

## [0019]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2004年

<https://doi.org/10.15017/6247>

---

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 19, 2005-07. 九州大学生体防御医学研究所  
バージョン :  
権利関係 :



## 感染制御学分野

### Division of Host Defense

本来、免疫系は病原微生物から宿主を防御する生体防御機構として存在しており、その進化の歴史は感染症の脅威によってつくられてきたといえる。したがって、細菌、寄生虫やウイルスなどの病原微生物の侵入に対する感染防御機構を明らかにすることが、免疫機構の分子基盤の解明につながる。当研究分野では免疫系を感染防御機構ととらえ、それを構成する複雑な要素を解析することによって、免疫機構の分子基盤を整理、再構築し、免疫制御による難治性疾患(感染症、癌、アレルギー、自己免疫疾患、移植拒絶)の先端的治療法の開発をめざしている。生体防御機構を食細胞による自然免疫、 $\gamma\delta$ 型T細胞などの原始的リンパ球による早期誘導免疫、さらにリンパ球による適応免疫に分類し、以下のテーマで研究をすすめている。

- (1) 自然免疫: Toll like receptor と感染防御
- (2) 早期誘導免疫:  $\gamma\delta$ 型T細胞, NKT細胞, 粘膜系T細胞の機能の解析
- (3) 適応免疫: メモリーT細胞の産生, 維持の分子機構

人事面では平成16年4月1日から、老初英毅、隈部志野(大学院医学系学府博士課程)、増田徳子(大学院医学系学府医学修士課程)が参加した。10月1日より俞慶声が研究生(国費留学生)として参加した。平成17年3月、臨床系の田川哲三(消化器・総合外科学)が短期修了で学位を取得した。小川敦司(名古屋大学大学院医学系学科)、青井典明(島根大学大学院耳鼻咽喉科学)が特別研究生、水淵裕之が共同研究生を修了した。西村仁志助教授が平成17年3月10日退職した。

#### A. 自然免疫: Toll-like receptor と感染防御

Toll は初めショウジョウバエで見つけられた膜貫通性蛋白であるが、その後、植物から哺乳類に至る多くの種で保存され、生体の感染防御に重要な働きを果たしていることが分かってきた。哺乳動物の Toll-like receptors (TLRs)は現在まで 11 種類の報告されて、それぞれの TLR がいろいろな細菌の構成成分をパターン認識することによって、細胞内にシグナルを伝達して感染防御に重要な種々のサイトカインやアクサリー分子を誘導させることが明らかになりつつある。(J Clin Invest. 114:857-66. 2004)。酢酸菌由来の 1-4 グルカンが TLR4 を介して IL-12 産生を誘導し、経口投与によって *Listeria monocytogenes* に対する感染防御能を増強し(Infect. Immun. 72:7005-7011. 2004)、さらにメラノーマに対する抗腫瘍防御効果を示した(Int. J. Cancer 11: 769-776 2005)。

#### B. 早期誘導免疫: $\gamma\delta$ T細胞の機能の解析

C57BL/6 マウスに *Escherichia coli* (ATCC26)  $1 \times 10^8$  CFU を腹腔内に感染させると、単一の V $\gamma$ 6/V $\delta$ 1TCR 陽性 T細胞が感染 2 日目から著しく増加した。V $\delta$ 1 遺伝子欠損(KO)マウスは、野生型マウスに比べて感染後 2 日以降の腹腔内への  $\gamma\delta$ 型 T細胞の増加がほとんど認められず、感染後 3 日目における腹腔内の菌の排除が悪かった。感染 1 日目の好中球の浸潤には差が認められなかったが、感染 3 日目のマクロファージの浸潤が V $\delta$ 1KO マウスにおいて有意に低下していた。野生型マウスの感染で増加する  $\gamma\delta$ 型 T細胞を抗 TCR 抗体で刺激すると、IFN- $\gamma$ に加えて

CCL3/MIP-1 $\alpha$ および CCL5/RANTES の産生が見られた。一方, V $\delta$ 1KO マウスではこれらのサイトカインの産生は認められなかった。in vivo において MIP-1 $\alpha$ を中和するとマクロファージの減少および菌の排除能の低下が認められた。非病原性大腸菌に対する感染防御には感染数時間後に浸潤する好中球と3日目までのマクロファージによる自然免疫が重要な役割を担う。今回の結果から, 大腸菌感染による好中球浸潤後出現する V $\delta$ 1 陽性 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は CC ケモカインを産生することによりマクロファージを集積させるということが明らかとなった。胎生早期に発生して子宮や舌の粘膜に多く存在する V $\gamma$ 6/V $\delta$ 1 T 細胞は, 自然免疫における好中球からマクロファージへの橋渡しの役割を果たすと考えられる。(J. Immunol. 173:5156-5164, 2004)

子宮や膈の粘膜に多く存在する V $\gamma$ 6/V $\delta$ 1 T 細胞の単純ヘルペス 2 型(HSV-2 : 186 株)の膈感染症における役割を C 1 および V 1 遺伝子ノックアウトマウスを用いて解析した。C57BL/6 マウスの HSV-2 感染 3 日目に V $\gamma$ 6/V $\delta$ 1 T 細胞の増加が子宮 / 膈粘膜上皮に認められた。C 1 および V 1 遺伝子ノックアウトマウスでは生存率の低下とウィルスの増加がみられ, 感染防御が低下していることがわかった。T 細胞欠損マウスでは脾臓での HSV-2 に対する CD4TH 1 応答が有意に低下していた。胎生早期に発生して子宮や舌の粘膜に多く存在する V $\gamma$ 6/V $\delta$ 1 T 細胞は, HSV-2 粘膜感染症では獲得免疫の TH1 応答への橋渡しの役割を果たすと考えられる。(J. Virol. 78:4927-4930. 2004)

グラム陰性菌である *E.coli* を胆管結紮マウスに感染させると, 菌数, 死亡率がコントロール (sham-ope) 群に比べて増加しており, 感染抵抗性の減弱が認められた。血中のサイトカインは胆管結紮群で IL-10 が有意に増加しており, その産生はおもに肝臓のクッパー細胞であることがわかった。胆管結紮マウスに抗 IL-10 抗体を投与しておくことと菌数の減少が認められた。Fas 欠損—lpr マウスを胆管結紮して *E.coli* を感染させても IL-10 の上昇, 菌数の増加が認められなかった。以上の結果から胆管結紮群では Fas-L/Fas のシグナルがクッパー細胞からの IL-10 産生を誘導することによって *E.coli* に対する感染防御機構を低下させていると考えられる (Hepatology 40:414-23. 2004)。

### C. 適応免疫: メモリー T 細胞の産生, 維持の分子機構

二次感染時の速やかな病原菌の排除には, メモリー CD8<sup>+</sup>T 細胞が速やかにエフェクター機能を獲得することが重要である。しかしながらインタロイキン (IL) -15 の二次免疫応答での役割は明らかになっていない。本年度は IL-15 トランスジェニック (Tg) マウスおよび IL-15 ノックアウト (KO) マウスを用いて IL-15 の二次免疫応答での役割を明らかにした。抗原特異的メモリー CD8<sup>+</sup>T 細胞は, 卵白アルブミン (OVA)<sub>257-264</sub> 特異的 T 細胞レセプターの Tg マウスである OT-I マウス (Ly5.1+) からナイーブ CD8<sup>+</sup>T 細胞を単離し C57BL/6 マウスに移入後リコンビナント OVA 産生 *Listeria monocytogenes* (rLM-OVA) を感染させ誘導した。一次感染 40 日後にメモリー OT-I 細胞を単離し CFSE で蛍光標識し, C57BL/6 マウス, IL-15 Tg マウスまたは IL-15 KO マウスに経静脈的に移入し 24 時間後に rLM-OVA を感染させ, 経時的にその細胞分裂と細胞内グランザイム B の発現をフローサイトメーターを用いて解析した。二次免疫応答における細胞分裂は, IL-15Tg マウスと IL-15KO マウスで顕著な差はなかったが, グランザイム B の発現は, 感染後 2 日目でコントロールマウスと比較して IL-15 Tg マウスで有意に高く IL-15 KO マウスでは低下していた。また, メモリー OT-I 細胞を移入したこれらのマウスで感染 2 日後に OVA ペプチドをパルスした脾臓細胞を標的細胞として移入し *In vivo* 細胞傷害活性を調べると, グランザイム B の発現に相関して

