミドによる V α 14NKT 細胞の細胞増殖反応には、樹状細胞上の CD1d 分子と V α 14T 細胞受容体との相互作用が必要であり、またこの際、 α -ガラクトシルセラミドは樹状細胞上の CD1d 分子によって抗原提示されていることが示唆された。

(4) 福島 昭治 「環境発がん物質の低濃度発がんリスクの解明」

① Kitano, M., Ichihara, T., Matsuda, T., Wanibuchi, H., Tamano, S., Hagiwara, A., Imaoka, S., Funae, Y., Shirai, T. and Fukushima, S. Presence of a threshold for promoting effects of phenobabital on diethylnitrosamine-induced hepatic foci in the rat. *Carcinogenesis* 19:1475-1480 (1998).

フェノバルビタール (PB) による肝発癌プロモーション作用の用量相関性について、ラット中期肝発癌性試験法による検討を行った。その結果、肝前癌病変のマーカーである GST-P 陽性細胞巣の発生が、1~2 ppm という低用量域では対照群よりも減少することを見いだした。このことから、PB によるラット肝発癌プロモーション作用には閾値の存在する事が明らかとなった。

② Asamoto, M., Hokaiwado, N., Cho, Y., Takahashi, S., Ikeda, Y., Imaida, K. and Shirai, T. *Cancer Research* 61:4693-4700 (2001).

プロベインシンをプロモーターとしてその下流に SV40T 抗原の遺伝子を連結したものを SD ラットに受精卵に導入し、前立腺癌を高率に発症する遺伝子導入ラットを確立した。15 週令では全例に前立腺癌の発生があり、アンドロゲン依存性であることが判明した。去勢による癌の消退にはアポトーシスが関与することが明らかとなり、それに関与する数種類の遺伝子を cDNA マイクロアレイを用いて同定した。本実験系は前立腺癌の発生機構、ホルモン依存症およびアポトーシスの解明に有用である

③ Tsuda, H., Asamoto, M., Ochiya, T., Toriyama-Baba, H., Naito, A., Ota, T., Sekiya, T. and Terada, M. High susceptibility of transgenic rats carrying the human c-Ha-ras proto-oncogene to chemically-induced mammary carcinogenesis. *Mutation Research* 477:173-182 (2001).

ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入ラット (Hras128) の雌において、50 日齢時に MNU 又は DMBA を投与したところ乳腺腫瘍が 8 週以内に全例で多発した (14.1 個/ラット、野生型は 0.46 個/ラット)。DMBA でも 16 週以内に投与群 92.9%に 9.39 個/rat 発生した (野生型は 33.3%, 0.83 個/ラット)。いずれの場合も内在性 c-Ha-ras 遺伝子に変異は全く無かったが、導入遺伝子には多くの腫瘍で変異が認められた。このラットは発がん物質の種類によらない乳腺高感受性である可能性が高く、乳腺発がん物質の検出に利用できると考えられた。

(5) 松島 綱治 「炎症反応分子機構の IL-8、細胞接着因子を中心とした解析」

① Yoneyama, H., Matsuno, K., Zhang, Y., Murai, M., Itakura, M., Ishikawa, S., Hasegawa, G., Naito, M., Asakura, H. and Matsushima, K. Regulation by chemokines of circulating dendritic cell precursors, and the formation of portal tract-associated lymphoid tissue, in a granulomatous liver disease. *Journal of Experimental Medicine* 193:35-49 (2001).

炎症反応に伴って樹状細胞前駆体が血中に著しく増加すること、樹状細胞が肉芽組織に存在すること、門脈領域に炎症とともに新しいリンパ組織 (portal tract-associated lymphoid tissue, PALT と命名) が出現すること、抗原特異的免疫反応は PALT-所属リンパ節-肉芽部位の順で起こり樹状細胞が炎症と免疫をリンクすることを明らかにした。肉芽は慢性炎症の終末像でなく hyperimmune site であるという今までの概念を変える仕事となった。

② Ishikawa, S., Sato, T., Abe, M., Nagai, S., Onai, N., Yoneyama, H., Zhang, Y., Suzuki,

