

## [0020]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2005年

<https://doi.org/10.15017/6244>

---

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 20, 2006-07. 九州大学生体防御医学研究所  
バージョン :  
権利関係 :



## ゲノム集団遺伝学分野

### Division of Molecular Population Genetics

ゲノム集団遺伝学分野では、特定領域「ゲノム」におけるヒト多型タイピング共同研究を主体として、ゲノムの一次配列情報を利用した統計遺伝学的手法による疾患関連遺伝子の同定、およびエピジェネティックな転写制御機構について研究を行っている。平成 17 年度の異動は以下の通りである。山方伸茂が第一外科より大学院生として新たに研究に加わった。古野憲司が学位取得後小児科学教室に助手として帰局し、共同研究者として研究を継続している。21COE テクニカルスタッフの後藤麻美が辞した。以上により、教員 1 名、ポストク 1 名、大学院生 2 名、派遣技術員 5 名となった。コラボレーション 2 において研究活動を行っている。

#### A. 単一遺伝病、多因子疾患のゲノム解析

がん、自己免疫病、糖尿病、アレルギーなどは、複数の遺伝要因と環境要因の相互作用によって発症する多因子疾患である。これらの疾患の遺伝要因を明らかにするためには、遺伝学的解析法が必須であり、その手法を用いて疾病発症関連遺伝子を同定し、発症機序の分子レベルでの解明とそれに基づく新しい診断・治療・予防法の基盤技術を開発することは有意義である。これまでは、既知の知識に基づいて選択された疾患候補遺伝子を個別に解析する手法が主流であったが、特に、大規模ゲノム解析に必要な多検体同時解析法の進展により、網羅的・物理的に疾患関連遺伝子を探索することが可能となった。本分野では、全ゲノム連鎖解析に必須であるマイクロサテライトマーカーの情報を多数収集し、日本人集団に最適化された遺伝マーカーを準備すると同時に、国際ハップマッププロジェクトなどによって整備された SNP 情報を活用し、他施設との共同研究により、以下の単一遺伝病、多因子疾患に関して全ゲノムを網羅的に遺伝学解析し、最終的に、未知の疾病発症関連遺伝子の同定を目指している。自己免疫性甲状腺炎・全ゲノム連鎖解析(国立国際医療センター・笹月健彦総長)、胃がん・全ゲノム連鎖解析、2型糖尿病・全ゲノム相関解析(神戸大学・春日雅人教授他旧ミレニアムプロジェクト2型糖尿病チーム)、2型糖尿病・全ゲノム連鎖解析(九大・名和田教授)、統合失調症・全ゲノム相関解析(九大・服巻保幸教授)、心筋梗塞・全ゲノム連鎖解析(名大・横田充弘教授) 結核・候補遺伝子相関解析(九大・楠原浩一助教授)。家族性血球貪食性リンパ球症・全ゲノム連鎖解析・候補遺伝子変異解析(佐賀医科大・石井榮一助教授他 FHL 研究会)。大腸がん・候補遺伝子相関解析(九大・森正樹教授・CREST)、GvHD・相関解析(東大・小川誠司助教授・CREST)。17年度の成果として、5番染色体における AITD 関連遺伝子の候補遺伝子同定( ), 21番染色体候補領域における原因遺伝子多型の同定と機能解析( ), 全ゲノムからの 14 候補遺伝子の同定( ), 日本人 2 型糖尿病に特異的な連鎖領域の同定とそれに続く網羅的相関解析による候補遺伝子の同定( ), 3 次スクリーニング陽性約 100 マーカーの同定( ), 疾患関連 1 塩基多型の同定( ), MUNC13-4 新規遺伝子変異の同定( ), HLA 遺伝子多型と非血縁者間骨髄移植成績に関する詳細な解析( )

が挙げられる(共同研究のため成果の詳細は省略した)。

## B. PcG 分子 SUZ12 によるエピジェネティック転写制御の研究

ショウジョウバエにおいてはヘテロクロマチン構成因子の変異は PEV を抑制するが,ポリコム遺伝子(PcG)のうちホメオティック変異に加え PEV を抑制するものが知られている(Su(z)12, E(z))。われわれは,ヘテロクロマチンと PcG による転写抑制機構の共通性を見出し,これらのエピジェネティック転写制御の分子機序を明らかにするために, Su(z)12 分子の機能を分子レベルで解析している。これまでに, Su(z)12 がヘテロクロマチンの主たる構成因子である HP1a と PcG の一つである EZH2 に異なるドメインによって直接的に結合すること,特に,ショウジョウバエの遺伝学解析によって形態形成に重要な機能が示唆されていた Su(z)12 分子の VEFS ドメインが, EZH2 との結合に必須であることを見出した。EZH2 は H3-K9,27 のメチル化酵素であり,この結果は, PcG の一部がヘテロクロマチン形成あるいは維持に機能していることを示唆すると同時に, PcG による Hox 遺伝子などの発現制御に,ヘテロクロマチン構成因子が関与する可能性も示し,これらを明確にすべく研究を進めている。また,近年同定されたメチロソーム複合体の一因子がヒストン H2A と特異的に結合すること,そして Su(z)12 分子がこの因子と相互作用することを見出し,メチロソーム複合体による標的遺伝子の転写制御機構と Su(z)12 分子の役割について昨年度に引き続き検討している。さらに PcG 複合体が標的遺伝子にリクルートされる機序は不明であったが, DNA 結合型の転写因子と SUZ12 が結合すること,複合体を形成することを見出し,その複合体の転写制御機構を解析している。

## 業績目録

### 原著論文

1. K.Furuno, T.Masatsugu, M.Sonoda, T.Sasazuki, K.Yamamoto. 2006.  
Association of Polycomb Group SUZ12 with WD-Repeat Protein MEP50 that Binds to Histone H2A Selectively *in Vitro*.  
Biochem Biophys Res Commun, in press
2. H.Mizumoto, D.Hata, K.Yamamoto, R.Shirakawa, A.Kumakura, M.Shiota, A.Yokoyama, H.Matsubara, M.Kobayashi, R.Nishikomori, S.Adachi, T.Nakahata, T.Kita, H.Horiuchi, M.Yasukawa, E.Ishii. 2006.  
Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with the MUNC13-4 mutation: a case report.  
Eur J Pediatr, in press
3. I.Ueda, U.Kohdera, S.Hibi, T.Inaba, K.Yamamoto, T.Sugimoto, A.Morimoto, E.Ishii, S.Imashuku. 2006.

A novel perforin gene mutation in a Japanese family with hemophagocytic lymphohistiocytosis.  
Int J Hematol, 83, 51-54.

4. K.Yamamoto, E.Ishii, H.Horiuchi, I.Ueda, S.Ohga, M.Nishi, Y.Ogata, M.Zaitso, A.Morimoto, T.Hara, S.Imashuku, T.Sasazuki, M.Yasukawa. 2005.  
Mutations of *syntaxin 11* and *SNAP23* genes as causes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis were not found in Japanese people.  
J Hum Genet, 50, 600-603.
5. M.Aoki, K.Yamamoto, S.Ohyama, Y.Yamamura, S.Takenoshita, K.Sugano, T.Minamoto, M.Kitajima, H.Sugimura, S.Shimada, H.Noshiro, M.Hiratsuka, M.Sairenji, I.Ninomiya, M.Yano, K.Uesaka, S.Matsuno, Y.Maehara, T.Aikou, T.Sasazuki. 2005.  
A genetic variant in the gene encoding the stress70 protein chaperone family member STCH is associated with gastric cancer in the Japanese population.  
Biochem Biophys Res Commun, 335, 566-574.
6. E.Ishii, I.Ueda, R.Shirakawa, K.Yamamoto, H.Horiuchi, S.Ohga, K.Furuno, A.Morimoto, M.Imayoshi, Y.Ogata, M.Sako, K.Koike, A. Sakata, H.Takada, T.Hara, S.Imashuku, T.Sasazuki, M.Yasukawa. 2005.  
Genetic subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: correlations with clinical features and cytotoxic T lymphocyte/natural killer cell functions.  
Blood., 105, 3442-3448.
7. M.Aoki, Y.Yamamura, H.Noshiro, K.Sakai, J.Yokota, T. Kohno, T.Tokino, S.Ishida, S.Ohyama, I.Ninomiya, K.Uesaka, M.Kitajima, S.Shimada, S.Matsuno, M.Yano, M.Hiratsuka, H.Sugimura, F.Itoh, T.Minamoto, Y.Maehara, S.Takenoshita, T.Aikou, H.Katai, K.Yoshimura, T.Takahashi, K.Akagi, M.Sairenji, K.Yamamoto, T.Sasazuki. 2005  
A full genome scan for gastric cancer.  
J Med Genet, 42, 83-87.

## 総説

- 1 . E.Ishii, S.Ohga, S.Imashuku, N.Kimura, I.Ueda, A.Morimoto, K.Yamamoto, M.Yasukawa. 2005.  
Review of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in children with focus on Japanese experiences.  
Crit Rev Oncol Hematol, 53, 209-223.
- 2 . 山本 健 . 2005.

全ゲノムを対象とした胃がん発症を規定する遺伝要因の探索.  
福岡医学雑誌, 96, 25-33.

3. 石井榮一, 上田育代, 山本 健, 堀内久徳, 今宿晋作, 安川正貴. 2005.  
家族性血球貪食症候群の遺伝子異常.  
血液・腫瘍科, 50, 332-340.
4. 石井榮一, 山本 健, 堀内久徳, 今宿晋作, 安川正貴. 2005.  
MUNC13-4 遺伝子異常による家族性血球貪食症候群.  
臨床免疫, 43, 575-583.
5. 山本 健. 2005.  
連鎖解析.  
臨床遺伝子学 05「多因子遺伝病研究の最前線」.  
最新医学, 60, 9月増刊, 16-24.