IL-15 Tg マウスで有意に高く IL-15 KO マウスでは低下していた。以上, IL-15 は, メモリーCD8<sup>+</sup> T 細胞の二次免疫応答における早期の活性化において重要な役割を担っていることが明らかとなった。(FASEB J 19:19-28, 2005, J. Immunol. 174:3590-3597, 2005)

## 業績目録

### 原著論文

1. Nishimura H., Yajima T., Kagimoto, Y., Ohata M., Watase T., Kishihara K., Goshima F., Nishiyama Y., and Yoshikai Y. 2004  
Intraepithelial CD8<sup>+</sup> T cells may bridge a gap between innate and acquired immunity to herpes simplex virus type 2.  
**J. Virol.** 78:4927-4930.
2. Yajima T., Nishimura H., Saito K., Kuwano H., and Yoshikai Y. 2004  
Overexpression of IL-15 increases susceptibility to lethal endotoxic shock in mice primed with *Mycobacterium bovis* BCG.  
**Infect. Immun.** 72:3855-62,
3. Abe T., Arai T., Ogawa A., Hiromatsu T., Masuda A., Matsuguchi T., Nimura Y., and Yoshikai Y. 2004  
Predominant IL-10 production by Kupffer cells is responsible for impaired bacterial clearance in mice with obstructive cholestasis  
**Hepatology** 40:414-23.
4. Minagawa R., Okano S., Tomita, Y., Kishihara K., Yamada, H., Nomoto K., Shimada M., Meahara Y., Sugimachi K., Yoshikai Y., and Nomoto K., 2004  
The critical role of fas-Fas ligand interaction in donor specific transfusion-induced tolerance to H-Y antigen.  
**Transplantation** 78:799-806.
5. Sugimoto K., Ohata M., Miyoshi J., Ishizaki H., Tsuboi N., Masuda A., Yoshikai Y., Takamoto M., Sugane K., Matsuo S., Shimada Y., Matsuguchi T. 2004  
A serine/threonine kinase, Cot/Tpl2, modulates bacterial DNA-induced IL-12 production and Th cell differentiation.  
**J. Clin. Invest.** 114:857-66.
6. Tagawa, T., Nishimura, H., Yajima, T., Hara, H., Kishihara, K., Matsuzaki, G., Yoshino, I., Maehara, Y. and Yoshikai, Y. 2004  
V $\alpha$ 1<sup>+</sup> T cells producing CC-chemokines may bridge a gap between neutrophils and macrophages in innate immunity during *Escherichia coli* infection in mice ]  
**J. Immunol.** 173:5156-5164.
7. Li, W., Yajima, T., Saito, K., Nishimura, H., Fushimi, T., Ohshima, Y., Tsukamoto, Y. and Yoshikai, Y. 2004  
Soluble branched (1,4)- $\beta$ -D-glucans from *Acetobacter* species enhanced protective immunity against *Listeria monocytogenes* through augmentation of Th1 response  
**Infect. Immun.** 72:7005-7011.
8. Masuda A., Yoshikai, Y., Kume, H. and Matsuguchi T. 2004  
The interaction between GATA proteins and activator protein-1 promotes the transcription of IL-13 in mast cells.

- J.Immunol.** 73:5564-73.
9. Musikachoen T, Oguma A, Yoshikai Y, Chiba N, Masuda A, Matsuguchi T. 2005  
Interleukin-15 induces IL-12 receptor  $\beta$ 1 gene expression through PU.1 and IRF 3 by targeting chromatin remodeling.  
**Blood.** 105:711-20.
  10. Nishimura H, Fujimoto A, Naoyuki T, Yajima T, Wajjwalku W, and Yoshikai Y. 2005  
A novel autoregulatory mechanism for transcriptional activation of IL-15 gene by non-secretable Isoform of IL-15 generated by alternative splicing  
**FASEB J** 19:19-28
  11. Yajima T, Nishimura H, Sad S, Shen H, Kuwano H. and Yoshikai Y. 2005  
Critical role of IL-15 in early activation of memory CD8<sup>+</sup> CTL after re-infection. **J.Immunol.** 174 : 3590-3597
  12. Yoshioka, Y., Kudo, S., Saito K., Nishimura H., Yajima, T., Kishihara K., Kuroiwa, S., Suzuki, Y., Suzuki, T., and Yoshikai Y. 2005  
Oral administration of bovine colostrum stimulates intestinal intraepithelial lymphocytes to polarize Th1-type in mice.  
**Int. Immunopharm.** 5:581-90.
  13. Kamiryo Y, Yajima T, Saito K., Nishimura H., Fushimi T., Ohshima Y., Tsukamoto Y., Naito S. and Yoshikai Y. 2005  
Soluble branched  $\alpha$ -(1,4)glucans from *Acetobacter* species enhance anti-tumor activities against MHC class I-negative and -positive malignant melanoma through augmented NK activity and cytotoxic T cell response  
**Int. J. Cancer** 115:769-776
  14. Nishimura H, Yajima T., Muta H., Podack E.R., Tani K., and Yoshikai Y. 2005  
A novel role of CD30/CD30L signaling in the generation of long-lived memory CD8<sup>+</sup>T cells  
**J.Immunol** in press

## 総説

1. 吉開泰信, 久保千春. 2004  
アレルギーはどうして増えているか  
臨床と研究, 81 (3): 83-89
2. 吉開泰信. 2004  
IL-15 によるマスト細胞の維持機構  
臨床免疫, 41 (1): 37-42
3. 吉開泰信. 2005  
自然免疫と獲得免疫のクロストーク  
最新医学, 60 : 10-18
4. 田川哲三, 吉開泰信. 2005  
型T細胞  
日本臨床 (補), 4:149-53.

5. 吉開泰信 . 2005  
TLR と細菌感染症  
炎症と免疫 , 12 : 45-52

#### 著書

1. 吉開泰信 , 2004  
感染症の発症機構-病原体と宿主の攻防 微生物感染とたたかう生体防御機構  
ウイルス・細菌と感染症がわかる (吉開泰信編) P12-18 , 68-77  
羊土社 東京
2. 吉開泰信 , 2004  
感染に対する免疫 免疫の障害: 免疫不全症  
シンプル免疫学 (中島泉, 高橋利忠, 吉開泰信共著) P109-150  
南江堂 東京
3. 矢島俊樹, 吉開泰信 , 2004  
微生物感染と感染初期に機能する自然免疫  
バイオ研究マスターシリーズ 免疫学集中マスター (小安重夫編) P46-54 , 130-131  
羊土社 東京
4. 吉開泰信 . 2004  
IL-15  
サイトカイン / ケモカインのすべて-基礎から最新情報まで (笠原晋平, 松島綱治編) P221-231  
日本医学館 東京

#### 学会発表

1. 矢島俊樹, 西村仁志, 吉開泰信 . (2004, 4/1-3)  
リステリア抗原特異的 Effector CD8T 細胞の誘導における IL-15 の役割  
第 77 回日本細菌学会総会, 大阪 .
2. 西村仁志, 矢島俊樹, 吉開泰信 . (2004, 4/1-3)  
リステリア抗原特異的メモリー T 細胞の形成維持における CD30L/CD30 シグナルの役割  
第 77 回日本細菌学会総会, 大阪 .
3. 李 偉, 矢島俊樹, 齋藤紀美香, 西村仁志, 吉開泰信 . (2004, 4/1-3)  
- (1,4) glucans from Acetobacter species protect mice from *Listeria monocytogenes* infection.  
第 77 回日本細菌学会総会, 大阪 .
4. 西村仁志, 田川哲三, 矢島俊樹, 岸原健二, 松崎吾朗, 吉開泰信 . (2004, 7/8-10)  
マウス大腸菌感染防御における Vd1 陽性 gd 型 T 細胞の新たな役割  
第 15 回日本生体防御学会学術総会, 長崎 .
5. 矢島俊樹, 松口徹也, 西村仁志, 桑野博行, 吉開泰信 . (2004, 7/8-10)  
MKP-M (JNK 特異的 Dual specificity phosphatase) の Th1 細胞分化における役割  
第 15 回日本生体防御学会学術総会, 長崎 .

