

## [0015]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2000年

<https://doi.org/10.15017/6246>

---

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 15, 2001-09. 九州大学生体防御医学研究所  
バージョン :  
権利関係 :

## 感染防御学部門

### Department of Molecular Immunology

当部門では、ヒト及び動物における免疫系の分化および免疫応答の機構を、分子レベル及び細胞レベルさらには個体レベルで解析することにより、免疫細胞の分化および免疫反応の制御機構を解明することを目指している。さらにその破綻の結果生じる感染症、免疫病の解明と治療法の確立を目指す。すなわち、免疫系の発分化、免疫応答機構の解明と、その異常によって生ずるアレルギー病、自己免疫病、免疫不全症の解明を、免疫学的、分子生物学的、発生工学的的手法を駆使して行っている。さらにこれらの疾病の治療法の開発に向けての研究を行っている。また、癌の免疫療法についても新たな視点から研究を推進しており、特に免疫監視機構からの癌の逸脱（Escape）機構に関わる我々が見い出した新しい分子、RCAS1、の機能の解明に向けて鋭意研究を行っている。免疫細胞の増殖、分化、細胞死の制御機構に関与する分子、遺伝子の同定および機能解析を通してその制御機構の解明を行っている。2000年（平成12年）度は昨年に引き続き、(1) B細胞抗原受容体からシグナル伝達機構と遺伝子発現制御およびその異常によって発症する自己免疫病の解析にむけての研究、(2) プレB細胞受容体およびB細胞抗原受容体からのシグナル伝達機構の解析、(3) 免疫細胞初期分化の制御の分子機構、(4) 当部門で見いだされた新しいフォルミン関連遺伝子、Frl 遺伝子産物 FRL の免疫細胞活性化における機能の解析、(5) ヒスタミンH1およびH2受容体遺伝子欠損マウスの作製とその異常の解析、(6) 癌抗原の分子生物学的遺伝子学的研究および癌の免疫監視機構からの逸脱に関わる分子、RCAS1 の解明、(7) 遺伝子標的法（ジーンターゲティング）等の発生工学的手法の免疫学研究への応用、(8) B細胞死の制御に関与する分子の同定とその関連分子の機能の解析、等を主な研究テーマとして研究を進めた。

2000年（平成12年）における主な人事異動は次のとおりである。平成12年3月には、末松佐知子さんが留学先の米国から新たに、助手として赴任した。助手の谷内一郎君は休職による留学期間が3年を越えるため、退職し、引き続き、ニューヨーク大学医学部のダン・リットマン教授の研究室で研究に従事している。大学院生では、平成12年3月に、山本真理さん、大屋和之君、相川義勝君、越智博文君の4名が大学院を修了した。このうち相川義勝君は、平成11年9月に早期修了にて学位を取得し、同年9月から理研のポスドクトラルフェローとして赴任していたが、本年9月から米国ウイスコンシン大学に留学した。越智博文君は平成12年3月に学位取得の上、大学院を修了した。山本真理さん、大屋和之君の両名は現在学位を申請中である。山本真理さんは米国に赴任している。また、大屋和之君は臨床（下関市民病院）にもどり当部門では研究生となった。研究生であった小林隆志君は本年8月より、ロックフェラー研究所に留学した。勝田 仁君は非常勤研究員（ポスドク）として平成10年4月より当部門で引き続き研究を行っていたが、平成12年3月をもって終了した。渡辺裕美さんが学

位取得の上大学院を修了し、平成12年2月より助手になったが、本年8月から、米国ヒューストン市MDアンダーソン研究所に留学した。平成9年度からのナスリン・バヌーさん、平成10年度からの久原尚子さんは大学院生として研究を続けている。また平成11年4月から前沢 浩君、平成11年5月にMD-PhDコースの学生として入学してきた老耄英毅君が大学院生として研究を続けている。大学院生の石川文彦君は引き続き米国サウスカロライナ大学に留学中である。昨年から引き続き第一内科研究生である小河一彦君、酒井由美子さんが研究を続けている。助手の中島学君、研究補助員の古賀律子さんは引き続き研究を行っている。