## 学会発表

1. K. Yamamoto, M. Aoki, T. Sasazuki. (2005, 4/18-21)  
Heterozygosities of 4703 microsatellite markers in the Japanese population.  
Human Genome Meeting 2005, Kyoto.
2. M. Aoki, K. Yamamoto, T. Sasazuki. (2005, 4/18-21)  
Genome-wide scan for gastric cancer by affected sibpair method.  
Human Genome Meeting 2005, Kyoto.
3. K. Furuno, T. Hara, T. Sasazuki, K. Yamamoto. (2005, 4/18-21)  
Identification of a target gene of T-box transcription factor Tbet in Th1 cell by human CpG microarray.  
Human Genome Meeting 2005, Kyoto.
4. K. Ikeda, K. Furuno, H. Takada, T. Ohno, K. Yamamoto, T. Hara. (2005, 4/18-21)  
Novel genetic markers predict the development of coronary artery lesions in Kawasaki disease.  
Human Genome Meeting 2005, Kyoto.
5. 白川龍太郎, 堀内久徳, 石井榮一, 安川正貴, 山本 健, 笹月健彦, 北 徹.  
(2005, 7/22-23)  
血小板放出制御因子 Munc13-4 の同定とその異常による家族性血球貪食症候群.  
第42回日本臨床分子医学会, 京都.

- 6 . 山本 健 . (2005 , 6/24-25)  
罹患同胞対全ゲノム連鎖解析による胃がん発症関連遺伝子の探索 .  
第 11 回日本家族性腫瘍学会学術集会ワークショップ , 東京 .
- 7 . K. Yamamoto, M. Aoki, T. Sasazuki. (2005, 9/19-22)  
Heterozygosities of 4867 microsatellite markers in the Japanese population.  
The 5th Annual Meeting of the East Asian Union of Human Genetics Societies, Okayama.
- 8 . E. Ishii, I.Ueda, K.Yamamoto, H.Horiuchi, R.Shirakawa, S.Ohga, K.Furuno, Y.Ogata,  
M.Zaitsu, A.Morimoto, T.Hara, S.Imashuku, T.Sasazuki, M.Yasukawa.(2005, 9/25-27)  
Genetic subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: correlations with clinical  
features and functions of cytotoxic T lymphocytes.  
21th Annual Meeting of the Histiocyte Society, Vancouver.
- 9 . I.Ueda, S.Ito, Y.Kurokawa, K.Koike, A.Sakata, T.Matsumora, E.Ishii, M.Yasukawa,  
K.Yamamoto, T.Inaba, K.Hatta, T.Sugimoto, A.Morimoto, S.Imashuku. (2005, 9/25-27).  
Atypical features in type 2 familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL).  
21th Annual Meeting of the Histiocyte Society, Vancouver.
- 1 0 . K.Ihara, N.Ronghua, K.Yamamoto, K.Miyako, H.Kohno, T. Hara.(2005, 11/25-26)  
Susceptibility genes for type 1 diabetes in Japanese children: Association studies on  
immuno-regulatory genes.  
First Congress Asian Society of Pediatric Research, Tokyo.
- 1 1 . 山本 健 . (2005, 9/29)  
罹患同胞対連鎖解析による胃がん発症関連遺伝子の探索 .  
第 4 回北陸ポストゲノム研究フォーラム , 金沢 .
- 1 2 . K.Furuno, T.Hara, T.Sasazuki, K.Yamamoto. (2005, 10/28-30)  
Transcriptional Cross Regulation between T-bet and Onecut2 in Type 1 Helper T Cell.  
International Cytokine Society Council 2005, Seul.
- 1 3 . 井原健二 , Ni Ronghua, 山本 健 , 都 研一 , 河野 斉 , 原 寿郎 .  
(2005, 10/20-22)  
日本人小児 1 型糖尿病発症に関わる遺伝的背景 : 免疫を制御する遺伝子群の疾  
患関連解析 .  
第 39 回日本小児内分泌学会 , 東京 .

## ゲノム病態学分野

### Division of Molecular and Clinical Genetics

当分野では、血液・腫瘍性疾患ならびに消化器疾患患者を対象に臨床ならびに基礎研究を行っている。研究内容としては、新規治療法開発を目的に、A.癌に対する遺伝子・免疫治療の基礎及び臨床研究、B.腫瘍溶解性ウイルスを用いた遺伝子治療法開発研究、C.小型霊長類コモンマーマセットを用いた再生医療開発研究、D.ノックアウトマウスを用いた免疫関連分子の解析、などを行っている。これらの基礎ならびに臨床研究を積極的に進めることで、腫瘍性疾患ならびに慢性進行性疾患に対するより効果的かつ安全な治療法を開発できるものと考えている。なお、我々の研究内容を含めた九州大学で開発された新規医療技術を難病で苦しんでいる患者さんへ円滑かつ早期に還元していくためには、九州大学病院内での新システムの構築が重要であるため、このトランスレーショナルリサーチ機構構築も九州大学病院各部門の協力を得ながら早急に進めている。

#### A. 癌に対する遺伝子・免疫治療の基礎及び臨床研究

##### a. ヒト腎癌及び非小細胞肺癌細胞におけるアデノウイルスレセプター (Serotype 5)、CAR、Integrin $\alpha\beta 3$ 、Integrin $\alpha\beta 5$ の発現様式と GM-CSF 遺伝子導入アデノウイルスベクターによるヒト GM-CSF 発現量との関連性

ヒト腎癌及び非小細胞肺癌細胞株の3つの膜受容体 (CAR、Integrin  $\alpha\beta 3$ 、Integrin  $\alpha\beta 5$ ) の発現様式を免疫染色、FACS、Western blotting 法により解析し、それぞれの癌細胞に GM-CSF 遺伝子導入アデノウイルス感染後、ヒト GM-CSF 発現量を ELISA 法にて測定した。腎癌、小細胞肺癌両者において CAR 発現を強く認める細胞ほど GM-CSF の高発現を呈した。また、プライマリー腎癌において CAR 陰性であっても Integrin  $\alpha\beta 3$  発現の強い細胞は高い GM-CSF 発現を呈した。今後アデノウイルスベクターを用いた臨床研究を行う際、予めこれら膜受容体発現様式をチェックすることで、より高率な導入遺伝子発現と臨床効果が予期できるものと期待される。

##### b. GM-CSF 遺伝子導入腫瘍細胞を用いたマウス腎癌モデルに対する癌ワクチン療法：アデノウイルス及びセンダイウイルスベクター間での比較検討

癌免疫遺伝子治療において、腫瘍細胞に GM-CSF 遺伝子を導入、放射線照射したワクチン細胞療法による抗腫瘍効果が認められ様々な固形癌において臨床研究がなされている。ウイルスを含めた様々な遺伝子導入法がある中で、我々は GM-CSF 遺伝子導入ベクターとしてアデノウイルス (E1(-)) 及びセンダイウイルス (F) の2つのウイルスベクターを用いて、腫瘍ワクチン細胞 (RENCA: マウス腎癌細胞) を作成し、遺伝子導入効率及びマウス自家腫瘍モデルにおける抗腫瘍効果の比較検討を行っている。

### c. SAGE 法を用いた GM-CSF 免疫遺伝子治療増強遺伝子の同定とその相乗効果の検討

SAGE (sequential analysis of gene expression)法は従来の Subtraction 法に較べてより効率的に 2 群の mRNA 発現の相違を検出できる系と考えられている。我々は本系を用いてマウス自家腫瘍 (WEHI3B) を縮小させる GM-CSF 遺伝子と協調すると考えられる遺伝子の同定を行い、その中でケモカイン遺伝子である TARC、RANTES に注目し、両遺伝子の GM-CSF 遺伝子との相乗効果をマウス in vivo において証明した。この際 GM-CSF/TARC 及び GM-CSF/RANTES 遺伝子導入細胞接種箇所において有意なリンパ球浸潤の増加を認めた。現在、ワクチン治療モデルにおいても抗腫瘍効果を接種箇所において確認しており、詳細な免疫学的解析を行っている。今後、両ケモカイン遺伝子は GM-CSF 免疫遺伝子治療増強遺伝子として組み合わせが可能であると考えられる。

### d. 末梢血単球を用いた遺伝子デリバリー系の検討

#### センダイウィルスベクターにて遺伝子導入した抹消血単球による新遺伝子デリバリー系の確立

SeVV により遺伝子導入した末梢血単球の遺伝子デリバリー系としての応用の可能性を in vitro にて検討した。GFP 搭載 SeVV を用いてヒトリンパ球、単球、顆粒球への遺伝子導入効率を検討した結果、GFP 陽性率はそれぞれ 23%、82% および 1.8% であった。単球への遺伝子導入効率は M.O.I.=1 でピークになり、発現はウイルス感染 4 時間後から少なくとも 24 時間持続した。神経再生療法への臨床応用を最終目的とした前臨床研究において、GDNF (グリア細胞株由来栄養因子) 搭載 SeVV にてヒトまたはカニクイザル単球への遺伝子導入を検討した結果、その培養上清中に GDNF の産生を認めた。また、GDNF 遺伝子導入単球の遊走能は遺伝子導入の前後で顕著な変化はなかった。これらの結果より SeVV により遺伝子導入した末梢血単球が新規遺伝子デリバリー系として応用できる可能性が示唆された。なお、SeVV 導入による遊走能以外の単球機能の変化については現在検討中である。

### e. RNF43 ペプチドパルス樹状細胞ならび RNF43 ペプチド特異的活性化リンパ球を用いた進行固形腫瘍患者に対する強化養子免疫療法第一相臨床研究

悪性腫瘍に対する安全かつより効果的な免疫細胞治療法開発を目的に、新規腫瘍特異的抗原ペプチドである RNF43 ペプチドを提示させた樹状細胞と、同細胞を末梢血リンパ球と共培養して得られた RNF43 ペプチド特異的活性化リンパ球を、少量シクロフォスファミド投与後、低量インターロイキン-2 の短期全身投与と併用投与する強化免疫細胞療法第 I 相臨床研究を進行固形癌患者に実施し、本治療法の安全性および抗腫瘍免疫誘導効果の有無を in vitro 検査ならびに臨床効果の観点から検討する。昨年 12 月に九大病院医学研究院等倫理委員会にて承認され、現在臨床研究参加患者のエントリーを行っている。