T., Hashimoto, S., Shirai, T., Lipp, M. and Matsushima, K. Aberrant high expression of lymphocyte chemokine (BLC/CXCL13) by C11b⁺ CD11c⁺ dendritic cells in murine lupus and preferential chemotaxis of B1 cells Towards BLC. *Journal of Experimental Medicine* 193:1393-1402 (2001). 自己免疫マウスにおいて加齢とともに標的臓器に

CD11b⁺CD11c⁺樹状細胞の浸潤が観られ、異所性のケモカイン BLC の産生が観られること、且つBLCが自己抗体産生性B1により選択的なケモカインであることを明らかにした。

③ Hashimoto, S., Suzuki, T., Nagai, S., Yamashita, T., Toyoda, N. and Matsushima, K. Identification of genes specifically expressed in human activated and mature dendritic cells through serial analysis of gene expression. *Blood* 96:2206-2214 (2000).

SAGE 法を用いてヒト白血球サブセットが発現する遺伝子プロファイル作製を行いデータベース化した。とりわけ、ヒト単球からマクロファージを経て未熟樹状細胞、成熟樹状細胞に分化する際、発現変動する遺伝子をほぼ全て明らかにした。

研究領域「生体防御のメカニズム」における研究成果の概要（H9 年度採択課題）

H9年度採択 研究代表者名	論文発表		学会発表		外部発表計	特許出願件数 国内（外国）
	英文	和文	国際	国内		
石井 俊輔	2 6	0	8	5 6	9 0	1 (1)
大橋 祐子	6 1	2 7	5 2	1 0 1	2 4 1	1 (1)
岡田 泰伸	1 2 4	0	5 6	1 4 0	3 2 0	2 (1)
川崎 敏祐	7 8	2 6	4 6	1 3 8	2 8 8	4
笹月 健彦	1 4	0	4	2 1	3 9	3 (2)
杉山 雄一	1 4 1	2	5	5 9	2 0 7	2 (2)
中内 啓光	6 4	0	3 6	1 1 4	2 1 4	1 (1)
	5 0 8	5 5	2 0 7	6 2 9	1 3 9 9	1 4 (8)

代表的な論文

(1) 石井 俊輔 「仲介因子を介した遺伝子発現制御の解明」

① Nomura, T., Khan, M.M., Kaul, S.C., Dong, H., Wadhwa, R., Colmenares, C., Kohno, I. and Ishii, S. Ski is a component of the histone deacetylase complex required for transcriptional repression by Mad and thyroid hormone receptor. *Genes & Development* 13:412-423 (1999).

Ski/Sno は、転写コリプレッサーN-CoR 及びその関連タンパク質 SMRT に結合し、ヒストン脱アセチル化酵素や Sin3 等と複合体を形成すること、転写抑制因子 Mad や甲状腺ホルモン受容体による転写抑制に必須であることが示された。この研究により、Ski/Sno が転写抑制に必須の仲介因子複合体の構成因子であることが明らかになった。

② Shinagawa, T., Dong, H.D., Xu, M., Maekawa, T. and Ishii, S. The *sno* gene, which encodes a component of the histone deacetylase complex, acts as a tumor suppressor in mice. *EMBO Journal* 19:2280-2291 (2000).

コリプレッサーSno をコードする遺伝子変異マウスを作製し、解析した。ホモ変異マウスは blastocyst が形成されず、発生の初期段階で死亡した。ヘテロ変異マウスは一見正常であったが、低頻度ながら B リンパ腫等の癌が発症し、化学発癌剤の投与では、野生型より高頻度に癌の発症が観られた。特定の組織・細胞において、sno 遺伝子は癌抑制遺伝子として機能することが明らかになった。

- ③ Khan, M. M., Nomura, T., Kim, H., Kaul, S. C., Wadhwa, R., Shinagawa, T., Ichikawa-Iwata, E., Zhong, S., Pandolfi, P. P. and Ishii, S. Role of PML and PML-RAR α in Mad-mediated transcriptional repression. *Molecular Cell* 7:1233-1243 (2001)

Ski に結合する因子として PML を同定した。染色体転座によって形成されるレチノイン酸受容体 RAR α との融合蛋白質 PML-RAR α は急性前骨髄性白血病 (APL) を引き起こすことで有名である。私達は PML が Ski などのコリプレッサーと結合し、コリプレッサーを介した転写抑制に重要な役割を果たすことを見出した。さらに PML-RAR α が Mad による転写抑制を阻害することを見出した。このように、今まで不明であった PML-RAR α による APL 発症のメカニズムの一端が明らかにされた。

- ④ Takagi, T., Jun Harada, J. and Ishii, S. Murine Schnurri-2 is required for positive selection of thymocytes. *Nature Immunology* 2: 1048-1053 (2001).