6. 田川哲三, 西村仁志, 矢島俊樹, 吉開泰信 .(2004,12/1)  
マウス大腸菌感染防御における V 1 陽性 型 T 細胞の新たな役割  
第 3 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
7. 池辺日王理, 矢島俊樹, 西村仁志, 吉開泰信 .(2004,12/ 1 )  
ナイーブ CD8T 細胞の活性化における IL15 の役割  
第 3 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
8. 鍵本香子, 西村仁志, 矢島俊樹, 古江増隆, 吉開泰信 .(2004,12/ 1 )  
Epidermal V 5 Tcell の分化における IL-15/IL-15 の役割  
第 3 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
9. 吉原一文, 矢島俊樹, 西村仁志, 久保千春, 吉開泰信 .(2004,12/ 1 )  
デキストラン硫酸 (DSS) 誘発性急性大腸炎も出るにおける IL-15 の役割  
第 3 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
10. 村上大輔, 矢島俊樹, 西村仁志, 小宗静男, 吉開泰信 .(2004,12/1)  
LPS による気管支喘息増悪の機序も解析  
第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
11. 矢島俊樹, 西村仁志, 桑野博行, 吉開泰信 .(2004,12/1)  
抗原特異的メモリーCD8T 細胞の 2 次免疫応答での早期活性化における IL-15 の役割  
第 3 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
12. 青井典明, 西村仁志, 矢島俊樹, 石光亮太郎, 川内秀之, 吉開泰信 .(2004,12/3)  
鼻粘膜アレルギーモデルにおける IL-15 の役割  
第 3 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
13. 土居岳彦, 西村仁志, 矢島俊樹, 原寿郎, 吉開泰信 .(2004,12/3)  
結核菌由来ペプチド感作樹状細胞投与によるマイコバクテリア感染防御能の解析  
第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
14. 中里健二, 矢島俊樹, 西村仁志, 桑野博行, 小安重夫, 吉開泰信 .(2004,12/3)  
IL-15KO マウスでの BCL-2 の強制発現による NK 細胞の分化  
第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
15. 齋藤紀美香, 矢島俊樹, 西村仁志, 吉開泰信 .(2004.12/3)  
BCG に対する感染防御機構における IL-15 の役割—IL-15KO マウスを用いて  
第 3 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌 .
16. 吉開泰信 .(2005.1/8-10)  
細菌感染で誘導されるメモリーCD8 細胞の産生/維持機構とその役割  
科学研究費補助金「特定領域研究」-感染の成立と宿主応答の分子基盤-  
平成 16 年度第二回全体班会議, 東京 .

## ワクチン開発構造生物学分野

### Division of Structural Biology

タンパク質の立体構造を決定することで、タンパク質の構造と機能の関連を明らかにしていくことを目的とする。細胞表面および細胞内部のシグナル伝達に關与する蛋白質を主なターゲットにしているが、これに特に限定している訳ではない。将来的にはワクチンなどの創薬研究の構造的な基盤を提供する。当分野は21世紀COE「統合生命科学」の構成員として分子構造解析センターの役割を果たしている。

#### A 免疫系レセプター群の構造生物学

ヒト由来の白血球表面に広く発現する LIR 受容体 (Leukocyte Ig-like receptor) はヒトに特異的な免疫細胞受容体群である。その中の一つである LIR9 の細胞外ドメインについて結晶構造解析を行った。LIR9 は単球、B 細胞、樹状細胞、好中球に発現している。同じファミリーの LIR1 および LIR2 (昨年度構造決定を報告) は MHC クラス I をリガンドとするが、LIR9 のリガンドは未知である。我々の生化学実験から LIR9 はヒト MHC クラス I 分子を認識しないことがわかっている。LIR1 および LIR2 とのアミノ酸配列相同性は 50% 以上であるが、LIR1 および LIR2 が MHC クラス I を認識する結合部位のアミノ酸配列はほとんど保存されていない。

セレンメチオニンを用いた MAD 法により、分解能 2.0 Å で結晶構造決定を行った。LIR1 および LIR2 と同じく、イムノグロブリン様ドメインがタンデムに 2 つつながった形をとっている。LIR1 で MHC クラス I と相互作用している部位 (ドメイン 1 における 26 位 ~ 36 位, 40 位 ~ 56 位, 76 位 ~ 85 位) の構造が LIR9 では異なっている。この構造上の差異およびアミノ酸組成の違いが、LIR9 が MHC クラス I に結合しない理由であると考えられ、MHC 以外の未知のリガンドが存在することを示唆する。



(左) LIR9 の全体構造。  
(右) LIR1 と LIR9 の重ね合わせ。構造が異なっている部位を円で囲った。

#### B ミトコンドリアプレ配列レセプター Tom20 とプレ配列の複合体の構造

ミトコンドリアタンパク質がミトコンドリアへ輸送されるために、ミトコンドリアタンパク質自身に含まれるプレ配列が目印となる。プレ配列を認識結合する Tom20 分子とプレ配列との複合体の精密構造を得るために、以前決定された Tom20 の NMR 構造をもとにコア構造だけを切り出し、さらにプレ配列を分子間 S-S 結合で固定した複合体を調製した。リンカーのデザインを多少変えることで、2 つの異なる結晶を得て構造決定を行った。なお、人工的な S-S 結合を導入しないで、Tom20 とプレ配列ペプチドを混合しても結晶は得られない。結晶 1 (分解能 2.1 Å) は非対称単位中に 7 分子、結晶 2 (分解能 1.9 Å) には 2 分子が含まれていた。プレ配列ペプチドは Tom20 分子表面の溝にヘリックスを



形成して結合していることが確定した。

Tom20側の結合溝には疎水性ポケットは2つある。1つ目の疎水性ポケットは2つの結晶構造においてプレ配列ペプチドのコンセンサス配列 $\phi_1\chi\chi\phi_2\phi_3$  ( $\phi$ は疎水性アミノ酸,  $\chi$ は任意のアミノ酸)のうち $\phi_2$ を結合する。興味深いことにもうひとつの疎水性ポケットは, 結晶1では $\phi_1$ を結晶2では $\phi_3$ を認識している。プレ配列は基本的にリジットなくヘリックスを形成しているので, 2つの認識様式が可能となるには, Tom20側の若干の構造変化とプレ配列ヘリックスの大きな動きが必要である。このことは, プレ配列のコンセンサス配列 $\phi_1\chi\chi\phi_2\phi_3$ をTom20が少なくとも2つの異なる結合様式を使って, 動的に認識しているという極めて斬新な分子認識機構を示唆する。



### C PriA蛋白質の構造生物学

#### 大腸菌由来のPriA蛋白

質はDNA複製に関与するヘリカーゼの1つで, 停止したDNA複製フォークの再開に必要である。PriAタンパク質の一次構造はN末端の約200残基のPriAに特有な領域と, C末端側のヘリカーゼ領域からなる。PriA蛋白質のN末端200残基はDNAの3'末端に特異的に結合することが見いだされている。この認識の構造的基盤を明らかにするために, PriA蛋白質のN末端ドメイン(105残基)の結晶化をおこなった。ネイティブ結晶およびセレンメチオニン体結晶の各々について2.7 Åと3.5 Åの分解能の回折データを得て構造決定をおこなった。その結果, PriA蛋白質のN末端ドメインはインターツインドダイマーを形成していることが判明した。溶液状態でもダイマーを形成していることはゲル濾過と超遠心分析ですでに確認しているので, PriA蛋白質のN末端ドメインは大腸菌で生産したときにすでにインターツインドダイマーを形成していると考えられた。そこで, 6 M塩酸グアニジンで変性させてから, ゲル濾過カラムに直接インジェクトする方法で巻き戻しを行ったところ, モノマーに対応するピークが得られた。一分子蛍光分析装置を用いて蛍光ラベルオリゴヌクレオチドとの相互作用解析を再度行っている。リガンドであるオリゴヌクレオチド ApA あるいは CpCpC との共結晶について分解能3.3 Åと2.8 Åのデータを得て, 差フーリエマップによりDNAの3'末端結合部位を決定した。

### D オリゴ糖転移酵素

オリゴ糖転移酵素はN型糖鎖の生合成において, ドリコールリン酸に結合している糖鎖をタンパク質のアスパラギン残基に転移する関与する活性をもつ。オリゴ糖転移酵素は多数の膜タンパク質が会合したタンパク質複合体である。その酵素活性本体は Stt3 と呼ばれるタンパク質であると推定され

ている。N型糖鎖修飾は真核生物のみならず、古細菌と一部の原核生物にも存在する。古細菌 *Pyrococcus furiosus* には2つの Stt3 遺伝子が存在する。Stt3L (968res) と Stt3S (744res) はN末端側半分に10~14本の膜貫通ヘリックスがある。酵素活性はC末端半分にあると思われる。そこでそれぞれのC末端フラグメント(約500残基と約300残基)を大腸菌でダイレクト発現を行うとインクルージョンボディとなった。これを尿素で可溶化したのちに巻き戻す方法を確立した。このうち、Stt3L については結晶化スクリーニングでロッド状の結晶が得られた。回折測定で 2.8 Å までのスポットが得られた。今後、結晶条件の最適化とセレノメチオニン体の調製を行う。Stt3S については結晶化スクリーニングを始めた。Stt3L および Stt3S に対するポリクローナル抗体を作製した。これを用いて、*Pyrococcus furiosus* の膜分画にウエスタン染色されるバンドがあることを確認した。