## **B. 腫瘍溶解性ウイルスを用いた遺伝子治療法開発研究**

### **a. 腫瘍溶解性ウイルスを用いた癌治療の開発**

ウイルス療法とは、生きたウイルスを利用して癌を治療する方法 (Virotherapy) であり、いくつかのウイルスが本来持っている癌細胞に感染後、癌組織内で増殖しながら死滅させるという性質を利用する治療法である。すでに欧米を中心に、その前臨床研究、および臨床治験が積極的に行われている。我々は、いくつかの腫瘍溶解性を持つウイルスに注目し、以下の点に焦点を当て研究を進めている。(1) 各々のウイルスが腫瘍選択的に複製し溶解するための独自のメカニズムを分子レベルで解明する。(2) 各々のウイルスと各々の宿主細胞レセプターとの相互作用を解析し、それを基により特異的にかつ効果的に癌細胞に感染するウイルスを作製する。(3) 各々のウイルスによる Virotherapy と癌ワクチン免疫療法など他の治療法と組み合わせ、その抗腫瘍効果を増強させる。

## **C. 小型霊長類コモンマーモセットを用いた再生医療開発研究**

### **a. コモンマーモセット ES 細胞株の樹立研究**

本邦においてコモンマーモセット ES 細胞を用いた再生医療研究を発展させる目的で、(財)実験動物中央研究所との共同研究により、コモンマーモセット ES 細胞株を新たに 3 ライン樹立した。

### **b. コモンマーモセット ES 細胞からの血球分化誘導実験**

得られたコモンマーモセット ES 細胞株にレンチウイルスベクターを用いて *tal1/scl* 遺伝子を強制発現させることにより、非常に効率良く種々の血球細胞へと分化誘導できることを明らかにした。現在、モデル動物を用いた *in vivo* での詳細な解析を行っており、再生医療における有効性及び安全性について検討を行っている。また、リンパ球や血小板といった成熟血球分化に特化した誘導系についても検討中である。

### **c. 白血病モデルコモンマーモセットの作製**

白血病治療法の開発を目的として、白血病モデルコモンマーモセットの作製に取り組んでいる。これまでに東京大学医科学研究所との共同研究により、白血病原因遺伝子を組み込んだレンチウイルスベクターを数種類構築した。今後、遺伝子導入した骨髓細胞を自家移植する予定である。

## **D. ノックアウトマウス等を用いた免疫関連分子の解析**

### **a. 炎症性腸疾患患者における血清中可溶性 CD30 濃度の測定**

健常人ならびにクローン病患者、潰瘍性大腸炎患者における血清中の可溶性 CD30 濃度を ELISA 法により測定した。その結果、クローン病患者、潰瘍性大腸炎患者いずれにおいても可溶性 CD30 濃度は疾患活動性と相関して上昇していた。また、免疫組織染

色においてクローン病、潰瘍性大腸炎いずれにおいても炎症腸管局所において CD30 陽性細胞を認めた。

#### **b . CD30L 欠損マウスを用いた腸管炎症の発症機序に関する検討**

CD30L 欠損マウスと野生株マウスに抗 CD3 抗体の腹腔内投与により小腸炎を誘導し、体重変化、小腸病理組織像、血清中サイトカイン濃度を ELISA 法にて検討した。これまでの成績では、野生株マウスと比較し CD30L 欠損マウスにおいて、体重減少、小腸病理組織像、サイトカイン濃度の上昇などの指標から炎症所見が軽度であることが示された。また、合成蛋白 (CD30Ig) による阻害実験により腸炎を軽減することに成功した。これらの結果より、現在、炎症性腸疾患の新規治療法として抗 CD30 抗体による抗体療法の有効性を検討している。

### **業績目録**

#### **原著論文**

1. Maeda, T., Oyama, J., Mukai, Y., Satoh, S., Sugano, M., Makino, N. and Tani, K.  
Cardiac dysfunction with severe anemia in an aged case.  
J AmGeriatr Soc. 53: 361-362, 2005
2. Nakashima, Y., Shiratsuchi, M., Abe, Y., Muta, K., Tani, K., Shiokawa, S., Nishimura, J.  
Sustained molecular remission by non-myeloablative stem cell transplantation after autologous hematopoietic stem cell transplantation in a patient with multiple myeloma.  
Leuk Lymphoma. 46:1217-1222, 2005.
3. Sasaki, E., Hanazawa, K., Kurita, R., Akatsuka, A., Yoshizaki, T., Ishii, H., Tanioka, Y., Ohnishi, Y., Suemizu, H., Sugawara, A., Tamaoki, N., Izawa, K., Nakazaki, Y., Hamada, H., Suemori, H., Nakatsuji, N., Okano, H. and Tani, K.  
Establishment of Novel Embryonic Stem Cell Lines Derived from the Common Marmoset (Callithrix jacchus)  
Stem Cells 23:1304-1313, 2005
4. Nishimura H., Yajima T., Muta H., Podack E.R., Tani K., and Yoshikai Y.  
A novel role of CD30/CD30L signaling in the generation of long-lived memory CD8+T cells  
J.Immunol. 175:4627-4634, 2005.
5. Kang X., Xinru Xiao, X., Harata M., Bai, Y., Nakazaki Y., Soda, Y., Kurita, R., Tanaka T., Komine, F., Izawa K., Kunisaki R., Setoyama M., Nishimori H., Natsume A., Makoto Sunamura M., Lozonshi L., Saitoh I., Tokino T., Asano S., Nakamura Y., Tani K.

Antiangiogenic activity of BAI1 in vivo: implications for gene therapy of human glioblastomas

Cancer Gene Ther 13: 385-392, 2006

6. Nakamura T, Peng KW, Harvey M, Greiner S, Lorimer IA, James CD, Russell SJ.  
Rescue and propagation of fully retargeted oncolytic measles viruses.  
Nature Biotechnology, 23(2), 209-214, 2005.
7. Nagano, K., Itagaki, C., Izumi, T., Nunomura, K., Soda, Y., Tani, K., Takahashi, N., Takenawa, T., Isobe, T.  
Rb plays a role in survival of Abl-dependent human tumor cells as a downstream effector of Abl tyrosine kinase.  
Oncogene 25:493-502, 2006
8. Nakayama M, Both GW, Banizs B, Tsuruta Y, Yamamoto S, Kawakami Y, Douglas JT, Tani K, Curiel DT, Glasgow JN.  
An adenovirus serotype 5 vector with fibers derived from ovine adenovirus demonstrates CAR-independent tropism and unique biodistribution in mice.  
Virology. 2006 (in press)
9. Kunisaki, R., Ikawa, S., Maeda, T., Nakazaki, Y., Kurita, R., Harata, M., Shutoh, Y., Bai, S.Y., Soda, Y., Tanabe, Y., Dohi, T., Kato, R., Ikawa, Y., Sekihara, H., Asano, S., Tani, K., p51/p63, a novel p53 homologue, potentiates p53 activity and is a human cancer gene therapy candidate.  
J Gene Med. 2006 (in press)
10. Nakazaki, Y., Hase, H., Inoue, H., Beppu, Y., Meng Xin K, Sakaguchi, G., Ryo Kurita, R., Asano, S., Nakamura, Y., Tani, K.  
Serial analysis of gene expression in progressing and regressing mouse tumors implicates the involvement of RANTES and TARC in antitumor immune responses.  
Mol Ther 2006 (in press)
11. Kurita, R., Sasaki, E., Yokoo, T., Hiroyama, T., Takasugi, K., Imoto, H., Izawa, K., Dong, Y., Hashiguchi, T., Soda, Y., Maeda, T., Suehiro, Y., Tanioka, Y., Nakazaki, Y., Tani, K.  
Tall/scl gene transduction using a lentiviral vector stimulates highly efficient hematopoietic cell differentiation from common marmoset (*Callithrix jacchus*) ES cells.  
Stem Cells 2006 (in press)

## 総説

1. Nakamura T, Russell SJ. Rescue and Propagation of Tropism-modified Measles Viruses. Chapter of DNA Deliver/Gene Transfer, editors: Theodore Friedmann & John Rossi. Cold Spring Harbor Laboratory Press. In press.
2. Nakamura T, Russell SJ. Engineering Oncolytic Measles Viruses for Targeted Cancer Therapy. Chapter of Molecular target in oncology. Humana Press. In press.
3. 中村 貴史: 癌特異的に感染する殺腫瘍麻疹ウイルスを用いた標的癌治療。実験医学、Vol.23-No.17,182-189,2005

## 特許等

Methods for acceleration of stem cell differentiation

(39888-0005PR)

New U.S. Provisional Patent Application

Inventors: 谷憲三朗、栗田良

March 15, 2005 提出

## 学会発表

1. Takafumi Nakamura, Mary Harvey, Suzanne Greiner, Kah-Whye Peng and Stephen J. Russell. Fully retargeted oncolytic measles viruses for cancer therapy. American Society for Gene Therapy Annual Meeting, 2005, St. Louis, USA (Oral presentation).
2. Takafumi Nakamura, Kah-Whye Peng, Mary Harvey, Suzanne Greiner and Stephen J. Russell. Retargetable oncolytic measles virus for cancer virotherapy. American Association for Cancer Research Annual Meeting, 2005, Anaheim, USA (Oral presentation).
3. Takafumi Nakamura. Fully Retargeted oncolytic measles viruses for cancer virotherapy. Oncolytic viruses as cancer therapeutics. 2005, Banf, Canada (Oral presentation).
4. Takafumi Nakamura, Mary Harvey, Suzanne Greiner, Kah-Whye Peng and Stephen J. Russell. Fully Retargeted oncolytic measles viruses for cancer virotherapy. Immune, vascular and gene targeting for cancer imaging and therapy, 2005, San Diego, USA (Poster presentation).
5. 栗田良, 佐々木えりか, 横尾朋子, 寛山隆, 中崎有恒, 石井一, 谷岡功邦, 伊澤