ショウジョウバエ転写因子 Shn (Shn) は BMP/TGF- β のホモログである Dpp のシグナル伝達経路上で機能する。動物細胞には 3 つ (Shn-1, 2, 3) のホモログが存在するが、私達は Shn-2 変異マウスを作製し、解析した。Shn-2 変異マウスでは、CD4 SP 細胞及び、CD8 SP 細胞の数が顕著に減少していた。一連の解析の結果、Shn-2 は T 細胞の Positive selection に必須であり、T 細胞の分化に必須の役割を果たすことが示された。

- ⑤ Tahirov, T. H., Sato, K., Ichikawa-Iwata, E., Sasaki, M., Inoue-Bungo, T., Shiina, M., Kimura, K., Takata, S., Fujikawa, A., Morii, H., Kumasaka, T., Yamamoto, M., Ishii, S. and Ogata, K. Mechanism of c-Myb-C/EBP β cooperation from separated sites on a promoter. *Cell* 108: 57-70 (2002).

転写因子 Myb は転写因子 C/EBP β と共に作用して、骨髄系細胞特異的に発現する多くの遺伝子の転写を活性化するが、これらの転写因子が協調的に機能するメカニズムは不明である。我々は異なる DNA 分子に結合した Myb と C/EBP β から成る複合体の結晶を作製し、その構造を決定した。この結晶構造から、Myb と C/EBP β の 2 つの蛋白質の DNA 結合ドメイン表面の特異的なアミノ酸が両者の相互作用に関与することが示された。これはプロモーター上で離れた部位に結合する転写因子間の相互作用を初めて原子レベルで明らかにしたものである。

(2) 大橋 祐子 「遺伝子の不活化・活性化を通じた植物の生体制御」

- ① Seo, S., Sano, H. and Ohashi, Y. Jasmonate-based wound signal transduction requires activation of WIPK, a tobacco mitogen-activated protein kinase. *Plant Cell* 11:289-298 (1999).

WIPK (傷害誘導タンパク質キナーゼ) が、転写のみならずタンパク質レベルでも傷害による迅速な活性化を受けることを明らかにした。WIPK が恒常的に活性化している形質転換タバコでは、恒常的なジャスモン酸の蓄積が見られた。即ち、傷害シグナル物質であるジャスモン酸の蓄積には WIPK の活性化が必要であることが示された。

- ② Mitsuhashi, I., Malik, K.A., Miura, M. and Ohashi, Y. Animal cell-death suppressors Bcl-xL and Ced-9 inhibit cell death in tobacco plants. *Current Biology* 9:775-778 (1999).

動物の細胞死抑制遺伝子 Bcl-xL と Ced-9 を導入した形質転換タバコは、紫外線やパラコート処理などに対して抵抗性を示すようになり、またウィルス感染による過敏細胞死が抑制された。

- ③ Seo, S., Okamoto, M., Iwai, T., Iwano, M., Fukui, K., Isogai, A., Nakajima, N. and Ohashi, Y. Reduced levels of chloroplast FtsH protein in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves accelerate the hypersensitive reaction. *Plant Cell* 12:917-932 (2000).

病斑形成の初期にその発現が減少する AAA スーパーファミリーに属するタバコ FtsH ホモログを単離した。これは Zn 活性型プロテアーゼをコードし、ATP 依存的に葉緑体中に行える変性タンパク質の除去を行って葉緑体の恒常性を保持していると考えられる。今回、N

遺伝子依存的な細胞死誘導系において、このタンパク質の量が減少することが、過敏細胞死を引き起こすことが示された。

④ Miura, A., Yonebayashi, S., Watanabe, K., Toyama, T., Shimada, H., Kakutani, T. mobilization of transposons by a mutation abolishing full DNA methylation in *Arabidopsis*. *Nature* 411, 212-214(2001).