## 業績目録

### 原著論文

1. T. Kamura, K. Maenaka, S. Kotoshiba, M. Matsumoto, D. Kohda, R. C. Conaway, J. W. Conaway, K. Nakayama, 2004.  
VHL-box and SOCS-box domains determine binding specificity for Cul2-Rbx1 and Cul5-Rbx2 modules of ubiquitin ligases.  
Genes Dev. 18, 3055-3065.
2. H. Wada, N. Matsumoto, K. Maenaka, K. Suzuki, K. Yamamoto, 2004.  
Two HLA-E Mutants Segregate the Inhibitory NK Cell Receptor CD94/NKG2A and the Activating Receptor CD94/NKG2C, Both of Which Bind the Top of HLA-E.  
Eur. J. Immunol. 34, 81-90.
3. T. Motohashi, T. Shimojima, T. Fukagawa, K. Maenaka, E. Y. Park, 2005.  
Efficient large-scale protein production of larvae and pupae of silkworm by Bombyx mori nuclear polyhedrosis virus bacmid system.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 326, 564-569
4. S. Shioi, T. Ose, K. Maenaka, M. Shiroishi, Y. Abe, D. Kohda, T. Katayama, T. Ueda, 2005.  
Crystal structure of a biologically functional form of PriB from Escherichia coli reveals a potential single-stranded DNA-binding site.  
Biochem. Biophys. Res. Commun., 326, 766-776.
5. S. Yoshizawa, L. Rasubala, T. Ose, D. Kohda, D. Fourmy, K. Maenaka, 2005.  
Structural basis for mRNA recognition by elongation factor SelB.

Nat. Struct. Mol. Biol. 12, 198-203.

6. M. Vales-Gomez, M. Shiroishi, K. Maenaka, H.T. Reyburn, 2005.

Genetic Variability of the Major Histocompatibility Complex Class I Homologue Encoded by Human Cytomegalovirus Leads to Differential Binding to the Inhibitory Receptor ILT2.

J. Virol. 79, 2251-2260.

7. L. Rasubala, D. Fourmy, T. Ose, D. Kohda, K. Maenaka, S. Yoshizawa, 2005.

Crystallization and preliminary C-ray analysis of the mRNA-binding domain of elongation factor SelB in complex with RNA.

Acta Cryst. F61, 296-298.

8. M. Igura, T. Ose, T. Obita, C. Sato, K. Maenaka, T. Endo, D. Kohda, 2005.

Crystallization and preliminary X-ray analysis of mitochondrial presequence receptor Tom20 in complexes with a presequence from aldehyde dehydrogenase.

Acta Cryst. F61, 514-517.

## 総説

1. 神田 大輔, 2004.

基本編 第6章ドメイン構造

「わかる実験医学」シリーズ, タンパク質がわかる(竹縄忠臣企画編集), 66-74.

2. 前仲 勝実, 2004.

Leukocyte Ig-like receptor 群の構造解析

医学の歩み, 203, 1033-1034.

3. 前仲 勝実, 2004.

NK 細胞表面レセプター群の分子認識

生化学 76, 135-140.

## 著書

1. 神田 大輔, 2004.

第一章 蛋白質の立体構造決定をおこなうために 7. 溶液NMR構造解析

遺伝子医学MOOK別冊 分子生物学実験シリーズ「図・写真で観る蛋白構造・機能解析実験ガイド」

## 学会発表

1. Daisuke Kohda (2004, 1/26-27)  
Cracking of the targeting signal embedded in mitochondrial presequences by NMR and crystallography (invited)  
CREST international symposium, Frontier of Biological NMR Spectroscopy  
Senri Life Science Center, OSAKA
2. 神田大輔 (2004, 2/9)  
ミトコンドリア・プレ配列とTom20蛋白質のソフトな相互作用  
・分子間S-S結合形成を利用した新しい解析手法  
特定領域研究公開シンポジウム「生命秩序の膜インタフェースを制御するソフトな分子間相互作用」, 東京
3. 帯田孝之, 井倉真由美, 遠藤斗志也, 前仲勝実, 神田大輔 (2004, 2/11-12)  
ミトコンドリア・プレ配列受容体 Tom20 によるプレ配列認識機構解明を目指したペプチドライブラリーアプローチ  
21COE「第2回若手研究者統合発表会」, 福岡
4. 白石充典, ラスバラリンダ, 津本浩平, 熊谷泉, 神田大輔, 前仲勝実 (2004, 2/11-12)  
白血球細胞表面受容体ILT(LIR)ファミリーの相互作用および構造解析  
21COE「第2回若手研究者統合発表会」, 福岡
5. Daisuke Kohda (2004, 3/23-25)  
Cracking of the targeting signal embedded in mitochondrial presequences by NMR and crystallography (invited)  
UK-Japan Structural Genomics Conference  
Whither Structural Genomics? A UK/Japan Symposium, Oxford UK
6. 米山史紀, 深尾匡憲, 帯田孝之, 善藤威史, 前仲勝実, 中山二郎, 神田大輔, 園元謙二 (2004, 3/30)  
第3のナイシン類縁体, ナイシンQ  
日本農芸化学会大会, 広島
7. Takayuki Obita, Mayumi Igura, Toshiya Endo, Katsumi Maenaka, Daisuke kohda (2004, 4/14-18)  
Structural basis of the decoding of the mitochondrial targeting signals by Tom20 The 1<sup>st</sup> Pacific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama
8. Mitsunori Shiroishi, Linda Rasubala, Kouhei Tsumoto, Izumi Kumagai, Kimie Amano, Yasuo Shirakihara, Eiji Kurimoto, Koichi Kato, Daisuke Kohda and Katsumi Maenaka (2004, 4/14-18)  
Binding properties and functional analyses of human immunoglobulin-like transcript (ILT) 2 and 4 for their ligands MHC class Is. The 1<sup>st</sup> Pacific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama

9. Katsumi Maenaka, Linda Rasubala, Mitsunori Shiroishi, Kouhei Tsumoto, Akiko Yokota, Kimie Amano, Tsukasa Shimojima, Yasuo Shirakihara, Takashi Sasaki, Izumi Kumagai, and Daisuke Kohda (2004, 4/24-28)  
Molecular recognitions of human inhibitory receptors, Ig-like transcripts (Leukocyte Ig-like receptors, CD85) toward MHC class I molecules. 8th Annual meeting of the society for natural immunity, NH Leeuwenhorst, Noordwijkerhout, The Netherlands
10. 前仲勝実 (2004, 7/6)  
白血球表面レセプターLIR/CD85 群のリガンド分子認識機構  
第2回 九州大学生体防御医学研究所 東京大学医科学研究所 『感染, 免疫, ゲノム』合同シンポジウム, 東京
11. Katsumi Maenaka, Mitsunori Shiroishi, Linda Rasubala, Kimie Amano, Yasuo Shirakihara, Yvonne Jones, Anton van der Merwe, Kouhei Tsumoto, Izumi Kumagai, and Daisuke Kohda (2004, 7/18-23)  
Molecular recognitions of human inhibitory receptors, Ig-like transcripts (ILT)2 and ILT4, toward classical and nonclassical MHC class I molecules. 12th International Congress of Immunology, Montreal, Canada
12. 神田大輔 (2004, 8/4)  
Disulfide bond tethering approach for the study of molecular interactions  
特定領域研究「膜インタフェイス」第2回公開シンポジウム  
Molecular Soft Interactions at Biomembrane Interface, 大阪
13. Mitsunori Shiroishi, Linda Rasubala, Kouhei Tsumoto, Kimie Amano, Yasuo Shirakihara, Izumi Kumagai, Daisuke Kohda and Katsumi Maenaka (2004, 10/13-16)  
MHC class I recognition by human inhibitory receptors Ig-like transcript (ILT) 2 and 4: Kinetic, thermodynamic and crystallographic studies.  
第77回日本生化学会大会, 横浜
14. 帯田孝之, 井倉真由美, 尾瀬農之, 遠藤斗志也, 前仲勝実, 神田大輔(2004, 11/10-12)  
ミトコンドリア・プレ配列受容体 Tom20-ALDH プレ配列複合体の結晶構造と緩和解析  
第43回NMR 討論会, 東京
15. 尾瀬農之, Linda Rasubala, 吉澤聡子, Dominique Fourmy, 神田大輔, 前仲勝実 (2004, 11/16-17)  
伸長因子 sel-B の構造解析  
日本結晶学会 平成 16 年度年会, 大阪
16. 神田大輔 (2004,11/19)  
ミトコンドリアへの標的シグナルを構造の観点から解読する