清子, 白元松, 曾田泰, 谷憲三朗

コモンマーモセット胚性幹(ES)細胞を用いた血球細胞分化誘導系の検討

第三回幹細胞シンポジウム、淡路、2005.5

6. 栗田良, 横尾朋子, 佐々木えりか, 寛山隆, 高杉香志也, 谷岡功邦, 伊澤清子, 曾田泰, 中崎有恒, 谷憲三朗  
コモンマーモセット胚性幹(ES)細胞を用いた血球細胞分化誘導系の検討  
第 67 回日本血液学会、横浜、2005.9
7. Tomoko Yokoo, Ryo Kurita , Erika Sasaki, Takashi Hiroyama, Yukoh Nakazaki, Kiyoko Izawa, Hajime Ishii, Yoshikuni Tanioka, Kisaburo Hanazawa, Yuan Son Bai, Yasushi Soda, Kenzaburo Tani  
“Hematopoietic Cell Differentiation from Common Marmoset (Callithrix jacchus) Embryonic Stem Cells by Their Genetic Manipulation Using the Third Generation Lentiviral Vector.”  
American Society of Gene Therapy 8th Annual Meeting in St.Louis, June, 2005
8. Tomoko Yokoo , Ryo Kurita, Erika Sasaki, Takashi Hiroyama, Yukoh Nakazaki, Kiyoko Izawa , Hajime Ishii , Yoshikuni Tanioka , Kisaburo Hanazawa, Yuan Son Bai, Yasushi Soda, Kenzaburo Tani  
“Hematopoietic Cell Differentiation from Common Marmoset (Callithrix jacchus) Embryonic Stem Cells by Exogenous Gene Expression Using the Third Generation Lentiviral Vector”  
第 11 回 日本遺伝子治療学会(JSGT) , 東京, 2005 年 7 月
9. Tomoko Yokoo , Ryo Kurita , Erika Sasaki, Kashiya Takasugi, Hideyuki Imoto, Yoshikuni Tanioka, Yasushi Soda, Kenzaburo Tani  
“Production of megakaryocytes and platelets from common marmoset (Callithrix jacchus) ES cells by constitutive expression of tal1/scl gene”  
American Society of Gene Therapy(ASGT) 9th Annual Meeting in Baltimore, June, 2006  
発表予定
10. Tomoko Yokoo , Ryo Kurita, Youko Suehiro, Kashiya Takasugi, Tatsuo\_Oikawa, Hideyuki Imoto, Takafumi Nakamura, Yoshikuni Tanioka, Erika Sasaki, Kenzaburo Tani.  
“Production of megakaryocytes and platelets from common marmoset (Callithrix jacchus) ES cells by constitutive expression of tal1/scl gene.”  
第 12 回 日本遺伝子治療学会(JSGT) , 東京, 2006 年 8 月 発表予定

11. Hiroyuki Inoue. Terumasa Hisano. Yukoh Nakazaki. Gaku Sakaguchi. Ryo Kurita. Koichi Takayama. Yoichi Nakanishi. Kenzaburo Tani  
Relationship between the expression of membrane receptors (CAR,Integrin avb3,avb5)and adenoviral transduction efficiency  
American Society of Gene Therapy 8th Annual Meeting in St.Louis, June, 2005
12. Inoue H. Hisano T.Nakazaki Y. Kurita R. Takayama K. Nakanishi Y. Tani K  
Relationship between Adenoviral Human GM-CSF Transduction Efficiency into Tumor Cells and their Membrane Receptors (CAR,Integrin avb3,avb5)  
第 11 回 日本遺伝子治療学会(JSGT) , 東京, 2005 年 7 月
13. RANTES and TARC enhanced the antitumor immune effects of GM-CSF  
American Society of Gene Therapy(ASGT) 9th Annual Meeting in Baltimore, June, 2006  
発表予定
14. Hiroyuki Inoue. Takahumi Nakamura. Meng Xin. Gaku Sakaguchi. Ryo Kurita. Hidenori Hase. Yukoh Nakazaki. Yoshikazu Yonemitsu. Koichi Takayama. Yoichi Nakanishi. Shigetaka Asano. Kenzaburo Tani.  
TARC enhanced the antitumor immune effect of GM-CSF in tumor vaccine model  
第 12 回 日本遺伝子治療学会(JSGT) , 東京, 2006 年 8 月 発表予定
15. 第 91 回日本消化器病学会総会、2005 年 4 月、東京、  
本田邦臣, 中村和彦, 杉田真一 , 牟田浩実 , 松井謙明, 高橋 誠, 水谷孝弘 ,  
吉永繁高, 秋穂裕唯 , Eckhard R. Podack, 谷憲三朗, 名和田新  
CD30 ligand (CD30L) の DSS 腸炎における役割の検討
16. 第 2 回 Translational Research 若手の会、2005 年 5 月、大阪  
牟田 浩実、杉田 真一、中川 晋一郎、久野 晃聖、谷 憲三朗  
当科における細胞療法臨床研究について
17. 第 13 回日本消化器関連学会週間、2005 年 10 月、神戸  
杉田真一、牟田浩実、中村和彦、中川晋一郎、本田邦臣、松井謙明、高橋誠、水  
谷孝弘、吉永繁高、秋穂裕唯、名和田新、谷憲三朗  
CD30/CD30ligand シグナルの腸管炎症における役割の検討
18. 第 271 会日本内科学会九州地方会、2005 年 11 月、那覇市  
藤井雅一、牟田浩実、生田卓也、杉田真一、末廣陽子、久野晃聖、谷憲三朗  
大動脈炎症候群の診断に至った高齢者不明熱の一例

19. 日本バイオセラピー学会学術集会総会、2005年12月、宇部  
牟田浩実、杣田真一、中村 和彦、中川晋一郎、生田卓也、藤井雅一、末廣陽子、久野晃聖、Eckhard R. Podack、谷 憲三朗  
抗 CD30 抗体を用いた新規炎症性腸疾患治療法の開発
20. 第3回北部九州消化管リサーチカンファランス、2006年1月、福岡  
杣田真一、中村和彦、牟田浩実、本田邦臣、樋口奈緒美、金山兼司、水谷孝弘、隅田頼信、吉永繁高、板場壮一、秋穂裕唯、名和田新、Eckhard R. Podack、谷憲三朗  
CD30/CD30ligand シグナルの腸管炎症における役割の検討
21. DDW 2005, 2005年5月14日, Shinichi Somada, Hiromi Muta, Eckhard R Podack, Kuniomi Honda, Kazuhiko Nakamura, Shinichiro Nakagawa, Hajime Nawata, Kenzaburo Tani , Defining the roles of CD30 signals in T cell induced mucosal damage in the mouse intestine.
22. DDW 2006, 2006年5月21日, Los Angeles USA, Shinichi Somada, Hiromi Muta, Eckhard R Podack, Kazuhiko Nakamura, Kuniomi Honda, Hajime Nawata, Kenzaburo Tani , CD30 expression by CD4 cells at inflammatory sites in the intestine
23. 日本内科学会九州地方会、熊本、2006.5  
生田卓也、末廣陽子、久野晃聖、藤井雅一、杣田真一、安部康信、大島孝一、牟田浩美、牟田耕一郎、谷憲三朗  
著明な骨髄繊維化を生じた肝類上皮血管内皮種の1例

## ゲノム創薬・治療学分野

### Division of Molecular and Cell Therapeutics, Department of Molecular Genetics

当部門は、ヒトリプロダクションの分子機構及びその異常に基づく疾患の病態の解明、遺伝子診断さらには遺伝子治療の開発を目的としている。

平成17年度は、教授・和氣徳夫、講師・加藤聖子、助手・浅野間和夫の教官のほかに、大学院生・山口真一郎、大神達寛で教室を構成した。

#### A. 子宮内膜細胞の癌化機構における stem-like-cell の関与

(加藤聖子・大神達寛・浅野間和夫・山口真一郎・和氣徳夫)

周期的に再生される子宮内膜には幹細胞の存在が示唆される。また、種々の癌において癌幹細胞の存在が報告されているが、子宮体癌については不明である。我々は、組織幹細胞の同定に使用される Hoechst33342 の取り込みの低い分画の細胞(side population:SP細胞)を分離する方法を用いて子宮内膜・子宮体癌細胞の幹細胞の同定及び解析を試みている。

同意を得て採取された正常子宮内膜28例(増殖期16例、分泌期8例、月経期4例)をコラゲナーゼ処理後フィルターにより腺上皮(CD9+, CD13-, E-cadherin+, Vimentin+)と間質細胞(CD9-, CD13+, E-cadherin-, Vimentin+)に分離し SP 細胞の有無について検討した。

SP 細胞は腺上皮・間質細胞のどちらにも存在し、その比率は月経期内膜で最も高かった。SP 細胞は、CD9-, CD13- の分画に多く存在した。非 SP 細胞は3ヶ月以内に死滅したが、SP 細胞はサイトカイン存在下に、腺上皮由来の SP 細胞は支持細胞上で、間質細胞由来の SP 細胞はコラーゲンディッシュ上で6ヶ月以上の長期生存が可能であり、それぞれ腺上皮様(CD9+, E-cadherin+)、間質様(CD9-, CD13+)細胞に分化した。以上より、正常子宮内膜の SP 細胞の中に長期生存が可能で、腺上皮・間質様細胞に分化する progenitor あるいは stem-like-cell が存在することが示された。また、分化過程における CD9, CD13 の発現誘導は不死化子宮内膜細胞を用いた短期培養細胞でも再現された。