シロイヌナズナの *ddm1* 変異株では、クロマチンリモデリング因子とよく似た DDM1 の発現が抑制されており、同時にゲノム DNA のメチル化が減少している。今回、この変異株では内在性の CACTA トランスポゾン族の一つ、CAC1 の挿入によって DDM1 発現抑制が起こっていることが分かった。実際にこの変異株中では、CAC1 のコピー数が有意に増加しており、これはメチル化またはクロマチンリモデリングを通したトランスポゾンの活性化抑制が解除されたために起こった現象と考えられた。

⑤ Mitsuhashi, I., N. Shirasawa-Seo, T. Iwai, S. Nakamura, R. Honkura and Y. Ohashi Release from post-transcriptional gene silencing by cell proliferation: a possible mechanism for non-inheritance of the silencing to the next generation. *Genetics* 160: 343-352(2002).

植物の PTGS は、動物における RNAi よかびの quelling と類似の現象と考えられている。これらの現象は、遺伝的に不安定であるといわれていたが、植物の PTGS は、後代に遺伝しないことを明らかにした。つまり PTGS は、各世代で独立に獲得するものであって、不安定化を獲得する可能性の高い遺伝子型というモノは存在するが、不活性化現象そのものは後代に伝達されない。また、この原因が胚形成前後の活発な細胞増殖にあることを始めて示唆することが出来た。

(3) 岡田 泰伸 「細胞容積調節の分子メカニズムとその破綻防御」

① Maeno, E., Ishizaki, Y., Kanaseki, T., Hazama, A. and Okada, Y. Normotonic cell shrinkage due to disordered volume regulation is an early prerequisite to apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 97:9487-9492 (2000).

アポトーシス細胞は、正常浸透圧条件下でも次第に収縮して行く。この収縮は他のアポトーシス諸反応に先行すること、細胞に低浸透圧刺激を与えると膨張した後の regulatory volume decrease(RVD)のスピードが、この収縮時の細胞では著しく早くなること、容積調節性 Cl⁻チャネルブロッカーは、この収縮の後に起るアポトーシス諸反応を阻止して、細胞死をも救済することなどを明らかにし、この収縮がアポトーシスにおいて早期の不可欠の現象であると結論した。

② Shimizu, T., Morishima, S. and Okada, Y. Ca²⁺-sensing receptor-mediated regulation of volume-sensitive Cl⁻ channels in human epithelial cells. *Journal of Physiology* 528:457-472 (2000).

ヒト上皮細胞 Intestine407 の細胞膜には、カルシウムレセプター(CaR)が発現していることを証明した。細胞外から Ca²⁺や Mg²⁺は細胞容積調節に関与する容積感受性 Cl⁻チャネル電流を亢進する作用と、脱分極パルス時の不活性化を加速する作用の二つの効果を示すが、CaR は前者作用のみに関与すること、そのセカンドメッセンジャーはサイクリック AMP であることを解明した。

③ Hazama, A., Shimizu, T., Ando-Akatsuka, Y., Hayashi, S., Tanaka, S., Maeno, E. and Okada, Y. Swelling-induced, CFTR-independent ATP release from a human epithelial cell line: lack of correlation with volume-sensitive Cl⁻ channels. *Journal of General Physiology* 114:525-533 (1999).

細胞からの ATP 放出ルートは未だ同定されていない。本論文では細胞膨張時の ATP 放出のルートは容積感受性 Cl⁻チャネルとは別個のものであること、また ATP 放出を完全に阻止しても Cl⁻チャネルの活性化が見られるので、本 Cl⁻チャネル活性化は放出 ATP によってもたらされるとするこれまでの仮説は正しくないことを示した。

④ Sabirov, R.Z., Dutta, A.K. and Okada, Y. Volume-dependent ATP-conductive large-conductance anion channel as a pathway for swelling-induced ATP release. *Journal of General Physiology* 118:251-266 (2001).