2004 蛋白研セミナー「生体系 NMR における技術革新」, 大阪

17. 神田大輔 (2004,11/25)  
ミトコンドリアへの標的シグナルを構造の観点から解読する  
第26回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 東京
18. 白石充典, 津本浩平, 栗本英治, 加藤晃一, 熊谷泉, 神田大輔, 前仲勝実 (2004, 12/1-3)  
ヒト免疫細胞抑制型受容体 ILT4 のリガンド認識の分子的基盤  
第34回日本免疫学会総会・学術集会, ロイトン札幌, 北海道厚生年金会館ウェルシティ札幌, 札幌
19. 黒木喜美子, 土屋尚之, 白石充典, ラスバラリンダ, 山下由美, 小池隆夫, 神田大輔, 徳永勝士,  
前仲勝実 (2004, 12/1-3)  
関節リウマチ (RA) 関連 Leukocyte Immunoglobulin-like receptor (LIR) 1 ハプロタイプの構造・発現  
解析  
第34回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌
20. 前仲勝実 (2004, 12/1-3)  
MF20 による Leukocyte Ig-like receptor(LIR)と MHC との相互作用解析  
第34回日本免疫学会総会・学術集会, ランチョンセミナー, 札幌
21. 佐々木香織, 尾瀬農之, 岡本直明, 田中卓, 正井久雄, 前仲勝実, 神田大輔 (2004, 12/8-11)  
大腸菌由来 PriA とオリゴヌクレオチドとの複合体の結晶化  
第27回日本分子生物学会年会, 神戸
22. 井倉真由美, 帯田孝之, 尾瀬農之, 遠藤斗志也, 前仲勝実, 神田大輔 (2004, 12/8-10)  
ラット Tom20 タンパク質と ALDH プレ配列複合体の X 線結晶構造解析  
日本分子生物学会第27回年会, 神戸
23. 白石充典, 黒木喜美子, 小島理恵子, 津本浩平, 熊谷泉, 神田大輔, 前仲勝実 (2004, 12/8-11)  
ヒト免疫細胞受容体 ILT/LIR/CD85 ファミリーのリガンド認識の分子的基盤  
第27回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸
24. 黒木喜美子, 白石充典, ラスバラリンダ, 土屋尚之, 山下由美, 村上善則, 小池隆夫, 徳永勝士,  
神田大輔, 前仲勝実 (2004, 12/8-11)  
関節リウマチ (RA) 関連 Leukocyte Immunoglobulin-like receptor (LIR) 1 ハプロタイプの構造・発現  
解析  
第27回日本分子生物学会年会, 神戸



## 微生物ゲノム情報学分野

### Division of Bioinformatics

(平成17年4月1日より)

当分野では、分子進化的視点からシステムとしての生体の機能解析を行っている。主要な題材は、核酸の塩基配列、タンパク質のアミノ酸配列と立体構造であるが、それらとゲノムやポストゲノムの情報を組み合わせた新たな機能情報の抽出の方法の開発を目指している。また、個別のケースについての応用解析も行っており、それらのいくつかについては実験研究者との共同研究を進めている。

### 業績目録

#### 原著論文

1. Ichihara, H., Daiyasu, H., Toh, H. 2004  
How does a topological inversion change the evolutionary constraints on membrane proteins?  
Protein Eng. Des. Sel. 17, 235-244.
2. Daiyasu, H., Ishikawa, T., Kuma, K., Iwai, S., Todo, T., Toh, H. 2004  
Identification of cryptochrome DASH from vertebrates.  
Genes to Cells 9, 479-495.
3. Standley, D., Toh, H., Nakamura, H. 2004  
Detecting Local Structural Similarity in Proteins by Maximizing the Number of Equivalent Residues.  
PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics 57, 381-391
4. Toh, H., Osaka, K., Takei, T. 2004  
Molecular phylogenetic analysis of pulmonary surfactant protein C and the relatives.  
J. Jpn. Med. Soc. Biol. Interface 35, 24-31.
5. Aburatani S, Goto K, Saito S, Fumoto M, Imaizumi A, Sugaya N, Murakami H, Sato M,  
Toh H, Horimoto K. 2004  
ASIAN: a web site for network inference.  
Bioinformatics 20, 2853-2856.
6. Nemoto, W., Toh, H. 2005  
Prediction of interfaces for oligomerizations of G-protein coupled receptors  
PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics 58, 644-660
7. Katoh, K., Kuma, K., Toh, H., Miyata, T. 2005



MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment.

Nucleic Acids Res. 33, 511-518

## 総説

1. 根本 航、藤 博幸, 2005  
バイオインフォマティクス  
日本薬理学雑誌 125, 159-164
2. 根本 航、藤 博幸, 2005  
クラス A GPCR 複合体のインターフェイス予測  
蛋白質核酸酵素 増刊号生体超分子 (in press)

## 著書

1. 藤 博幸, 2004  
タンパク質機能解析のためのバイオインフォマティクス, 全 196 ページ  
講談社, 東京
2. 藤 博幸, 2004  
相同配列の比較による構造/機能予測, 全 34 ページ  
財団法人国際高等研究所, 京都
3. 藤 博幸, 2004  
3.1 タンパク質の機能を予測する  
3.2 ゲノムから何がわかるか  
生命の謎を解く – タンパク質研究からのアプローチ– (関口睦夫・森川耿右 編) pp.75-98  
共立出版, 東京
4. 大安 裕美、藤 博幸, 2004  
配列解析の実際  
実験医学別冊 ゲノム研究実験ハンドブック(辻本豪三、田中利男 編) pp.38-44,  
羊土社、東京.

## 学会発表

1. Toh, H., Ichihara, H., Daiyasu, H. (2004. 1/6–1/10)  
Evolutionary analysis of membrane-associated proteins.  
Pacific Symposium on Biocomputing, Hawaii

2. Nemoto, W., Toh, H. (2004, 4/15-4/18)  
Prediction of interfaces for the class A GPCR oligomerization  
The 1<sup>st</sup> pacific-rim international conference on protein science, Yokohama
3. Stadley, D., Toh, H., Nakamura, H. (2004, 4/15-4/18)  
Detecting local structural similarity in proteins by maximizing the number of equivalent residues.  
The 1<sup>st</sup> pacific-rim international conference on protein science, Yokohama
4. Toh, H., Ichihara, H., Daiyasu, H. (2004, 4/15-4/18)  
Evolutionary analysis of membrane proteins.  
The 1<sup>st</sup> pacific-rim international conference on protein science, Yokohama
5. 藤 博幸、横井 寿郎、大安 裕美、森井 宏幸、古賀 洋介 (2004, 12/8-4/11)  
古細菌の極性脂質合成経路の進化  
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸
6. 加藤 和貴、隈 啓一、藤 博幸、宮田 隆 (2004, 12/8-4/11)  
Optimized MAFFT: improvement in accuracy of multiple sequence alignment  
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸
7. 大安 裕美、水谷 正治、安 栄玉、坂田 完三、藤 博幸 (2004, 12/8-4/11)  
二糖配糖体特異的グリコシラーゼの基質特異性に関する情報科学的研究  
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸
8. Nemoto, W., Toh, H. (2004, 12/8-4/11)  
Database for GPCRs interaction – GRIP –  
第27回日本分子生物学会年会、神戸
9. 隈 啓一、横井 崇秀、原田 義則、溝口 亨、小正 葉子、直木 洋、藤博幸 (2004, 12/8-4/11)  
クロレラと陸上植物の分岐年代推定及びクロレラ TPI 遺伝子の分子進化  
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸
10. Satoh, T., Yamanishi, Y., Kanehisa, M., Toh, H. (2004, 12/13-12/15)  
Prediction of Protein-Protein Interactions Based on Real-Valued Phylogenetic Profiles Using Partial  
Correlation Coefficient  
Genome Informatics 2004, Yokohama
11. Nemoto, W., Toh, H., (2005, 1/4-1/8)  
Prediction of interfaces for GPCRs oligomer  
The Pacific Symposium for Biocomputing, Hawaii
12. Nemoto W and Toh H. (2005, 3/21-3/23)