#### A. B細胞の分化と選択に関するシグナル伝達機構の解析

##### a. B細胞表面抗原受容体(BCR)からのシグナル異常と自己免疫病

B細胞表面抗原受容体(BCR)を抗原で刺激すると速やかに、受容体と会合するLyn, Fyn, Blk, 等のSrc型のチロシンキナーゼ及びSyk/ZAP70チロシンキナーゼあるいはBtkキナーゼが活性化され、さらに多くの細胞内蛋白がチロシンリン酸化される。これらの分子が抗原刺激後の反応を誘導する初期シグナルとして中心的な役割を担っている。これらのシグナルはB細胞の分化、活性化、増殖あるいはアポトーシスを誘導に重要な役割を演じている。シグナルには、B細胞の活性化に対して正の制御に関わるものと負の制御に関わるものがある。我々は、Lynチロシンキナーゼ欠損マウスを遺伝子標的法を用いて確立し、これまでにLyn欠損マウスでは、各種クラスの血清Ig(特にIgM)は高値を示し、過令を経るにつれ、脾臓及びリンパ節の腫大が認められること、組織学的検索により、脾臓では形質細胞様のリンパ芽球化細胞の増殖が認められ、これが血清Ig高値、脾腫大の原因と考えられること、さらに自己抗体である抗DNA抗体の産生が観察され、自己免疫病変である糸球体腎炎も認められたことを報告してきた。この様に、Lyn欠損マウスでは、B細胞が正常に分化増殖せず、何らかの原因により形質細胞様のリンパ芽球化細胞が大量に蓄積することが、自己免疫病変を呈する原因の一つと考えられた。また、Lyn欠損マウスで見られる糸球体腎炎は、ヒトの自己免疫病であるSLEで見られる糸球体腎炎と組織学上類似している。Lyn欠損マウスのリンパ組織にはB1細胞様の細胞が増えてくる。また、Lyn欠損マウスとBtk異常をもつxidマウスを掛け合わせ、Lynキナーゼ、Btkキナーゼの両方を欠損するマウスを作成した。このようなマウスでは末梢の成熟B細胞数の減少と血清IgMの減少が見られるが、B1細胞の出現、脾腫大および自己免疫病変は全く消失する。この結果から、LynキナーゼはB2細胞のみならず、B1細胞の活性化にも重要な制御をしていることが示唆された。我々はB1細胞の一部にNK細胞上に発現されるLy49受容体の発現を見出した。このLy49受容体もLynキナーゼなどのチロシンキナーゼにより、そのITIMモチーフがリン酸化を受けるとそこにSHP-1がリクルートし負の制御を行う可能性が示唆された。このように、自己抗体産生に深く関わるB1細胞では、CD22, CD5, FcγRIIB, PIR-BあるいはLy49など種々の負の制御機構が存在することが分かった。Lyn欠損マウスの異常は、Lynキナーゼに

よる B 1 細胞上の CD 5 分子、Ly 4 9 分子、CD22 受容体の ITIM モチーフのチロシンリン酸化と SH2 フォスファターゼ、SHP1 のリクルートメントが障害されたためであることを報告し、Lyn キナーゼが BCR からのシグナル伝達系に対する負の制御において重要な役割をしていることを初めて示した。