細胞からの ATP 放出のルートはこれまで同定されていなかった。本論文では細胞膨張時の ATP 放出路がマウス乳腺 C127 細胞においてはマキシアニオンチャネルそのものであることをはじめて証明した。本チャネルは巨大な単一チャネルコンダクタンス (400 pS) を持ち、ポア内に ATP の結合サイトを有し、アニオン型 ATP (ATP⁴⁻) を現に透過させ、このチャネルは ATP 放出の薬理学的特性と全く同一の薬理学的性質を示した。

⑤ Nabekura, T., Morishima, S., Cover, T.L., Mori, S., Kannan, H., Komune, S. and Okada, Y. Recovery from lacticidosis-induced glial cell swelling with the aid of exogenous anion channels. *GLIA* 41:247-259 (2003).

グリア細胞は浸透圧性膨張後にも元にもどる能力を持っている。しかるに乳酸アシドーシス条件下においては、乳酸とプロトンと Na⁺の取り込みによってもたらされる容積増はもどることなく持続し、やがてネクローシス死に至る。本研究は、乳酸アシドーシス性細胞膨張の持続は、容積調節に関与する容積感受性 Cl⁻チャネルの活性が傷害されていることに原因することを明らかにした。加えて、外来性のアニオンチャネルの導入によって乳酸アシドーシス膨張は阻止されて、正常容積に回復することが示された。

(4) 川寄 敏祐 「糖鎖シグナルを介する生体防御システムの解析」

① Uemura, K., Saka, M., Nakagawa, T., Kawasaki, N., Thiel, S., Jensenius J. C. and Kawasaki, T., L-MBP is expressed in epithelial cells of mouse small intestine. *J. Immunology*, 169, 6945-6950 (2002)

マンナン結合タンパク質 (MBP) はこれまで、肝臓でのみ合成されるものと考えられていたが、本研究により L-MBP が腸管粘膜上皮細胞に強く発現することが見い出され、MBP の腸管免疫における役割が示唆された。

② Fukushima, K. and Yamashita K. Interleukin-2 carbohydrate recognition modulates CTLL-2 cell proliferation. *J. Biol. Chem.*, 276, 7351-7356 (2001)

免疫系において重要な役割を果たしているインターロイキン 2 (IL-2) は高マンース型糖鎖を特異的に認識するレクチン様活性をもつことを初めて明らかにした。この相互作用は、チロシンキナーゼのリン酸化や細胞傷害性 T 細胞の IL-2 依存的細胞増殖に関与することが示され、サイトカインの生理活性発現調節因子としての糖鎖の役割が判明した。

③ Ma, Y., Uemura, K., Oka, S., Kozutsumi, Y. and Kawasaki, T. Antitumor activity of mannan-binding in vivo as revealed by a virus expression system: mannan-binding protein dependent cell-mediated cytotoxicity (MDCC). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 371-375 (1999).

ヒト結腸癌由来 SW1116 株細胞を KSN ノードマウスの皮下に移植した担癌マウスに、ワクシニアウィルスベクターに組み込んだ野生型或は変異型 MBP 遺伝子を腫瘍内投与すると顕著な癌細胞の増殖抑制が観察された。この作用は補体系の活性化を伴わない新しい機構によるものであり、この作用を MDCC (MBP-依存的細胞性細胞傷害作用) と命名した。

④ Beisel, H.-G., Kawabata, S., Iwanaga, S., Huber, R. and Bode, W. Tachylectin-2: crystal structure of a specific GlcNAc/GalNAc-binding lectin involved in the innate immunity host defense of the Japanese horseshoe crab *Tachypleus tridentatus*. *EMBO Journal* 18, 2313-2322 (1999)

タキレクチン-2 の立体構造を多重重原子同型置換法を用いた X 線結晶解析により明らかにした。その立体構造は、一次構造の 5 回繰り返し配列を反映し、4 本の逆平行 β シートを構造単位とした 5 回転対称 β-プロペラ構造であった。さらに、レクチン-リガンド複合体の構造解析に成功し、それぞれのプロペラに 1 個の D-GlcNAc (タキレクチン-2 の 1 分子に合計 5 個) が結合していることが判明した。

(5) 笹月 健彦 「免疫系のフレームワーク決定及び免疫制御の分子機構」

① Fukui, Y., Hashimoto, O., Inayashi, A., Gyotoku, T., Sano, T., Koga, T., Gushima, T. and Sasazuki, T. Highly restricted T cell repertoire shaped by a single major histocompatibility complex-peptide ligand in the presence of a single rearranged T cell receptor β chain. *Journal of Experimental Medicine* 188:897-907 (1998).