Prediction of GPCR oligomer interface

14th ScreenTech 2005 & Target Talk, San Diego

## 防御分子構築学分野

### Division of Molecular Design

平成16年4月より夏目徹客員教授が着任し、生体防御医学研究所におけるプロテオミクス研究の推進を図ると共に、大規模タンパク質相互作用ネットワーク情報に基づいたポストゲノム研究を展開している。

#### A. 大規模タンパク質相互作用ネットワーク解析

ポスト・シーケンス時代を迎え、プロテオミクスによる大規模・包括的なタンパク機能解析が急務とされている。しかし、その進捗ははかばかしくない。その理由は、タンパク質が化学的に多様で不安定だからであり、質量分析を代表とするハイテク機器を駆使しようとも、核酸のように大規模・システマティックに扱うことが本質的に困難だからである。我々は、ダイナミックレンジが広く、且つ微量なタンパク質サンプルの解析を可能とするため、超ナノ LC をオンライン化したタンデム質量分析システムを独自に開発した。本システムを活用し、タンパク質科学につきものである、非特異的な吸着・相互作用を廃絶するための条件検討を High-through put に行い、測定前処理の生化学的プロセス全てを改革・全体最適化に成功した。この解析プラットフォームと、ヒト完全長 cDNA を用いたタンパク質相互作用の大規模解析が現在進行中である。本プロジェクトでは、サブ・フェムトモルレベルの感度で、150以上のコンポーネントからなる複雑なタンパク質複合体を、電気泳動などすることなく、1時間ほどで決定することを可能とする。現在までに、1,500の完全長 cDNA を用いた、タンパク質相互作用ネットワーク解析を終了した。その結果に基づき、生体防御医学研究所において細胞周期、細胞死・分化とタンパク質分解系の役割について、包括的な理解をめざした新たな研究が展開中である。

### 業績目録

#### 原著論文

1. Yanagida, M., T. Hayano, Y. Yamauchi, T. Shinkawa, T. Natsume, T. Isobe, N. Takahashi. 2004  
Human fibrillarin forms a sub-complex with splicing factor 2-associated p32, protein arginine methyltransferases, and tubulins alpha 3 and beta 1 that is independent of its association with preribosomal ribonucleoprotein complexes.  
J Biol Chem..279:p.1607-14.
2. Komatsu M, Chiba T, Tatsumi K, Iemura SI, Tanida I, Okazaki N, Ueno T, Kominami E, Natsume T, Tanaka K. 2004  
A novel protein-conjugating system for Ufm1, a ubiquitin-fold modifier.  
EMBO J. .23(9): p.1977-86
3. Nakayama K, Nagahama H, Minamishima YA, Miyake S, Ishida N, Hatakeyama S, Kitagawa M,

- Iemura S, Natsume T, Nakayama KI. 2004  
Skp2-Mediated Degradation of p27 Regulates Progression into Mitosis.  
Dev Cell. (5): p.661-72.
4. Bannai, H., Fukatsu, K., Mizutani, A., Natsume, T., Iemura, S. I., Ikegami, T., Inoue, T., and Mikoshiba, K. 2004  
An RNA-interacting protein, SYNCRIP (hnRNP Q1/NSAP1) is a component of mRNA granule transported with inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 mRNA in neuronal dendrites.  
J Biol Chem. 279(51): p. 53427-53434
  5. Higo, T., Hattori, M., Nakamura, T., Natsume, T., Michikawa, T., and Mikoshiba, K. 2005  
Subtype-specific and ER-lumenal-environment-dependent Regulation of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor Type 1 by ERp44.  
Cell. 14; 120(1):85-98.
  6. Ishigaki, S., Hishikawa, N., Niwa, J. I., Iemura, S. I., Natsume, T., Hori, S., Kakizuka, A., Tanaka, K., and Sobue, G. 2004  
Physical and functional interaction between dorfin and valosin-containing protein that are colocalized in ubiquitylated inclusions in neurodegenerative disorders.  
J Biol Chem 279(49): p.51376-85.
  7. Oyama, M., Itagaki, C., Hata, H., Suzuki, Y., Izumi, T., Natsume, T., Isobe, T., and Sugano, S..2004  
Analysis of small human proteins reveals the translation of upstream open reading frames of mRNAs.  
Genome Res 14(10B): p. 2048-52
  8. Yoshida K, Yamaguchi T, Natsume T, Kufe D, Miki Y. 2005  
JNK phosphorylation of 14-3-3 proteins regulates nuclear targeting of c-Abl in the apoptotic response to DNA damage.  
Nat Cell Biol.;7(3):278-85
  9. Kojima H, Sasaki T, Ishitani T, Iemura S, Zhao H, Kaneko S, Kunimoto H, Natsume T, Matsumoto K, Nakajima K. 2005  
STAT3 regulates Nemo-like kinase by mediating its interaction with IL-6-stimulated TGFbeta-activated kinase 1 for STAT3 Ser-727 phosphorylation.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 102(12):4524-9.
  10. Matsuda N, Azuma K, Saijo M, Iemura S, Hioki Y, Natsume T, Chiba T, Tanaka K, Tanaka K. 2005  
DDB2, the xeroderma pigmentosum group E gene product, is directly ubiquitylated by Cullin 4A-based ubiquitin ligase complex.  
DNA Repair (Amst). 4(5):537-45.

## 総説

### 1. 夏目 徹 (2004)

#### 蛋白質相互作用ネットワーク解析

BIO Clinica Vol.19 No.14 p33-39

2. 夏目 徹 (2004)  
完全長ヒト cDNA を用いた大規模蛋白質ネットワーク解析  
蛋白質 核酸 酵素 Vol.49 No.14 p2222-2229
3. 夏目 徹 (2005)  
大規模プロテオミクスからバイオ NLP に望むこと  
情報処理 Vol.46 No.2 通巻 480 号 p119-122
4. 夏目徹 (2005)  
相互作用とトキシコゲノミクス  
医学のあゆみ Vol.213 No.4 p263-268
5. 夏目 徹 (2005)  
完全長ヒト cDNA を用いた大規模蛋白質ネットワーク解析  
遺伝子医学 MOOK 疾患プロテオミクスの最前線 p91-98
6. 夏目 徹 (2005)  
統合インフォマティクス  
遺伝子医学 MOOK 疾患プロテオミクスの最前線 p146-153

## 著書

1. Hashimoto, S., Isobe, T., and Natsume, T. 2004  
Biomolecular Interaction Analysis Coupled with Mass Spectrometry.  
In Proteomics Handbook, J. M. Walker, ed.  
(Torowa, HUMAN PRESS INC.).
2. 小田吉哉、夏目徹 2004  
できます!プロテオミクス 質量分析によるタンパク質解析のコツ  
中山書店

## 学会発表

- 1 . T. Natsume (2004)  
Systematic analysis of protein interactions using human full length cDNA. International Workshop  
Role of Antibodies in Genome Science Nagoya
- 2 . 夏目 徹 (2004)  
タンパク質ネットワーク大規模解析  
ハイテク・リサーチ・センターフォーラム 2004 神奈川 (特別講演)
- 3 . 夏目 徹 (2004)  
大規模プロテミクス研究とタンパク質名電子辞書  
JST 異分野研究者交流領域探索プログラム  
「生命科学知識研究 - 語りの科学に向けて - 」第一回研究会 東京 (招待講演)
- 4 . T. Natsume (2004)