#### b. BCR からのシグナルと未熟 B 細胞のアポトーシス

マウス B 細胞株 WEHI-231 を抗 IgM 抗体で架橋すると 24 時間以降にアポトーシスに陥る。この場合、カスパーゼの活性化と DNA の切断が誘導及び細胞膜透過性の亢進を引き起こす。カスパーゼ阻害剤 Z-VAD は核の分画化、DNA 切断を完全に阻止するが、細胞膜透過性の亢進は阻止しない。マウス未熟 B 細胞株である WEHI-231 細胞では BCR 刺激後、膜透過性の亢進に先立って、ミトコンドリア膜電位の変化および活性酸素の増加が生ずることを見出した。即ち、BCR からの Death signal はまずミトコンドリアに伝達され、その後にカスパーゼの活性化と DNA 切断及び膜透過性の亢進が生ずると考えられた。即ち、自己反応性未熟 B 細胞では、抗原受容体からのシグナルはまずミトコンドリアを標的にして伝達され、その後にアポトーシス及びネクローシスの反応が引き起こされると考えられた。この系にタンパク合成阻害剤クロヘキシミドを加えておくと、ミトコンドリア膜電位の変化および活性酸素の増加は完全に抑制された。抗原受容体からのシグナルによる新たな蛋白の合成が、抗 IgM 抗体の架橋によるアポトーシス誘導には必要であることがわかった。どのような新規タンパクがミトコンドリアをアタックするのかについて現在研究を行っている。そこで短時間抗 IgM 抗体で架橋して刺激した WEHI-231 細胞から cDNA library を作製し、ミトコンドリアを標的にしてアタックする新規のタンパク分子の探索を行い、5 種類以上の新規候補タンパクを同定単離した。

#### c. プレ B 細胞受容体からのシグナルと B 細胞初期分化

プレ B 細胞受容体は免疫グロブリン膜型重鎖と代替軽鎖の複合体が Igα/b ヘテロダイマーと会合した構造を持つ。B 細胞分化初期においてはそのシグナル伝達は Igβ が重要な役割を担っていることが示されている。我々は、プレ B 細胞期に Igβ と会合し、プレ B 細胞受容体からのシグナル伝達に関与すると考えられる新たな分子である「IBAP-1」の同定した。本年もその分子の機能の解析を試みた。マウスプレ B 細胞株 (1xN2B) の cDNA ライブラリーからイースト two-hybrid 法により Igβ との結合活性が高い IBAP-1 の cDNA は 6 5 3 アミノ酸残基をコードし、その N 末端にはプロリンに富むモチーフが存在し、これは Wicott-Aldrich 症候群タンパクの SH3 ドメインに結合すると考えられている領域と高い相同性を有する。また、N 末には PH ドメインと思われる領域が存在する。IBAP-1 タンパクの分子量は約 8 0 kDa であった。イースト two-hybrid 法では、Igβ の C 末端と IBAP-1 タンパクのチロシン、グリシンを多く含む領域とが会合することがわかった。本年も B 細胞における Igβ 分子との会合、B 細胞内での局在、その機能につい

て解析中であるが未だ明確な結論は得られていない。

一方、マウスプレB細胞をプレB細胞受容体の架橋により刺激すると、36kDaのタンパクがチロシンリン酸化を受けることを見出した。教室の大屋は、種々の抗体を用いたウエスタンブロットにより、このタンパクがLAT分子である可能性が示した。LAT分子はT細胞にのみ発現されるシグナル伝達のアダプター分子として重要であることは、この分子を欠損させたマウスではT細胞分化の障害、T細胞活性化の低下を示すことから明らかである。この分子がプロB細胞、プレB細胞でも発現されていることを見出された。しかし、未熟B細胞以降の成熟B細胞では全く発現されていない。しかもプレB細胞受容体を刺激すると、LATタンパクの発現は逆に抑制される。すなわち、プレB細胞受容体からのシグナルはLATの発現に対して負の制御を行う。このような幼若B細胞におけるLAT分子の機能とその発現およびプレB細胞受容体シグナルによる発現抑制の意味について研究するために、Ig heavy chain エンハンサーにLAT cDNAを結合させて、LAT分子をB細胞で発現させたトランスジェニックマウスを作製した。このトランスジェニックマウスの末梢血を調べたところ、B細胞数が著明に減少していた。リンパ節におけるB細胞数も著しく減少していた。しかし、T細胞数には変化は見られず、胸腺も正常であった。骨髄細胞では、未熟B細胞の減少が著明であったが、プレB細胞数はやや増加していた。残っている末梢のB細胞を、抗IgM抗体、LPSで刺激するとその反応は正常であった。異常の結果は、マウスのプロB、プレB細胞に発現しているLAT分子はB細胞初期分化の負の制御分子として働いている可能性が示唆された。