次に、子宮体癌細胞株(Hec1)、不死化ラット子宮内膜に活性化型 K-Ras を形質導入し造腫瘍能を獲得した RK12V 細胞を用いて解析した。Hec1 細胞、RK12V 細胞ともに SP 細胞が存在し、正常子宮内膜と同様、非 SP 細胞に比べ、CD9, CD13 の発現は低下していた。RK12V 細胞の SP 細胞はプレート上で充実性に非 SP 細胞は腺管状に増殖した。ヌードマウスに SP 細胞、非 SP 細胞を接種したところ、両細胞株ともに非 SP 細胞は被膜化された小さな腫瘍を形成したのに対し、SP 細胞は有意に大きく、浸潤能の高い腫瘍を形成した。RK12V 細胞を用いて SP 細胞の増殖に重要なシグナルを種々の阻害剤で解析したところ、PI3K 阻害剤が SP 細胞の出現頻度も増殖も有意に抑制した。

以上より1)正常子宮内膜の SP 分画には、CD9-, CD13- の長期生存可能で、分化能を持つ stem-like cell が存在する、2)子宮体癌細胞の SP 細胞も非 SP 細胞に比べ、CD9, CD13 の発現は低下しており、増殖能・浸潤能の高い腫瘍を形成する、3) SP 細胞の増殖には PI3K を介するシグナル経路が重要であることが明らかとなった。



現在、純粋な幹細胞を分離するために各細胞株の SP 細胞と非 SP 細胞の間で発現に違いがある遺伝子をマイクロアレイで検索し、幹細胞のマーカーを検討中である。また、子宮内  
膜幹細胞の子宮内膜症の発生やその癌化への関与も検討する予定である。

## **B. 子宮内膜癌の癌化機構における NECC1 遺伝子の関与**

**(浅野間和夫・山口真一郎・加藤聖子・大神達寛・和氣徳夫)**

NECC1 は絨毛癌細胞株の造腫瘍能を抑制する遺伝子として単離され咽頭癌、肺癌でも発現抑制が報告されている。また、NECC1 は正常子宮内膜腺細胞で発現し、子宮内膜癌細胞株、組織検体で発現消失を認める。NECC1 の子宮内膜癌癌化機構における役割を解明する目的で解析を行った。乳癌細胞株 MCF7 では ER-*Src*-PI3K-Akt-SRF-*c-fos* 経路が 17β-estradiol (E2) 刺激に対する増殖経路のひとつとして報告されている。NECC1 はエストロゲン感受性腫瘍である乳癌細胞や子宮内膜癌細胞において SRF の活性を阻害しこの経路を抑制すると予想される。そこで(1)MCF7、子宮内膜癌細胞株 Ishikawa、Hec1A にアデノウィルスベクターを用いて NECC1 を遺伝子導入し E2 を加え、細胞増殖、BrdU 取込率を検討した。(2)経時的な各サイクリンの発現を検討した。(3)*c-fos* のプロモーター活性を検討した。(4)優性ネガティブ型 SRF を遺伝子導入し、その重要性を検討した。結果として(1)E2 刺激により MCF7、Ishikawa、Hec1A の細胞増殖能が増し、NECC1 発現により増殖抑制を認めた。(2)NECC1 発現細胞は E2 刺激下でコントロールに比べ *c-fos*、cyclin D1、cyclin A、cyclin B1 の発現低下を認めた。(3)*c-fos* の転写活性は E2 刺激で上昇し、NECC1 の強制発現で抑制された。(4)優性ネガティブ型 SRF 遺伝子導入により E2 刺激に対する細胞増殖は抑制され、NECC1 強制発現と同様の表現型を示した。結論として MCF7、Ishikawa、Hec1A 細胞において NECC1 は E2 刺激による SRF の活性を阻害して細胞周期を抑制することが示唆された。

## **C. 子宮体癌における HOP/NECC1 遺伝子の関与**

**(山口真一郎・浅野間和夫・加藤聖子・大神達寛・和氣徳夫)**

子宮体癌は日本において近年増加傾向であり、その診断や治療に対する新しい効果的な指標の発見が望まれている。今までの報告から HOP/NECC1 は 4q11-12 領域に存在する 73 のアミノ酸からなる蛋白により構成された遺伝子でホモオボックス遺伝子である。その働きは転写因子として働くのではなく、細胞増殖因子である SRF (serum response factor) の機能を抑制し、胎盤の分化/心臓の形成に関わるといわれている。

HOP/NECC1 は正常子宮内膜には発現を認めるが、子宮体癌細胞株・肺癌・絨毛癌・上咽頭癌等すべてで発現が抑制されている。そこで子宮体癌での発現について検討した。

また、癌抑制遺伝子のサイレンシングに DNA のプロモーター領域のメチル化が関与しているという事が知られている。よって、HOP/NECC1 にも関与があるのではないかと考え、同遺伝子のプロモーター領域で CpG Island (CG 配列の多いところ) のメチル化の有無について調べた。

十分な説明の下、同意を得られた患者の検体を用いて、子宮体癌、正常子宮内膜での HOP/NECC1 遺伝子の発現を免疫染色、ウエスタンブロット法を用いて調べた。

バイサルファイト法を用いて HOP/NECC1 遺伝子のプロモーター領域のメチレーションの状態を調べた。

ウエスタンブロット法では、HOP/NECC1 の発現は、正常内膜で 100% (10/10)、子宮体癌 G1 で 30% (3/10)、G2 で 10% (1/10)、G3 で 12% (1/8) 免疫染色法でも正常内膜(増殖期・分泌期・月経期)100% (6/6)、G1 で 50% (5/10)、G2 で 60% (6/10)、G3 で 30% (3/10)と有意に発現の減少を認めた。

子宮体癌細胞株でプロモーター領域(開始点から-284bp5 末端側)中の 21CpG サイトは高メチル化状態にあった。

よって HOP/NECC1 は子宮体癌で発現低下している。

HOP/NECC1 遺伝子においてプロモーター領域のメチレーションが転写を直接制御している可能性が示唆される。

#### D. 婦人科癌細胞に対する Mithramycin A の増殖抑制効果

(大神達寛・加藤聖子・山口真一郎・浅野間和夫・和氣徳夫)

子宮体癌および卵巣癌の造腫瘍能獲得には Ras/MEK/ER /MDM2/p53 シグナル伝達系が関与する。このシグナル伝達系において、MEK 阻害剤および抗エストロゲン剤の併用は ER の不活化を介して MDM2 発現を抑制し、p53 の活性化から細胞老化を誘導する。今回の研究で用いた Mithramycin A は、MDM2 の転写活性因子である SP1 の選択的阻害剤であり、すでにアメリカで慢性骨髄性白血病の治療薬として臨床応用されている。そこで Mithramycin A を子宮体癌細胞株(Hec1、Hec6、HHUA)および卵巣癌細胞株(KF、SKOV)に対して用い、MDM2 発現と細胞増殖に与える効果を解析して臨床応用の可能性を検討した。

ここで SP1 とは GC box を介して DNA に結合する非特異的な転写因子である。そして Mithramycin A も GC 特異的な DNA 結合を示す薬剤で、GC リッチなプロモーター配列を有する様々な遺伝子の転写を抑制する。また MDM2 のプロモーター領域の構造についてであるが、この領域には SP1 の結合部位が複数個所あり、そのうちの 1 つが 309 番目の SNP(遺伝子多型)の存在によりその親和性が向上し、MDM2 活性が上昇するとされている。そのため、今回の研究で用いた細胞株についてもこの SNP の有無を確認したが、Hec1 と HHUA に heterozegous な多型を認め、その他の細胞株は野生型であった。ちなみに p53 は Hec1 と SKOV が mutant である。

まず、それぞれの細胞株における MDM2 発現を Western blot で解析したが、不死化正常子宮内膜と比較して全ての細胞株で MDM2 の過剰発現を認めた。これらの細胞株を 600nM の Mithramycin A で 24 時間処理すると、その MDM2 発現は全ての細胞株で抑制された。次に Mithramycin A が細胞増殖に与える効果を解析したが、全ての細胞株で 20nM の低用量で濃度依存性に細胞増殖抑制効果を認めた。この効果は p53 status や MDM2 プロモーター遺伝子の SNP の有無とは無関係であった。20nM の Mithramycin A 処理による細胞周期の変化を FACS 解析すると、全ての細胞株で G0/G1 期への細胞周期集積を認めた。このときのタンパク発現の変化を Western blot で解析すると、野生型の p53 を有する細胞株では p53/p21 の発現誘導が認められた。しかし予想に反して、MDM2 の発現は時間

依存性にその発現が誘導されていた。そこで Mithramycin A の用量の違いによる MDM2 発現の変化を解析すると、野生型 p53 を有する細胞株においては 100nM にかけて MDM2 発現が誘導され、200nM 以上の高用量で徐々にその発現が抑制されていた。MDM2 発現を確実に抑制する 600nM の高用量で Mithramycin A 処理を行うと、FACS 解析において全ての細胞株で G2/M 期への細胞周期集積を認めた。

以上の結果より、Mithramycin A は使用する用量により異なる分子機構を示すものの、広範な細胞増殖抑制効果を示し、子宮体癌および卵巣癌に対しても臨床応用可能と考えられた。

## 業績目録

### 原著論文

- 1 吉河康二, 井上貴史, 加藤秀則, 和氣徳夫. 2005.  
腔に発生した無色素悪性黒色腫の1例  
大分県医学会雑誌 23, 1, 21-24.
- 2 Horiuchi S, Kato K, Suga S, Takahashi A, Ueoka Y, Arima T, Nishida JI, Hachisuga T, Kawarabayashi T, Wake N. 2005.  
Expression of progesterone receptor B is associated with G0/G1 arrest of the cell cycle and growth inhibition in NIH3T3 cells. Exp  
Cell Res. May 1;305(2):233-243.
- 3 Kamikihara T, Arima T, Kato K, Matsuda T, Kato H, Douchi T, Nagata Y, Wake N. 2005.  
Epigenetic silencing of the imprinted gene ZAC by DNA methylation is an early event in the progression of human ovarian cancer.  
International Journal of Cancer. 115,690-700.
- 4 Arima T, Kato K, Hayashida T, Kamikihara T, Matsuda T, Kato H, Shirayoshi Y, Oshimura M, Soejima H, Mukai T, Wake N. 2005.  
Zac, LIT1 (KCNQ10T1) and p57KIP2 (CDKN1C) are in an imprinted gene network which may play a role in Beckwith-Wiedemann Syndrome.  
Nucleic Acids Research,33, 8,2650-2660.
- 5 Kihara M, Matsui H, Seki K, Nagai Y, Wake N, Sekiya S. 2005.  
Genetic origin and imprinting in hydatidiform moles: Comparison between DNA polymorphism analysis and immunoreactivity of p57KIP2.  
The Journal of reproductive Medicine, 50(5):307-312.