T細胞レパートリーは、胸腺内T細胞分化過程におけるT細胞レセプター(TCR)–MHC–ペプチド相互作用の結果、正及び負の相反する選択を経て形成される。正の選択においても特異的なTCR–ペプチド相互作用が関与しており、ペプチドの構造そのものが、正の選択を介してT細胞レパートリーに影響し得ることを明らかにした。

② Fukui, Y., Oono, T., Cabaniols, J., Nakano, K., Hirokawa, K., Inayoshi, A., Sanui, T., Kanellopoulos, J., Iwata, E., Noda, M., Katsuki, M., Kourilsky, P. and Sasazuki, T. Diversity of T cell repertoire shaped by a single peptide ligand is critically affected by its amino acid residue at a T cell receptor-contact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 97:13760-13765 (2000).

胸腺内T細胞分化は、自己MHCに結合した自己抗原ペプチドをTCRが認識したことでもたらされる正の選択によって規定されるが、このプロセスにおいてペプチドの構造がどのように影響するかを検討した。その結果から、TCRコンタクト部位のアミノ酸残基の側鎖の大きさや荷電の有無によって、正の選択における抗原ペプチドの関与の程度が異なり、結果として多様性や特異性を異にするT細胞レパートリーが形成されるというモデルを提唱した。

③ Fukui Y., Hashimoto O., Sanui T., Oono T., Koga H., Abe M., Inayoshi A., Noda M., Ooike M., Shirai T., and Sasazuki T. Haematopoietic cell-specific CDM family protein DOCK2 is essential for lymphocytemigration. *Nature* 412, 826-831, 2001.

免疫系に特異的に発現するCDMファミリー分子DOCK2 (HCH)の生理的機能を解明する目的で、ノックアウトマウスを作製した。ノックアウトマウスでは、種々のケモカインに対し、単球の遊走活性は正常であるが、Tリンパ球とBリンパ球の遊走が起こらず、その結果Tリンパ球減少やリンパ濾胞の萎縮、辺縁帯B細胞の消失などといった様々な異常を生じた。また、ノックアウトマウスのリンパ球では、ケモカインによって誘導されるRacの活性化とアクチンの重合がほとんど認められなかった。以上より、DOCK2はRacの活性化を介して細胞骨格の再構築を促すことで、リンパ球の遊走において中心的な調節因子として機能している事を明らかにした。

(6) 杉山 雄一 「異物排除システムの分子基盤」

① Chu, X., Kato, Y., Ueda, K., Suzuki, H., Niinuma, K., Tyson, C.A., Weizer, V., Dabbs, J.E., Froelich, R., Green, C.E. and Sugiyama, Y. Biliary excretion mechanism of CPT-11 and its metabolites in humans: involvement of primary active transporters. *Cancer Research* 58:5137-5143 (1998).

塩酸イリノテカン(CPT-11)は優れた抗腫瘍効果を持つ制癌剤であるが、一部患者に重篤な下痢を引き起こす。本薬剤は胆汁排泄型であることから、排泄の個体差が下痢発症の一要因である可能性が考えられた。

② Nezu, J., Tamai, I., Oku, A., Ohashi, R., Yabuuchi, H., Hashimoto, N., Nikaido, H., Sai, Y., Koizumi, A., Shoji, Y., Takada, G., Matsuishi, T., Yoshino, M., Kato, H., Ohura, T., Tsujimoto, G., Hayakawa, J., Shimane, M. and Tsuji, A. Primary system carnitine deficiency is caused by mutations in a sodium-ion dependent carnitine transporter OCTN2. *Nature Genetics* 21:91-94 (1999).

生体種々組織に存在するナトリウム依存的、高親和性カルニチントランスポーターOCTN2の生理的役割を明らかにするために、カルニチン欠損患者並びに遺伝的にカルニチ

ン欠損症状を示すマウスにおける OCTN2 の遺伝的変異の有無を調べた。その結果、ヒト、マウス共に OCTN2 遺伝子に変異が見られ、OCTN2 の機能低下が生じていることが明らかになった。OCTN2 は脂肪酸代謝に必須なカルニチンの細胞膜輸送に係わる生理的に非常に重要なトランスポーターであることが明らかになった。

③ Murakami, S., Nakashima, R., Yamashita, E. and Yamaguchi, A. Crystal structure of bacterial multidrug efflux transporter AcrB. *Nature* 419: 587-593 (2002).