## B. リンパ組織特異的 Formin 関連タンパク FRL のマクロファージにおける機能

B細胞抗原受容体からのシグナル伝達に関与する分子の探索中にマウス Formin 関連遺伝子 Frl (Formin related gene in lymphocytes)を単離した。マウス Frl (Formin related gene in lymphocytes)は、リンパ組織に発現が認められた最初の Formin family 遺伝子である。FRLは proline rich domain (Formin homology 1:FH1)と、Formin family で保存されているFH2領域を有している。FH1領域のさらにN末側はFH3領域と呼び、Formin family の一つである yeast BNI1 蛋白と相同性を有する。FH1、FH2、FH3以外の領域では他の Formin family とは殆ど相同性を有しない。マウス組織由来のRNAを用いたノーザンブロットでは、胸腺、脾臓、腎臓、大脳に発現を認める。細胞株を用いたノーザンブロットでは、マクロファージ系の細胞株で強い発現が認められた。ウエスタンブロット解析では、Frl タンパクは脾臓、胸腺、骨髄、リンパ節などリンパ組織に限定して検出された。FRL タンパクは細胞質に存在する。マウス Frl genome 遺伝子は20Kb以上の大きさであり、少なくとも21個以上の exon より構成されていた。また、マウス chromosomal mapping では、Frl 遺伝子は11番染色体の遠位部に存在し、リンパ節形成不全マウスの原因とされる aly 遺伝子座の隣に位置することが分かった。

Formin 遺伝子ファミリーは、細胞の極性や cytokineses、発生、分化に関わる事が示唆されている。FRL

蛋白は、FH1 や FH2 領域以外では、drosophila の diaphanous、及びその mammalian homolog である p140mDia yeast の BN1 と相同性を示すが、これらの diaphanous タンパク質群は、N端で small G protein である Rho と結合し、FH1 では、actin binding protein である profilin と結合する事によって、細胞骨格の再構成に関与している。FRL 蛋白は、Rcas1 と会合し、その部位はN末に位置すると考えられた。マクロファージ系の細胞株に、FH3のみを含む truncate form(ドミナント・ネガティブフォーム)を発現させた inducible transformant では、アポトーシス、接着・遊走能の低下が観察されたが、他のドメインを欠く truncate form では、変化は観察されなかった。以上のことより、FRL 蛋白は、マクロファージにおいては、Rac1 と会合して、その細胞骨格の再構築、細胞の生存に関わるシグナルを伝えていると考えられた。

C. ヒスタミン H1, H2 受容体遺伝子欠損マウスの作製とこれらの受容体シグナルの、脳中枢での役割、免疫反応、アレルギー反応、胃の構造と機能における役割について。

ヒスタミン H1 受容体および H2 受容体は 7 回膜貫通部位を持ち、三量体型 G-タンパクが共役している受容体である。H1 受容体には特に Ga タンパクとして Gαq サブファミリーが会合していることが報告されている。一方、H2 受容体には Gas が会合している。ヒスタミン H1 受容体は、平滑筋、心臓その他多くの組織で発現されており、さらに脳中枢にはヒスタミンニューロンが存在し、覚醒、睡眠、食欲、日内リズムなどの制御に関与していることが示唆されている。我々はこれまでに、ヒスタミン H1 受容体欠損マウスにおいて日内リズムの異常、行動の異常について報告してきた。一方、ヒスタミン H2 受容体は、胃および脳中枢に発現している。我々の研究室では、ヒスタミン H1 受容体につづいて、H2 受容体遺伝子ノックアウトマウスを作製しその機能について解析を続けている。