- 6 Kato H, Matsuda T, Hirakawa T, Ueda K, Inoue T, Miyanari Y, Asanoma K, Nakano H, Wake N. 2005.  
Differential diagnosis between complete and partial mole by TSSC3 antibody completely correlates to DNA diagnosis.  
Diagn Mol Pathol. 14(3)164-169.
- 7 Kato H, Inoue T, Asanoma K, Matsuda T, Yoshikawa Y, Wake N. 2006.  
Activation of STAT3/5 Signal Pathways in Complete Mole and Repression in Choriocarcinoma Cell Lines  
Journal of Reproductive Medicine, 51(1):41-48.
- 8 Kato H, Inoue T, Asanoma K, Nishimura C, Matsuda T, and Wake N. 2006.  
Induction of human endometrial cancer cell senescence through modulation of HIF-1 $\alpha$  activity by EGLN1  
International Journal of Cancer. 118,1144-1153.
- 9 Kukita Y, Miyatake K, Stokowski R, Hinds D, Higasa K, Wake N, Hirakawa T, Kato H, Matsuda T, Pant K, Cox D, Tahira T, Hayashi K. 2005.  
Genome-Wide Definitive Haplotypes Determined Using a Collection of Complete Hydatidiform Moles.  
Genome Research 15(11):1511-8.

## 総説

- 1 有馬隆博, 和氣徳夫 . 2005 .  
インプリントと生殖異常  
Molecular Medicine 42 , 2 , 195-200 .
- 2 和氣徳夫 , 山吉麻子 . 2005 .  
子宮頸癌に対する光架橋型アンチセンス分子標的療法  
産婦人科の実際・診療 54,7,1137-1142 .

## 学会発表

- 1 Wake N(2005/4/2-5)  
Reconstruction of p53 stabilization signals in human cancer cells  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会 International Symposium 1 , 京都
- 2 須賀 新, 加藤聖子, 山吉麻子, 一戸晶元, 有馬隆博, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
Ras/ER /MDM2 経路を標的にした分子標的治療法開発の試み

第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都

- 3 加藤秀則, 松田貴雄, 浅野間和夫, 井上貴史, 山口真一郎, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
抗 TSSC3 抗体の奇胎診断への応用  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都
- 4 浅野間和夫, 加藤秀則, 松田貴雄, 井上貴史, 山口真一郎, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
Ncc1 遺伝子の栄養膜細胞分化・胎盤形成における働き  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都
- 5 山吉麻子, 須賀新, 一戸晶元, 有馬隆博, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
HPV16 E6 を標的とした新規子宮頸癌治療法の開発  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都
- 6 一戸晶元, 加藤聖子, 須賀新, 山吉麻子, 有馬隆博, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
活性型 K-Ras を介する造腫瘍能獲得機構における Rac1 の関与  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都
- 7 井上貴史, 浅野間和夫, 山口真一郎, 松田貴雄, 加藤秀則, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
p21 による癌細胞死誘導能と活性酸素種との関連  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都
- 8 一戸晶元, 加藤聖子, 須賀新, 山吉麻子, 有馬隆博, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
子宮内膜・子宮体癌幹細胞の同定  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都
- 9 有馬隆博, 山吉麻子, 須賀新, 一戸晶元, 加藤聖子, 和氣徳夫 (2005/4/2-5)  
ヒト胎盤栄養膜幹細胞同定と分離  
第 57 回日本産科婦人科学会学術講演会, 京都
- 10 須賀 新, 加藤聖子, 山吉麻子, 和氣徳夫 (2005/6/30-7/1)  
Ras/ER /MDM2 経路を標的にした分子標的治療法開発の試み  
第9回がん分子標的治療研究会総会, 京都
- 11 加藤聖子, 浅野間和夫 (2005/6/30-7/1)  
Ras/ER /MDM2 経路を標的にした分子標的治療法開発の試み  
第9回がん分子標的治療研究会総会, 京都
- 12 加藤聖子 (2005/10/21)

エストロゲン依存性腫瘍の発癌機構の解明と治療法の開発  
第14回産婦人科分子内分泌懇話会, 山梨

- 13 加藤聖子 (2005/10/27)  
エストロゲン依存性腫瘍の発癌機構の解明と治療法の開発  
第23回日本絨毛性疾患研究会, 富山
- 14 浅野間和夫, 加藤秀則, 和氣徳夫 (2005/10/27-28)  
マウス栄養膜細胞の分化、胎盤形成に関わる遺伝子 NECC1 の解析  
第13回日本胎盤学会学術集会, 富山
- 15 加藤聖子, 有馬隆博, 大神達寛, 山口真一郎, 浅野間和夫, 和氣徳夫  
(2005/11/5-6)  
子宮内膜・体癌細胞における stem like cell 同定の試み  
第8回生医研リトリート, 湯布院

## 発生工学分野

### Division of Embryonic and Genetic Engineering

当分野では、ノックアウトマウスの作製を通じて、免疫系、特に自然免疫系の生体防御における生体レベルでの機能を解析している。なかでも (1)自然免疫系の活性制御機構と慢性炎症性腸疾患の関わり、(2)Toll-like receptor (TLR)を介した自然免疫系の感染防御における役割を中心に研究している。

竹田潔(教授)、松本真琴(助手)、桑田啓貴(助手)、古賀律子(技術補佐員)、倉田真弓(事務補佐員)、城戸律子(技能補佐員)、新幸二(医学修士2年)、小川雅弘(医学修士2年)は引き続き当研究室で研究に従事している。また新たに博士課程1年として井手康介、永井由紀子、香山尚子の3名が、医学修士1年として財賀大行、研究生として西村潤一が参加した。

#### A. 自然免疫系の異常活性化により発症する慢性炎症性腸疾患の発症機構の解析

自然免疫系の活性制御機構を解析するためのモデルとして、自然免疫系の活性制御機構の破綻により慢性大腸炎を発症する、自然免疫系特異的 Stat3 欠損マウス、IL-10 ノックアウトマウスを用いて解析を行った。

正常マウスの大腸の粘膜固有層には少数のマクロファージや樹状細胞が存在している。これらの細胞群の単離法を確立し、高純度のマクロファージや樹状細胞を培養できるようになった。正常マウスの大腸の粘膜固有層由来の細胞は、IL-12 などの炎症性サイトカインを産生しない。一方、慢性腸炎を発症する IL-10 ノックアウトマウスや Stat3 変異マウスの大腸の粘膜固有層では、たとえ慢性腸炎を発症する前の若いマウスでも、マクロファージや樹状細胞の数が極めて増加しており、さらにこれらの細胞は IL-12 などの炎症性サイトカインを産生することを明らかにした。そこで、正常マウスの細胞がサイトカイン産生を示さない分子機構を、正常マウスと IL-10 ノックアウトマウスの細胞間で遺伝子発現の差を DNA microarray で解析し、核に発現する I $\kappa$ B 分子 I $\kappa$ BNS が、正常マウスの細胞に選択的に発現していることを見いだした。I $\kappa$ BNS をマクロファージ系細胞株に発現させると、LPS 刺激による TNF- $\alpha$  産生は抑制しないが、IL-6 産生を抑制することを見いだした。そこで、I $\kappa$ BNS の生理機能を明らかにし、この個体レベルでの役割を明らかにするため、ノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析した。

I $\kappa$ BNS ノックアウトマウスは正常に出生し、外見上異常は認めなかった。I $\kappa$ BNS ノックアウトマウスより腹腔マクロファージを単離、あるいは骨髄由来樹状細胞を分化させ、TLR 刺激による TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12 産生を解析した。その結果、I $\kappa$ BNS ノックアウトマウスでは、TNF- $\alpha$  産生に変化はないが、IL-6、IL-12 産生が有意に亢進していた。次にこれら遺伝子の mRNA の発現誘導を real time RT-PCR 法で解析した。TNF- $\alpha$  mRNA の誘導は刺激後 1 時間以内に認められるが、この誘導パターンには正常マウスと I $\kappa$ BNS ノックアウトマウス間で変化はなかった。IL-6 mRNA は刺激後 3 時間から誘導がみられるが、3 時間までは両マウス間で差はなかった。正常マウスでは 3 時間以降 mRNA の発現量は低下するが、I $\kappa$ BNS ノックアウトマウスでは mRNA 量は高いままであった。他の遺伝子にも刺激後 1 時間以内の早期に誘導されてくる遺伝子(IL-1 $\beta$ , IL-12p19 など)と遅れて時間以後に誘導される遺伝子(IL-12p40, IL-18 など)があるが、早期に誘導される遺伝子群の発現誘導パターンは両マウス間で差がないが、遅れて誘導されてくる遺伝子群は 5 時間以降 I $\kappa$ BNS ノックアウトマウスで有意に発現が高かった。次に、TLR 刺激によるまた TLR 刺激による NF- $\kappa$ B の活性化をゲルシフト法、および NF- $\kappa$ B p65 の細胞内局