- Systematic Analysis of Protein Interactions Using Human Full Length cDNA.  
The Third Waterfront Symposium of Human Genome Science Tokyo  
(招待講演)
5. T. Natsume (2004)  
Systematic Analysis of Protein Interactions Using Human Full Length cDNA. Workshop of Frontier  
in Functional Genomics & Proteomics Symposium  
台湾 (招待講演)
  6. T. Natsume (2004)  
Systematic Analysis of Protein Interactions Using Human Full Length cDNA.  
台中国立中興大学招待講演 台湾 (招待講演)
  7. T. Natsume (2004)  
Systematic Analysis of Protein Interactions Using Human Full Length cDNA.  
The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science  
神奈川 (シンポジウム)
  8. T. Natsume (2004)  
Systematic Analysis of Protein Interactions Using Human Full Length cDNA.  
The 3rd Scientific Leadership Series Symposium on Cutting Edge Solutions in Drug Discovery and  
Development Tokyo (招待講演)
  9. 夏目 徹 (2004)  
タンパク質相互作用大規模解析  
第2回ヒトプロテーム学会 東京 (シンポジウム)
  10. 夏目 徹 (2004)  
大規模タンパク質相互作用解析のためのインフォマティックス  
医薬分子設計研究所シンポジウム 東京 (招待講演)
  11. 夏目 徹 (2004)  
大規模タンパク質ネットワーク解析 (Systematic protein-protein interaction analysis )  
BioJapan2004 Tokyo (招待講演)
  12. T. Natsume (2004)  
Systematic Analysis of Protein Interactions Using Human Full Length cDNA  
日米技術協力事業「脳研究」分野情報交換セミナー USA ハワイ (招待講演)
  13. T. Natsume (2004)  
Systematic Analysis of Protein Interactions Using Human Full Length cDNA  
Toxicogenomics International Forum 2004 Kyoto (シンポジウム)
  14. T. Natsume (2004)  
Systematic protein network analysis  
第77回日本生化学会大会 神奈川 (シンポジウム)
  15. 夏目 徹 (2004)  
タンパク質相互作用ネットワークの大規模解析

奈良先端科学技術大学院大学21世紀 COE プログラムフロンティア  
バイオサイエンスへの展開 奈良(招待講演)

16. 夏目 徹 (2004)  
タンパク質相互作用ネットワーク解析ーヒト完全長 cDNA からの展開ー  
東京大学分子細胞生物学研究所第 20 回バイオテクノロジー懇談会(招待講演)
17. 夏目 徹 (2004)  
Systematic protein network analysis  
大阪大学蛋白質研究所セミナー・国際シンポジウム 大阪(シンポジウム)
18. 夏目 徹 (2004)  
タンパク質相互作用ネットワークの大規模解析  
第 22 回医用高分子研究会講座  
最先端医用高分子のためのナノバイオエンジニアリング 東京(シンポジウム)
19. 夏目 徹 (2004)  
大規模タンパク質ネットワーク解析  
早稲田大学理工総研シンポジウム 東京(シンポジウム)
20. 夏目 徹 (2005)  
タンパク質相互作用ネットワークの大規模解析  
日本癌学会カンファレンス(シンポジウム)長野
21. 夏目 徹(2005)  
パスウェイ・ネットワークの絶対定量による動態解析  
新特定ゲノム4領域班会議 大阪
22. 夏目 徹 (2005)  
大規模タンパク質ネットワーク解析  
文部科学省研究費補助金・特定領域研究「統合ゲノム」第7回ワークショップ  
微生物ゲノム研究のフロンティア かずさ(シンポジウム)
23. 夏目 徹 (2005)  
タンパク質相互作用ネットワークの大規模解析  
遺伝子機能プロテオミクスバイオインフォマティクス第2回公開シンポジウム  
熊本大学医学部(招待講演)
24. T. Natsume (2005)  
Systematic Analysis of Protein Interaction Networks Using Human Full Length cDNA.  
VIth European Symposium of The Protein Society Barcelona (シンポジウム)
25. T. Natsume (2005)  
Large-scale systematic analysis of protein interaction networks using human full length cDNA.  
Previous Sanger Institute, London (招待講演)



## 防御システム再生学

### Division of Regeneration Biology

神経系を構成するニューロンとグリアは、神経幹細胞と呼ばれる共通の細胞から生まれます。このしくみを研究することによって、脳の発生の基本メカニズムを明らかにするとともに、神経系の疾患や損傷の新しい治療法の開発に役立てることを目指しています。特に下記のプロジェクトを中心に研究を進めております。

#### A ショウジョウバエを用いた神経幹細胞制御機構の研究

強力な遺伝学を駆使して幹細胞制御に関わる新しい分子を同定し、その機能を明らかにします。ショウジョウバエ postembryonic neuroblast (pNb) を哺乳類の神経幹細胞のモデル系として捉え、pNb の増殖・分化に関わる新規因子を検索してその哺乳類ホモログを同定・単離することで哺乳類神経幹細胞の増殖分化を制御する機構を解析しようとしています。

#### B マウスを用いた哺乳類中神経系の発生制御メカニズムの解明

Musashi, Hu, Notch 関連分子などの神経幹細胞の自己複製および分化制御因子の個体発生過程における役割を探索いたします。

#### C 神経系における RNA 結合性タンパク質の役割の解析

神経系においては、選択的スプライシング、RNA 輸送、局所翻訳など特徴的なメカニズムにより、転写後レベルでの遺伝子発現が制御され、神経系の発生、幹細胞の維持、細胞分化、可塑性を含む高次機能において重要な役割を果たす事が明らかになってきております。この分子メカニズムについて、神経系において発現している RNA 結合性タンパク質を中心に解析を進めます。

#### D ES 細胞から特定のニューロンを分化させる方法の開発

ES 細胞から様々なニューロンを分化させ、疾患モデル動物への移植実験によりその機能を解析しています。対象疾患としてパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)について研究を進めております。

#### E 成体のニューロン新生の制御機構の研究

成体脳にも神経幹細胞が存在し、継続的にニューロンが新生しています。このメカニズムをマウスとサルを使って研究しています。高等動物の脳や脊髄の再生能力は非常に低いため、病気や事故によって失われた神経機能を回復させることは、とても難しいと考えられています。しかし近年、成人の脳にも「神経幹細胞」が存在し継続的に神経細胞がつけられていること、そして動物実験では脳梗塞などによって失われた神経細胞が部分的に再生されることがわかってきました。これらのことは、ヒトの脳にも潜在的な再生能力がある可能性を示唆しており、それを利用した治療法が開発が期待されています。再生は成体における発生の再現であるとも考えられるため、発生学の研究によって得られる知見は、再生のしくみを理解し、臨床応用するためにも役立つことが期待できます。そこで本講座では、ネズミとサルの神経発生と再生のしくみについて研究を行い、その成果を交通事故や脳梗塞などの原因で失われた神経機能を回復させることのできる治療方法の開発に役立てたいと考えています。

#### F 神経幹細胞移植を中心とした損傷脊髄の治療法の開発

損傷した脊髄や中枢神経系の機能再生を目指したトランスレーショナルリサーチを行います。我が国においては、計 50 万人近い脊髄損傷の患者さんがいます。近年における抗菌剤、人工呼吸器、脊椎固定術などの臨床医学的手法の進歩に伴い、生命予後は良好になってきたものの、中枢神経系の一部である脊髄の損傷による麻痺とそれに伴う深刻な合併症に苦しんでおられます。そのため中枢神経系の再生を可能とし、脊髄損傷に対する革新的な治療法が開発されることが長年望まれており、神経幹細胞を基軸とした移植療法によって、脊髄損傷によって失われた四肢の機能を再び回復させることは近未来の移植医療において極めて重要な位置を占めると考えられます。この点を鑑み、各グループは、独自のバックグラウンドとオリジナリティーの高い実験技術に基づき、各々が脊髄損傷の革新的な治療法確立のために必須となる基礎研究を、緊密な共同体制のもと

とに進めています。さらには、これらの英知を総結集しサル脊髄損傷モデルを用いた前臨床試験による有効性と安全性を確認し、最終的には我が国発のヒト脊髄損傷に対するヒト幹細胞を用いた世界で初めての治療法の開発という共通の目標を、早く確実に達成することを目標としています。

一度損傷を受けた成人ほ乳類の中樞神経系  
(脳・脊髄)は再生しない。

Cajal, 1921

実際の臨床においては、損傷脊髄内の5-10%の軸索が損傷を免れるか、あるいは再生できれば機能的にはかなりの改善が期待できる。



- 損傷脊髄の幹細胞治療の開発
- 二次傷害を防止する治療法の開発
- 損傷脊髄の再生を促す治療法の開発



### Development and Regeneration of the central nervous system.

We are studying the regulatory mechanism of neural development and stem cell biology of the central nervous systems by focusing 1) Developmental genetics of *Drosophila* CNS stem cells, 2) Regulatory mechanism of mammalian CNS development, 3) Induction of particular neurons from ES cells, 4) Adult neurogenesis, and 5) Stem cell transplantation into damaged brain and spinal cord.