1) H2 受容体遺伝子ノックアウトマウスにおける胃の異常について。メネトリエル病との関連。ヒスタミン H2 受容体は胃粘膜細胞、特に壁細胞に多く発現されており、従来より胃酸分泌の促進制御に重要であることが知られている。そこで、H2 受容体遺伝子ノックアウトマウスにおける胃の変化について調べた。予想に反して、ノックアウトマウスの胃酸度は正常であった。しかし、H2 受容体アンタゴニストには全く反応しなかった。一方、H2 受容体遺伝子ノックアウトマウスでは、胃壁が異常に厚くなり、趨壁は巨大になり、胃の hypertrophy が著明となった。また、その壁細胞の構造は異常であった。これらの結果から、H2 受容体からのシグナルは、胃酸分泌の制御のみならず、胃壁細胞、ECL 細胞の増殖、構造維持に重要な機能を有していることが初めて明らかになった。6 ヶ月から一年ぐらいになると、H2 受容体遺伝子ノックアウトマウスの胃はさらに巨大となり、胃壁構造は異常となる。さらに血清アルブミン値が低下してくる。これは、ヒトの病気、メネトリエル病に酷似している。

2) 我々は、以前から、アレルギー反応の分子機序および活性アミンの免疫反応への影響を調べる目的で、ヒスタミン受容体欠損マウスの作成とその解析を行ってきた。そこでこのような

個体における免疫能および即時型アレルギー反応について解析した。ヒスタミン H1 受容体欠損マウスの T 細胞あるいは B 細胞をそれぞれ、抗 CD3e 抗体あるいは抗 IgM 抗体で架橋して細胞増殖を誘導させると、wild マウスのそれに比べて細胞増殖反応の低下が見られた。そのような増殖反応の低下はマイトゲンや種々のサイトカイン (IL2, IL4, IL7) や CD40L などの刺激では見られず、抗原受容体からの情報伝達に特異的であった。さらに正常脾細胞よりマスト細胞を除去した後に、抗 CD3e 又は抗 IgM で刺激して生ずる細胞増殖反応はヒスタミンの添加により増強された。H1R 欠損マウスの脾細胞ではそのような増強作用は見られなかった。以上の結果は、三量体型 G-タンパクからのシグナルが抗原受容体からのシグナル伝達に対して正の制御を行っていることを示唆している。さらに、リンパ球上のヒスタミン H1 受容体はその活性化に重要な制御機能を有していることがわかった。特に、Th1 細胞の活性化には正の制御を、Th2 細胞の活性化には負の制御をしていることが明らかとなった。一方、ヒスタミン H2 受容体もまた、免疫細胞上に発現されており、Th1 細胞の活性化には負の制御を行っていることが示され、H1 受容体と H2 受容体が免疫細胞の活性化に対して拮抗的に働いていることがわかった。また、本研究は三量体型 G-タンパクからのシグナルが抗原受容体からの免疫反応に重要な制御機構を発揮していることを初めて証明したものである。

3) 即時型アレルギー反応について調べた。H1R 欠損マウスでは、IgE が引き金となる即時型アレルギー反応は殆ど完全に消失する。一方、ヒスタミン H2 受容体欠損マウスでは即時型アレルギー反応は正常であった。以上の結果から、アレルギー特異的な IgE 抗体を介するヒスタミンによるアレルギー反応はヒスタミン H1 受容体を介して起こることが明快に示された。