大腸菌の異物排出トランスポーターAcrB の結晶構造が 3.5 オングストロームの解像度で解かれた。プロトン共役型二次性トランスポーターでは初めての結晶構造決定である。AcrB は 3 量体で、膜貫通部とペリプラズム頭部からなり、外膜チャンネル蛋白 TolC とドッキングする頭頂部にロート状の開口部、ペリプラズムから基質を取り込むための側面開口部を持っていた。

④ Toh, S., Wada, M., Uchiumi, T., Inokuchi, A., Makino, Y., Horie, Y., Adachi, Y., Sakisaka, S. and Kuwano, M. Genomic Structure of the canalicular multispecific organic anion-transporter gene (MRP2/cMOAT) and mutations in the ATP-binding-cassette region in Dubin-Johnson syndrome. *American Journal of Human Genetics* 64:739-746 (1999).

Dubin-Johnson 症候群は高ビリルビン血漿を示す遺伝子疾患である。この論文ではエクソン/イントロンの構造を決定し、さらに Dubin-Johnson 症候群の患者から複数の変異を同定した。cMOAT 遺伝子は 32 のエクソンからなり、ATP 結合部位は高度に保存されていた。cMOAT は Dubin-Johnson 症候群の責任遺伝子であり、特に ATP 結合部位の変異が機能に結びつくものであると考えられた。

(7) 中内 啓光 「造血幹細胞分化と自己複製の制御機構」

① Ema, H., Takano, H., Sudo, K. and Nakauchi, H. In vitro self-renewal division of hematopoietic stem cells. *Journal of Experimental Medicine* 192:1281-1288 (2000).

造血幹細胞の自己複製が in vitro の培養系で起き得るかどうかを無血清培地を使用した単細胞培養系を用いて厳密に検討し、ある特定のサイトカインの存在下で自己複製を伴う細胞分裂が少なくとも 1 回は誘導可能なことをはじめて明らかにした。また、この自己複製は非対称性分裂に基づくことが示唆された。

② Ema, H. and Nakauchi, H. Expansion of hematopoietic stem cells in the developing liver of a mouse embryo. *Blood* 95:2284-2288 (2000).

個々の造血幹細胞の能力を示す指標として Mean Activity of Stem cell (MAS) という概念を導入し、造血幹細胞が実際に体内(胎児肝臓)で自己複製していることを Competitive Repopulation Unit (CRU) 並びに Repopulation Unit (RU) の両方を測定することにより初めて明確に示すことに成功した。

③ Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, Colapietro AM, Sampath J, Morris JJ, Lagutina I, Grosveld GC, Osawa M, Nakauchi H and Sorrentino BP : The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med* 7:1028-34,2001

造血幹細胞をはじめとする組織幹細胞の新しい分離法として注目されている Side Population (SP) 細胞が Hoechst33342 色素を排出する際の責任分子として ATP 依存性トランスポーターの一つである bcrp-1/ABCG2 を同定した。血液細胞における bcrp-1 の発現は造血幹細胞に特異的であり、その未分化性の維持に関与している可能性が示唆された。

④ Iwama A, Osawa M, Hirasawa R, Uchiyama N, Kaneko S, Onodera M, Shibuya K, Shibuya A, Vinson C, Tenen DG, Nakauchi H. Reciprocal Roles for CCAAT/Enhancer Binding (C/EBP) and PU.1 Transcription Factors in Langerhans Cell Commitment Protein. *J Exp Med*. 195:547-558. 2002

ランゲルハンス細胞は樹状細胞の一種であり、免疫応答を制御する重要な細胞であるが、

その分化の制御機構の詳細は不明である。骨髓球系細胞の分化に関与する転写因子群をヒト造血前駆細胞に導入して解析したところ、造血幹細胞からランゲルハンス細胞への分化には C/EBP が抑制因子として、また PU.1 が促進因子として機能することが明らかになった。