在により解析した。その結果、IkBNS ノックアウトマウスではNF- $\kappa$ B の活性が遷延化し、刺激後3時間でもまだ NF- $\kappa$ B の活性が残存していることが明らかになった。次に、TNF- $\alpha$ 、IL-6 プロモーターへの NF- $\kappa$ B p65 の会合をクロマチン免疫沈降法で解析した。TNF- $\alpha$  プロモーターへの p65 の会合は刺激後1時間をピークに観察され、これは正常マウスとIkBNS ノックアウトマウスの間で差は認められなかった。一方 IL-6 プロモーターへの p65 の会合は刺激後 3 時間をピークに正常マウスでは認められた。IkBNS ノックアウトマウスでも3時間までは正常マウスと同様に p65 の会合が誘導されたが、3時間以降正常マウスでは p65 の会合が減少していくのに対し、IkBNS ノックアウトマウスでは持続したままであった。これらの結果から、IkBNS は刺激後遅れて誘導されてくる遺伝子のプロモーターにおいて選択的に NF- $\kappa$ B の活性を抑制することにより、遺伝子発現を抑制していることが明らかになった。さらに個体レベルでも、LPS 投与によるエンドトキシンショックに対する感受性が高くなり、また dextran sodium sulfate の経口投与による腸管炎症に対する感受性も極めて高くなっていた。

以上の結果から、核に発現する IkBNS が、自然免疫系の細胞において NF- $\kappa$ B の活性を抑制することにより、あるサブセットの遺伝子発現を抑制し、個体レベルで炎症抑制に関与していることが明らかになった。

## B. Toll-like receptor (TLR)を介した自然免疫系の感染防御における役割

TLR シグナルの細胞内寄生性病原体の感染防御における役割を、TLR を介した自然免疫系の活性化が消失する MyD88/TRIF の二重欠損マウスを作成し、解析した。正常マウス、MyD88 欠損マウス、TRIF 欠損マウス、および MyD88/TRIF 二重欠損マウス由来のマクロファージあるいは樹状細胞に、細胞内寄生性原虫 *Trypanosoma cruzi* を感染させると、MyD88 欠損細胞で細胞内での *T. cruzi* の数が増え、さらに MyD88/TRIF 二重欠損マウス由来の細胞で、さらにその数が増えていた。このように、MyD88/TRIF 二重欠損マウス由来の自然免疫系細胞は、*T. cruzi* に対する感受性が高くなっていた。そのメカニズムを解析するため、各 genotype の樹状細胞で、*T. cruzi* 感染により誘導されてくる遺伝子を網羅的に解析した。その結果、正常マウス、MyD88 欠損マウス由来の細胞で、IFN- $\beta$  および IFN 誘導性遺伝子の発現が誘導されていたのに対し、TRIF 欠損マウス、MyD88/TRIF 二重欠損マウス由来の細胞では、それらの発現が障害されていた。そこで、IFN- $\beta$  の *T. cruzi* 感受性亢進への関与を解析するため、MyD88 欠損マクロファージに *T. cruzi* を感染させる際、抗 IFN- $\beta$  中和抗体を添加した。そうすると、control 抗体添加群に比べて、中和抗体添加群で、*T. cruzi* の細胞内増殖が有意に増加した。そこで、さらに IFN- $\beta$  の関与を解析するため、IFN- $\beta$  シグナルの消失する MyD88/IFNAR1 二重欠損マウスを作製した。MyD88/IFNAR1 二重欠損マウス由来のマクロファージでは、MyD88 欠損マウス由来の細胞と比べて、*T. cruzi* 感受性が高かった。これらの細胞レベルでの解析結果から、IFN- $\beta$  が *T. cruzi* 感染防御に関与している事が明らかになった。さらに、これらの事実が個体レベルで反映されるかどうかを、実際にマウスの感染モデルで解析した。各 genotype のマウスに *T. cruzi* を腹腔内に感染させ、9,11,13 日後の血中の原虫数をカウントした。その結果、MyD88 欠損マウスでは正常マウスに比べて原虫数が増加していたが、MyD88/TRIF 二重欠損マウス、MyD88/IFNAR1 二重欠損マウスではさらにその数が増加していた。また、感染後23日程度で MyD88 欠損マウスは全例が死亡するが、両二重欠損マウスは19日以内にすべてが死亡した。このように、in vivo 感染モデルにおいても、IFN- $\beta$  の感染防御における重要性が明らかになった。今後、いかなるメカニズムで IFN- $\beta$  が *T. cruzi* 感染防御機構を発揮しているかについて解析をしていきたい。



## 業績目録

### 原著論文

1. Inoue, H., Ogawa, W., Asakawa, A., Okamoto Y., Nishizawa, A., Matsumoto, M., Teshigawara, K., Matsuki, Y., Watanabe, E., Hiramatsu, R., Notohara, K., Katayose, K., Okamura, H., Kahn, C. R., Noda, T., Takeda, K., Akira, S., Inui, A. and Kasuga, M. 2006. Role of hepatic STAT3 in brain insulin action on hepatic glucose production. *Cell Metab.* 3, 267-75.
2. Kinoshita, D., Hirota, F., Kaisho, T., Kasai, M., Izumi, K., Bando, Y., Mouri, Y., Matsushima, A., Niki, S., Han, H., Oshikawa, K., Kuroda, N., Maegawa, M., Irahara, M., Takeda, K., Akira, S. and Matsumoto, M. 2006. Essential role of I $\kappa$ B kinase in thymic organogenesis required for the establishment of self-tolerance. *J. Immunol.* 176, 3995-4002.
3. Santos, L. L., Milenkovski, G. P., Hall, P. H., Leech, M., Sharma, L., Takeda, K., Akira, S., Kitching, A. R., and Morand, E. F. 2006. IL-18 is redundant in T-cell responses and in joint inflammation in antigen-induced arthritis. *Immunol. Cell Biol.* 84, 166-173.
4. Owaki, T., Asakawa, M., Kamiya, S., Takeda, K., Fukai, F., Mizuguchi, J. and Yoshimoto, T. 2006. IL-27 suppresses CD28-mediated IL-2 production through Suppressor of Cytokine Signaling 3. *J. Immunol.* 176, 2773-2780.
5. Kuwata, K., Matsumoto, M., Atarashi, K., Morishita, H., Hirotani, T., Koga, R., and Takeda, K. 2006. I $\kappa$ BNS inhibits induction of a subset of Toll-like receptor-dependent genes and limits inflammation. *Immunity* 24, 41-51.
6. Ogawa, A., Tagawa, T., Nishimura, H., Yajima, T., Abe, T., Arai, T., Taniguchi, M., Takeda, K., Akira, S., Nimura, Y., and Yoshikai, Y. 2006. Toll-like receptors 2 and 4 are differentially involved in Fas-dependent apoptosis in Peyer's patch and liver at an early stage after bile duct ligation in mice. *Gut* 5, 105-113.
7. Bhattacharjee, R. N., Park, K. S., Uematsu, S., Okada, K., Hoshino, K., Takeda, K., Takeuchi, O., Akira, S., Iida, T., and Honda, T. 2005. Escherichia coli verotoxin 1 mediates apoptosis in human HCT116 colon cancer cells by inducing overexpression of the GADD family of genes and S phase arrest. *FEBS Lett.* 79, 6604-6610.
8. Wieland, C. W., Florquin, S., Maris, N. A., Hoebe, K., Beutler, B., Takeda, K., Akira, S., and van der Poll, T. 2005. The MyD88-dependent, but not the MyD88-independent, pathway of TLR4 signaling is important in clearing nontypeable haemophilus influenzae from the mouse lung. *J. Immunol.* 175, 6042-6049.
9. Sato, S., Sanjo, H., Takeda, K., Ninomiya-Tsuji, J., Yamamoto, M., Kawai, T., Matsumoto, K., Takeuchi, O., and Akira,

S.2005.

Essential function for the kinase TAK1 in innate and adaptive immune responses.

Nat. Immunol. 6, 1087-1095.

10. Haga, S., Ogawa, W., Inoue, H., Terui, K., Ogino, T., Igarashi, R., Takeda, K., Akira, S., Enosawa, S., Furukawa, H., Todo, S., and Ozaki, M.2005.  
Compensatory recovery of liver mass by Akt-mediated hepatocellular hypertrophy in liver-specific STAT3-deficient mice.  
J. Hepatol. 43, 799-807.
11. Yukawa, K., Tanaka, T., Owada-Makabe, K., Tsubota, Y., Bai, T., Maeda, M., Takeda, K., Akira, S., and Iso, H.2005.  
Reduced prepulse inhibition of startle in STAT6-deficient mice.  
Int. J. Mol. Med. 16, 673-675.
12. Matsukawa, A., Kudo, S., Maeda, T., Numata, K., Watanabe, H., Takeda, K., Akira, S., and Ito, T.2005.  
Stat3 in resident macrophages as a repressor protein of inflammatory response.  
J. Immunol. 175, 3354-3359.
13. Kato, H., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Uematsu, S., Matsui, K., Tsujimura, T., Takeda, K., Fujita, T., Takeuchi, O., and Akira, S.2005.  
Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response.  
Immunity 23, 19-28.
14. Ohkawara, T., Takeda, H., Nishihira, J., Miyashita, K., Nihiwaki, M., Ishiguro, Y., Takeda, K., Akira, S., Iwanaga, T., Sugiyama, T., and Asaka, M. 2005.  
Macrophage migration inhibitory factor contributes to the development of acute dextran sulphate sodium-induced colitis in Toll-like receptor 4 knockout mice.  
Clin. Exp. Immunol. 141, 412-421.
15. Weiss, D. S., Takeda, K., Akira, S., Zychlinsky, A., and Moreno, E.2005.  
MyD88, but not Toll-like receptors 4 and 2, is required for efficient clearance of *Brucella abortus*.  
Infect. Immun. 73, 5137-5143.
16. Yang, S., Takahashi, N., Yamashita, T., Sato, N., Takahashi, M., Mogi, M., Uematsu, T., Kobayashi, Y., Nakamichi, Y., Takeda, K., Akira, S., Takada, H., Udagawa, N., and Furusawa, K.2005.  
Muramyl dipeptide enhances osteoclast formation induced by lipopolysaccharide, IL-1 $\alpha$ , and TNF- $\alpha$  through nucleotide-binding oligomerization domain 2-mediated signaling in osteoblasts.  
J. Immunol. 175, 1956-1964.
17. Shindou, H., Ishii, S., Yamamoto, M., Takeda, K., Akira, S., and Shimizu, T.2005.  
Priming effect of lipopolysaccharide on acetyl-coenzyme A: lyso-platelet-activating factor acetyltransferase is MyD88 and TRIF independent.  
J. Immunol. 175, 1177-1183.