#### D. 癌関連抗原 RCAS-1 の機能の解析と 22-1-1 抗体による癌診断

我々が作製したモノクローナル抗体「22-1-1」が認識する癌関連抗原は、その発現が癌細胞に比較的特異的であること、癌の進展とその発現がパラレルであること、子宮癌、大腸癌、肺癌などでの臨床における 5-10 年の経過観察から、RCAS1 陽性の癌ではその予後が陰性の場合に比べて悪いこと等がわかってきた。すなわち、「22-1-1」抗体が認識する抗原の発現は癌の進展、悪性度と強い相関関係がある。免疫組織染色法にて 22-1-1 抗原は子宮頸部腺癌以外にも子宮頸部扁平上皮癌、卵巣癌、胃癌、大腸癌、乳癌、食道癌、膵臓癌、皮膚癌等にも高率 (70-90% 陽性率) に発現しており、正常組織では胃腺上皮細胞の細胞内のみが僅かに染色されるのみであった。このように 22-1-1 抗原は広く癌組織に発現している。さらに腫瘍細胞の進達度とその発現の強さが関連していること、本抗原の発現と生存率の関係において抗原陽性例が抗原陰性例と比べて有意に低いこと、さらに臨床的に癌細胞と識別が困難な異形成細胞においてはその発現が認められない点において、この抗原が癌関連抗原分子として非常に興味を持たれる。従って、22-1-1 抗体は新しい腫瘍マーカーとして、癌の免疫学的診断、経過観察、治療等において非常に有用である

この新しい癌関連抗原分子の機能の解析を目的として、22-1-1抗体が認識する抗原分子をコードする遺伝子を単離し、その蛋白構造および生物学的活性について検討している。単離されたcDNAの一つは、213個のアミノ酸より成る23-24kDaのコア蛋白分子(RCAS-1)をコードしていた。報告した時点でのBLASTによる検索にて未知の分子であり、アミノ酸配列の検討において、N末端側に膜貫通部(N-terminal transmembran segment)、C末端側にcoiled-coil構造が存在するII型膜蛋白であることが示唆された。Cos7細胞にて発現させると、40kDaの分子量をもつ膜タンパクとして同定された。この分子の生物学的な機能解析の為にGST融合蛋白発現システムを用いて、N末端にGSTを融合させた全抗原分子(GST-RCAS-1)を精製した。SDS PAGEによる解析にて、GST-RCAS-1分子はすくなくともhomo-trimer以上の複合体を形成していることが示唆された。さらに、各種ヒト培養細胞株をもちいて22-1-1抗体およびGST-RCAS-1にて染色性を検討したところ、一方にのみ染色性が認められた。以上よりRCAS-1分子に結合する細胞表面分子(受容体)の存在が確認された。さらに、正常ヒトリンパ球においても一部の細胞に受容体の存在が確認された。また、結合分子陽性細胞の一つであるK562細胞をGST-RCAS-1とともに培養したところ、細胞死が誘導された。このように、癌細胞に特異的に強く発現している抗原分子であるRCAS-1は、その受容体分子を発現しているリンパ球系細胞に細胞死を誘導すること事が示された。このことは、癌細胞の免疫系細胞からの逸脱においてRCAS-1抗原が重要な作用を担っている可能性を示唆している。現在、この細胞死誘導機構の解明を目的として、受容体遺伝子の単離を試みている。

さらに、最近、マウスのRCAS1 cDNAの単離にも成功した。マウスRCAS1 cDNAをプローブとしてノーザンブロットを行ったところ、胎生初期(7-8日)に強い発現が見られることがわかった。マウスの系を用いてRCAS1の発生分化における役割についても検討を加える予定である。また、ジーンターゲットングのために、マウスゲノム遺伝子の単離も行い、ターゲットングベクターの構築を行っている。

RCAS1 タンパクの添加により、受容体陽性細胞では、細胞周期の停止が誘導される。ヒト末梢血Tリンパ球を活性化して細胞増殖を誘導しこれにRCAS1 タンパクを添加すると、細胞増殖は早期に停止する。この時、cyclin D3量が3-6時間以内に、9時間以内にPCNAの量的な著明な減少が見られる。さらに、12時間後には、高リン酸化Rb蛋白の量的減少が認められた。しかし、cyclin B, cyclin E, cdk2, cdk4, p16 (ink4a), p21 (Cip1/Waf1), p27 (Kip1), p57 (Kip2)などは全く変化しない。このcyclin D3および高リン酸化Rb蛋白の減少がRCAS1による細胞周期停止機構に深く関わっていることが示唆された。現在、受容体の遺伝子の単離、cyclin D3および高リン酸化Rb蛋白の減少を誘導するシグナル伝達系の解明を行っている。