⑤ Atsushi Suzuki, Yun-wen Zheng, Shin Kanako, Masafumi Onodera, Katashi Fukao, Hiromitsu Nakauchi, Hideki Taniguchi. Clonal identification and characterization of self-renewing pluripotent stem cells in the developing liver. *Journal of Cell Biology* 156:173-84. 2002

肝臓が再生する臓器であることは良く知られているが、その詳細な機構は不明である。我々は肝臓にも幹細胞が存在するという仮定のもと、FACS による解析とコロニーアッセイを組み合わせることにより、肝幹細胞を同定することに成功した。この細胞は *in vitro* で強い増殖能を持つだけでなく、*in vivo* においても成熟幹細胞と胆管上皮細胞の両方に分化可能であることが示された。内胚葉系の幹細胞として明確に同定された最初の幹細胞であり、今後の消化管臓器関連の治療に新しい可能性をもたらすものと期待される。

研究領域「生体防御のメカニズム」における研究成果の概要まとめ

採択年度	論文発表		学会発表		外部発表計	特許出願件数 国内（外国）
	英文	和文	国際	国内		
平成7年度	4 4 6	5 6	1 2 6	6 5 9	1 2 8 7	3 7 (1 8)
平成8年度	3 7 3	7 6	1 9 4	8 7 8	1 5 2 6	2 0 (1 3)
平成9年度	5 0 8	5 5	2 0 7	6 2 9	1 3 9 9	1 4 (8)
合計	1 3 2 7	1 8 7	5 2 7	2 1 6 6	4 2 1 2	7 1 (3 9)

3. シンポジウム等

シンポジウム名	日時	場所	入場者数	特記事項
生体防御のメカニズム	H9.1.24	KKR HOTEL TOKYO	229 名	
生体防御のメカニズム	H10.1.27	東京ガーデンパレス	306 名	
生体防御のメカニズム	H11.1.22	星陵会館	238 名	
生体防御のメカニズム —細胞分子動態と生体機能	H12.1.17	東京ガーデンパレス	309 名	
生体防御の分子メカニズム —免疫	H13.1.17	東京ガーデンパレス	312 名	
平成7年度採択課題 終了シンポジウム	H13.6.7	お茶の水スクエア	247 名	
平成8年度採択課題 終了シンポジウム	H14.2.7	お茶の水スクエア	203 名	
平成9年度採択課題 終了シンポジウム	H14.11.28	東京ガーデンパレス	188 名	

4. 受賞等

受賞者名	賞の名称	授与者名	受賞日（時期）
審良 静男	井上学位賞	財・井上科学振興財団	2001年2月
菅村 和夫	持田記念学術賞	持田記念財団	1999年6月
川寄 敏祐	日本薬学会賞	日本薬学会	2001年3月
辻 彰	日本薬学会賞	日本薬学会	2002年3月
笹月 健彦	日本医師会医学賞	日本医師会	1999年
笹月 健彦	武田医学賞	武田科学振興財団	2001年11月
笹月 健彦	紫綬褒章		2002年

5. その他の重要事項（新聞・雑誌・テレビ等）

この領域の成果として報道されたものの中で、インパクトが大きかったものは以下の3件である。

大阪大学微生物病研究所審良グループの病原菌 DNA を TLR9 が認識していることを発見した *Nature* 誌の論文に関して、2001 年 12 月 7 日の日本経済新聞、日刊工業新聞、日経産業新聞、朝日新聞などに掲載された。

東京都臨床医学総合研究所田中グループの常染色体劣性若年性パーキンソン症候群の原因遺伝子パー金の機能を解明した *Nature Genetics* 誌の論文に関して、2000 年 6 月 27 日の日本経済新聞に、詳細な解説記事が読売新聞などに掲載された。

杉山チームの共同研究者である、大阪大学産業科学研究所山口グループの大腸菌異物排出タンパク質 AcrB の X 線結晶構造解析による異物認識機構と膜輸送機構を解明した *Nature* 誌の論文に関して、2002 年 10 月 10 日の日本経済新聞、日経産業新聞、日本工業新聞、日刊工業新聞などに掲載された。

6. その他の添付資料

特になし。

7. 中間評価結果、事後評価結果

[添付資料参照。](#)