18. Kitching, A. R., Turner, A. L., Wilson, G. R., Semple, T., Odobasic, D., Timoshanko, J. R., O'sullivan, K. M., Tipping, P. G., Takeda, K., Akira, S., and Holdsworth, S. R. 2005.  
IL-12p40 and IL-18 in crescentic glomerulonephritis: IL-12p40 is the key Th1-defining cytokine chain, whereas IL-18 promotes local inflammation and leukocyte recruitment.  
J. Am. Soc. Nephrol. 16, 2023-2033.
19. Yang, R., Murillo, F. M., Delannoy, M. J., Blosser, R. L., Yutzy, W. H. 4th, Uematsu, S., Takeda, K., Akira, S., Viscidi, R. P., Roden, R. B. 2005.  
B lymphocyte activation by human papillomavirus-like particles directly induces Ig class switch recombination via TLR4-MyD88.  
J. Immunol. 174, 7912-7919.
20. Yang, R., Wheeler, C. M., Chen, X., Uematsu, S., Takeda, K., Akira, S., Pastrana, D. V., Viscidi, R. P., and Roden, R. B. 2005.  
Papillomavirus capsid mutation to escape dendritic cell-dependent innate immunity in cervical cancer.  
J. Virol. 79, 6741-6750.

## 総説

1. 竹田潔. 2005.  
Toll-like receptor と感染防御  
阿蘇シンポジウム記録 2004「感染症を制御する」、77-85.
2. 竹田潔. 2005.  
自然免疫系による病原体認識機構  
腸内フローラと感染・免疫、113-128.
3. 桑田啓貴、竹田潔. 2005.  
TLR と炎症性腸疾患  
炎症と免疫、13, 60-65,
4. 竹田潔. 2005.  
Toll-like receptor から病気をみる  
炎症と免疫、13, 35-36,
5. 竹田潔. 2005.  
Toll-like receptor と自然免疫  
呼吸、24, 3-9.
6. 竹田潔. 2005.  
加齢は易感染要因か？自然免疫の観点から  
ジェロントロジーニューホライズン、17(2), 8-11.
7. 竹田潔. 2005.  
感染防御における Toll-like receptor の役割  
最新医学、60, 86-95.

8. 竹田潔. 2005.  
期待の若手研究者登場  
ジャパン・クリッピング・トゥデイ、34-35.
9. 竹田潔. 2005.  
ノックアウトマウスから学んできたこと  
日本免疫学会会報 13(1), 4.
10. 竹田潔. 2005.  
自然免疫系の分子機構の解明から免疫疾患理解へのアプローチ  
実験医学 23, 1502-1505.
11. 桑田啓貴、竹田潔. 2005.  
自然免疫系による慢性炎症性腸疾患の制御  
実験医学 23, 1538-1541.
12. 竹田潔. 2005.  
腸管における自然免疫と炎症への関与  
BioClinica 20(6), 488-493.
13. 竹田潔. 2005.  
自然免疫による病原体認識機構、その1「自然免疫と Toll-like receptor」  
ヘルシスト、29(2), 18-22.
14. 竹田潔. 2005.  
自然免疫による病原体認識機構、その2「Toll-like receptor を介した自然免疫系の活性化」  
ヘルシスト、29(3), 34-39.
15. 竹田潔. 2005.  
自然免疫による病原体認識機構、その3「自然免疫系と免疫疾患」  
ヘルシスト、29(4), 20-23.
16. 竹田潔. 2005.  
自然免疫による病原体認識機構、その4「アレルギー発症と自然免疫の関係」  
ヘルシスト、29(5), 34-37.
17. 竹田潔. 2005.  
感染防御システムとしての腸管免疫系  
実験医学増刊「ウイルス・細菌感染と免疫応答」、23(17), 174-179.
18. 竹田潔. 2005.  
Toll-like receptor と結核感染  
結核 80(9), 625-627.
19. 竹田潔. 2005.  
自然免疫系細胞による慢性炎症性腸疾患の制御機構  
炎症と免疫 13 (6), 87-92.
20. 竹田潔. 2005.  
Toll-like receptor と炎症性腸疾患  
日本臨床免疫学会誌 28 (5), 309-317.

21. 竹田潔. 2005.  
腸内フローラと Toll-like receptor  
関西実験動物研究会会報, 26, 51-66.
22. 竹田潔. 2006.  
Toll 様レセプター(TLR)を介する自然免疫応答とショックへの関与  
化学療法の領域, 22 (3), 45-51.
23. 財賀大行, 竹田潔. 2006.  
TRAF3-抗ウイルス応答への架け橋  
実験医学, 24 (6), 826-827.
24. 桑田啓貴, 竹田潔. 2006.  
Toll-like receptor を介した自然免疫系制御  
血液・腫瘍科, 52 (4), 440-446.

## 著書

1. Takeda, K., Hemmi, H., and Akira, S.2005.  
Mechanism for recognition of CpG DNA.  
Vaccine Adjuvants 71-87.

## 学会発表

- 1.Kiyoshi Takeda (2005.4.4-6)  
Toll-like receptors and pathogen recognition (Symposium, invited)  
第78回日本細菌学会総会, 東京
- 2.竹田潔 (2005.4.17-18)  
自然免疫とToll-like receptor (特別講演)  
第5回鎌倉カンファレンス, 横浜
- 3.Kiyoshi Takeda (2005.4.21-22)  
Innate immunity and intestinal inflammation  
The 3<sup>rd</sup> retreat for Tokyo Mucosal Patches, Chiba
- 4.竹田潔 (2005.5.12-13)  
Toll-like receptorと結核感染(シンポジウム)  
第80回日本結核病学会, 埼玉
- 5.竹田潔 (2005.5.19)  
自然免疫系の活性制御機構  
東京医科歯科大学大学院講義, 東京

6.Kiyoshi Takeda ( 2005.5-20-25 )

The roles of STATs in inflammatory responses: Lessons from the knockout mouse.

(symposium, invited)

American Thoracic Society 2005, San Diego, USA

7.竹田潔(2005.5.28)

Toll-like receptorと自然免疫制御

第7回多摩アレルギー懇話会、東京

8.竹田潔(2005.6.17)

Toll-like receptorと自然免疫系の活性制御

秋田大学医学部大学院講義、秋田

9.竹田潔(2005.7.1)

自然免疫シグナルの制御機構(ワークショップ、招待講演)

第5回日本蛋白質科学会年会、福岡

10.竹田潔(2005.7.9)

自然免疫系と慢性炎症性腸疾患との関わり

第5回GIRサーチフォーラム、仙台

11.竹田潔(2005.7.14-15)

Toll-like receptorを介した自然免疫系の制御(特別講演)

第45回日本リンパ網内系学会総会、福岡

12.竹田潔(2005.7.24-27)

自然免疫系の作用機構

第8回日本免疫学会サマースクール、千葉

13.竹田潔(2005.8.4-5)

自然免疫系と炎症性腸疾患(シンポジウム、招待講演)

第42回日本消化器免疫学会総会、東京

14.Kiyoshi Takeda, Makoto Matsumoto ( 2005.7.28-30 )

Toll-like receptor-dependent innate immune responses in mycobacterial infection.

US-Japan cooperative medical science program. 40<sup>th</sup> Tuberculosis and Leprosy Research

Conference, Seattle, USA

15.Kiyoshi Takeda ( 2005.9.28-10.2 )

Regulation of Toll-like receptor-mediated gene expression by nuclear I $\kappa$ B proteins

The 6th EMBL Mouse Molecular Genetics Meeting, Heidelberg, Germany

16.Kiyoshi Takeda (2005.12.13-15)

Regulation of innate immune responses against intracellular pathogen infection

(Symposium)

第35回日本免疫学会学術集会、横浜

17.桑田啓貴、竹田潔(2005.12.13-15)

Regulation of Toll-like receptor dependent gene induction by nuclear IκB protein IκBNS

第35回日本免疫学会学術集会、横浜

18.古賀律子、濱野真二郎、松本真琴、久枝一、審良静男、姫野國介、竹田潔(2005.12.13-15)

Involvement of Toll-like receptor-dependent activation of innate immunity in *Trypanosoma cruzi* infection

第35回日本免疫学会学術集会、横浜

19.松本真琴、桑田啓貴、山本雅裕、審良静男、吉開泰信、竹田潔(2005.12.13-15)

The role of Toll-like receptor signaling in mycobacterial infection

第35回日本免疫学会学術集会、横浜

20.竹田潔(2005.12.16)

自然免疫による原虫感染の制御

第37回九州微生物研究会総会、福岡

21.竹田潔(2005.12.17)

自然免疫系の活性制御機構

第12回外科侵襲とサイトカイン研究会、東京

22.竹田潔(2006.3.9)

IκBNSによる自然免疫系の活性制御と消化管炎症(シンポジウム、招待講演)

第79回日本薬理学会年会、横浜

23.竹田潔(2006.3.21)

脊椎動物の自然免疫系の活性制御機構(シンポジウム、招待講演)

第141回日本獣医学会学術集会、つくば

24.竹田潔(2006.3.29)

細胞内寄生菌に対する宿主自然免疫応答の分子機構(シンポジウム、招待講演)

第79回日本細菌学会総会、金沢