また、造血系細胞におけるRCAS1受容体の発現について第三内科の牟田、松島らとの共同研究をおこなった。ヒト末梢血から、造血系幹細胞を分離し、種々のサイトカインを添加すると赤芽球系細胞に分化する。さらに培養を続けると赤血球が生成される。この系において、RCAS1

receptor の発現を検討したところ、分化初期の赤芽球細胞では、90%以上の細胞で RCAS1 receptor の発現がみられた。しかし、赤血球へと分化するに従って、RCAS1 receptor 陽性細胞は減少しつつには消失する。この RCAS1 receptor 陽性赤芽球細胞に RCAS1 を添加すると強いアポトーシスが誘導された。また、マクロファージに多くの RCAS1 receptor 陽性赤芽球細胞がロゼットを形成している像が観察された。活性化マクロファージでは、膜上に RCAS1 抗原が発現されることを観察していることと考えあわせると、RCAS1-RCAS1 receptor interaction は、赤芽球の分化、特に大量の赤芽球細胞の細胞死と脱核による赤血球の生成の過程で重要な役割を演じていることが推察された。今後は、RCAS1 およびその受容体の生理学的役割についても研究を推進していく予定である。

## 業績目録

### 原著論文

1. D. Marguet, L. Baggio, T. Kobayashi, A.-M. Bernard, M. Pierres, P. Nielsen, U. Ribel, T. Watanabe, D. J. Drucker, and N. Wagtman. 2000.  
Enhanced insulin secretion and improved glucose tolerance in mice lacking CD26.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:6874-6879.
2. T. Kobayashi, S. Tonai, Y. Ishihara, R. Koga, S. Okabe and T. Watanabe. 2000.  
Abnormal functional and morphological regulation of the gastric mucosa in histamine H2 receptor-deficient mice.  
J. Clin. Invest., 105:1741-1749.
3. T. Iwasaki, M. Nakashima, T. Watanabe, S. Yamamoto, Y. Inoue, H. Yamanaka, atsumura, K. Iuchi, T. Mori, M. Okada. 2000.  
The expression of human tumor-associated antigen RCAS1 and the prognostic A.Msignificance in lung cancer.  
Intern. J. Cancer. 89: 488-493.
4. S. Yayoshi-Yamamoto, I. Taniuchi and T. Watanabe. 2000.  
FRL, a novel member of Formin-related proteins, that binds to Rac and regulates cell motility and survival of macrophages.  
Molecular Cellular Biology 20:6872-6881.
5. H. Ochi and T. Watanabe. 2000.  
Negative regulation of BCR-mediated signaling in B-1 cells through CD5 and Ly49 coreceptors via Lyn kinase activity.

- Intern. Immunol. 12: 1417-1423.
6. S.Kondo, I.Iwata, K.Anzai, T.Akashi, S.Wakana, K.Ohkubo, J.Ono, T.Watanabe, Y.Niho, S.Nagafuchi. 2000.  
Suppression of insulinitis and diabetes in B cell-deficient mice treated with streptozocin: b cells are essential for the T cell receptor clonotype spreading of islet-infiltrating T cells.  
Intern. Immunol. 12:1075-1083.
  7. K. Sonoda, T. Kaku, T. Hirakawa, H. Kobayashi, S. Amada, K. Sakai, M. Nakashima, T. Watanabe, H. Nakano. 2000.  
The clinical significance of tumor-associated antigen RCAS1 expression in the normal, hyperplastic, and malignant uterine endometrium.  
Gynecologic Oncology, 79: 424-429.
  8. H. Nakahara, K.Izushi, Y.Sugimoto, T.Watanabe, C.Kamei. 2000.  
Vascular permeability in allergic conjunctivitis in mice lacking histamine H1 receptors.  
Eur. J. Pharmacol. 409:313-317.
  9. M. Izumizaki, M.Iwase, H.Kimura, K.Yanai, T.Watanabe, T.Watanabe and I. Homma. 2000.  
Lack of temperature-induced polypnea in histamine H1 receptor-deficient mice.  
Neuroscience Letters. 284:139-142 ,
  10. J.I.Mobarakeh, S.Sakurada, S.Katsuyama, M.Kutsuwa, A.Kuramasu, Z.Y.Lin, T.Watanabe, Y.Hashimoto, T.Watanabe ,K.Yanai. 2000.  
Role of histamine H1 receptorin pain perception: a study of the receptor gene knockout mice.  
Eur.J. Pharmacology. 391: 81-89.
  11. T. Watanabe, T.Kobayashi, S.Tonai, Y.Ishihara, R.Koga and S.Okabe. 2000.  
Functional and morphological abnormality of gastric mucosa in histamine H2 receptor (H2R)-deficient mice. In “ International Sendai Histamine Symposium ” Ed. K. Yanai. (Elsevier) .
  12. M.Nakashima, K.Sonoda and T.Watanabe. 1999.  
Inhibition of cell growth and induction of apoptotic cell death by a novel human tumor associated antigen, RCAS1.  
Nature Medicine. 5: 938-942.
  13. Y.Aikawa, A.Kuraoka, H.Kondo, M.Kawabuchi and T.Watanabe. 1999.  
Involvement of PITPnm, a mammalian homologue of Drosophila rdgB, in phosphoinositide synthesis on Golgi membranes.  
J. Biol. Chem. 274:20569-20577.
  14. N.Motoyama, T.Kimura, T.Takahashi, T.Watanabe, T.Nakano. 1999.

- Bcl-x prevents apoptotic cell death of both primitive and definitive erythrocytes at the end of maturation  
 J. Exp. Med. 189: 1691-1698.
15. Y.Nagata, F.Kiefer, T.Watanabe, and K.Todokoro. 1999  
 Activation of hematopoietic progenitor kinase-1 by erythropoietin.  
 Blood 93:3347-3354.
  16. Y.Banu and T. Watanabe\_1999  
 Augumentation of antigen receptor-mediated responses by histamine H1 receptor signaling.  
 J. Exp. Med. 189: 673-682.
  17. K.Morohashi, H.Tsuboi-Asai, S.Matsushita, M.Suda, M.Nakashima, H.Sasano, Y.Hatada, C-L Li, J.Fukuda, J.Irie, T.Watanabe, H.Nagura, E.Li.,1999  
 Structral and functional abnormalities in the spleen of *mFtz-FI* gene disrupted mouse.  
 Blood 93: 1586-1594.
  18. T.Do, N.Motoyama, A.Tokunaga and T.Watanabe. 1999  
 The death signals from B cell antigen receptor target mitochondria, activating necrotic and apoptotic death cascades in a murine B-cell line, WEHI-231.  
 Intern. Immunol. 11:933-941.
  19. S.Nagafuchi, H.Katsuta, K.Kogawa, T.Akashi, S.Kondo, Y.Sakai, T.Tsukiyama, D.Kitamura, Y.Niho and T.Watanabe. 1999  
 Establishment of an embryonic stem (ES) cell line derived from a non-obese diabetic (NOD) mouse: in vivo differentiation into lymphocytes and potential for germ line transmission.  
 FEBS Letters 455: 101-104.
  20. T.Kaku, K.Sonoda, T.Kamura, T.Hirakawa, K.Sakai, S.Amada, S.Ogawa, H.Kobayashi, M.Nakashima, T.Watanabe, H.Nakano. 1999  
 The prognostic significance of tumor-associated antigen 22-1-1 expression in adenocarcinoma of the uterine cervix.  
 Clinical Cancer Res. 5:1449-1453.

## レビユー

1. P. D. Burrows, S. Suematsu and T. Watanabe. 2000.  
 Activation of self-reactive B cells and autoimmune diseases.  
 Reviews in Immunogenetics. 2:38-51.
2. J.Wang and T.Watanabe. 1999  
 Expression and function of Fas during differentiation and activation of B cells (Review).

International Review of Immunology, 18: 367-379.