### 業績目録

#### 原著論文

1. Okada S, Nakamura M, Mikami Y, Shimazaki T, Mihara M, Ohsugi Y, Iwamoto Y, Yoshizaki K, Kishimoto T, Toyama Y, Okano H.2004  
Blockade of interleukin-6 receptor suppresses reactive astrogliosis and ameliorates functional recovery in experimental spinal cord injury.  
*J Neurosci Res* 15;76(2):265-76
2. Yamashita T, Tonchev BA, Seki T, Sawamoto K, Okano H.2004  
Vascular adventitia generates neuronal progenitors in monkey hippocampus after ischemia.  
*Hippocampus* 14: 861-875
3. Ohba H, Chiyoda T, Endo E, Yano M, Hayakawa Y, Sakaguchi M, Darnell RB, Okano HJ, Okano H.2004  
Sox21 is a repressor of neuronal differentiation and is antagonized by YB-1.

- Neurosci Lett* 1;358(3):157-60.
4. Mikami Y, Okano H, Sakaguchi M, Nakamura M, Shimazaki T, Okano HJ, Kawakami Y, Toyama Y, Torida M. 2004  
Implantation of dendritic cells leading to de novo neurogenesis and functional recovery.  
*J Neurosci Res* 15;76(4):453-65.
  5. Ozawa Y, Nakao K, Shimazaki T, Takeda J, Akira S, Ishihara K, Hirano T, Oguchi Y, Okano H. 2004  
Downregulation of STAT3 activation is required for presumptive rod photoreceptor cells to differentiate in the postnatal retina.  
*Mol Cell Neurosci* 26(2):258-70.
  6. Sakaguchi H, Yaoi T, Suzuki T, Okano H, Hisa Y, Fushiki N. 2004  
Spatiotemporal patterns of Musashi1 expression during inner ear development.  
*Neuroreport* 29;15(6):997-1001.
  7. Tokunaga A, Kohyama J, Yoshida T, Nakao K, Sawamoto K, Okano H. 2004  
Mapping spatio-temporal activation of Notch signaling during neurogenesis and gliogenesis in the developing mouse brain.  
*J Neurochem* 90(1):142-54.
  8. Yoshizaki T, Inaji M, Kouike H, Shimazaki T, Sawamoto K, Ando K, Date I, Kobayashi K, Suhara T, Uchiyama Y, Okano H. 2004  
Isolation and transplantation of dopaminergic neurons generated from mouse embryonic stem cells.  
*Neurosci Lett* 3;363(1):33-7.
  9. Sakuragawa N, Kakinuma K, Hatada S, Kikuchi A, Okano H, Uchida S, Kamo I, Yokoyama Y. 2004  
Human Amnion Mesenchyme Cells Express Phenotype of Neuronal Progenitor Cells.  
*J Neurosci Res* 15;78(2):208-14.
  10. Ishibashi S, Sakaguchi M, Kuroiwa T, Shimazaki T, Okano H, Mizusawa H. 2004  
Human neural stem/progenitor cells, expanded in long-term neurosphere culture, promote functional recovery after focal ischemia in Mongolian gerbils.  
*J Neurosci Res* 15;78(2):215-23
  11. Uchida K, Mukai M, Okano H, Hayashi T, Kawase T. 2004  
Possible origin of the astroblastoma: A novel concept based on experimental findings from clinical material and a review of the literature.  
*Neurosurgery* 55(4):977-8.
  12. Unezaki S, Nishikawa M, Okuda-Ashitaka E, Masu Y, Mukai M, Kobayashi S, Sawamoto K, Okano H, Ito S. 2004  
Characterization of isoforms of MOVO zinc finger protein, a mouse homologue of Drosophila Ovo, as transcription factor.  
*Dev Biol* 27;336(1):47-58
  13. Kawada H, Fujita J, Kinjo K, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, Muguruma Y, Itabashi Y, Ikeda Y, Ogawa S, Okano H, Hotta T, Ando K, Fukuda K. 2004  
Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction.

- Blood* 1;104(12):3581-7.
14. Okada Y, Shimazaki T, Sobue G, Okano H.2004  
Retinoic acid-concentration-dependent acquisition of neural cell identity during in vitro differentiation of mouse embryonic stem cells.  
*Dev Biol* 1;275(1):124-42.
  15. Kawaguchi A, Ogawa M, Saito K., Matsuzaki F., Okano H, Miyata T.2004  
Differential expression of Pax6 and Ngn2 between pair-generated cortical neurons.  
*J Neurosci Res.* 15;78(6):784-95
  16. Hori K, Ito M., Fuwa TJ, Okano H., Baron M, Matsuno K.2004  
Deltex induces an accumulation of the vesicular Notch protein and activates Suppressor of hairless-independent Notch signaling in Drosophila.  
*Development* 2004 Nov;131(22):5527-37.
  17. Watanabe K, Nakamura M, Iwanami A, Fujita Y, Kanemura Y, Toyama Y, Okano H.2004  
Comparison between fetal spinal cord-and forebrain-derived neural stem/progenitor cells as a source of transplantation for spinal cord injury.  
*Dev Neurosci* 26(2-4):275-87
  18. Clarke RB, Spence K, Anderson E, Howell A, Okano H. Potten, C.S.2005  
A putative human breast stem cell population is enriched for steroid receptor-positive cells.  
*Dev Biol* 15;277(2):443-56
  19. Sakaguchi M, Sawamoto K, Shimazaki T, Kitamura T, Shibuya A, Okano H.2005  
A method for gene transfer, single isolation and in vitro assay for neural stem cells.  
*Inflammation and Regeneration* 25: 50-54
  20. Uemura O, Okada Y, Ando H, Guedj M, Higashijima S, Shimazaki T, Chino N, Okano H, Okamoto H.2005  
Comparative functional genomics revealed conservation and diversification of three enhancers of the *Isl1* gene for motor neuron and sensory neuron-specific expression.  
*Dev Biol*15;278(2):587-606
  21. Hishikawa K, Marummo T, Miura S, Nakanishi A, Matsuzaki Y, Shibata K, Kohike H, Komori T, Hayashi M, Nakaki T, Nakauchi H, Okano H, Fujita T.2005  
Leukemia inhibitory factor induces multi-lineage differentiation of adult stem-like cells in kidney via kidney-specific cadherin 16.  
*Biochem Biophys Res Com* 4;328(1):288-91
  22. Suzuki K, Fukui H, Kayahara T, Sawada M, Seno H, Hiai H, Kageyama R, Okano H, Chiba T.2005  
Hes1-deficient mice show precocious differentiation of Paneth cells in the small intestine.  
*Biochem Biophys Res Commun.* 4;328(1):348-52
  23. Kitagawa A, Nakayama T, Takenaga M, Matsumoto K, Tokura Y, Ohta Y, Ichinohe M, Yamaguchi Y, Suzuki N, Okano H, Igarashi R.2005  
Lecithinized brain-derived neurotrophic factor promotes the differentiation of embryonic stem cells in vitro and in vivo.  
*Biochem Biophys Res Commun.* 25;328(4):1051-7.

24. Hirota Y, Takahashi K, Ueda R, Okano H.2005  
Transmembrane protein Tincar is expressed and involved in the development of Drosophila photoreceptor cells.  
*Development, Genes and Evolution* 215(2):90-6
25. Iwanami A, Ogawa Y, Nakamura M, Kaneko S, Sawamoto K, Okano HJ, Toyama Y, Okano H.2005  
Neural stem/progenitor cell transplantation for spinal cord repair; optimal timing of transplantation.'  
Principle of Molecular Neurosurgery.  
*Prog. Neurol. Surg.* (eds. Freese A., Simone FA., Leone P., Janson C.), Basel, Karger, 18: 104-123
26. Akamatsu W, W Fujiwara H, Mitsuhashi T, Yano M, Shibata S, Hayakawa Y, Okano HJ, Sakakibara S, Takano H, Takano T, Takahashi T, Noda T, Okano H.2005  
RNA-binding protein HuD regulates neuronal cell identity and maturation.  
*Proc Natl Acad Sci USA* 22;102(12):4625-30.
27. Nakamura Y, Yamamoto M, Miyado K, Okano HJ, Fukagawa R, Higaki K, Yamasaki M, Okano H.2005  
A novel marker for Purkinje cells, KIAA0864 protein. An analysis based on a monoclonal antibody HFB-16 in developing human cerebellum. *J. Histochem. Cytochem.* 53: 423-430
28. Sakatani T, Kaneda A, Iacobuzio-Donahue CA, Carter MG, Witzel SB, Okano H, Ko MSH, Ohlsson R, Longo DL, Feinberg AP.2005  
Loss of imprinting of Igf2 alter intestinal maturation and tumorigenesis in mice.  
*Science* 307: 1976-1978
29. Nagato M, Heike T, Kato T, Yamanaka Y, Yoshimoto M, Shimazaki T, Okano H. and Nakahata T.2005  
Prospective characterization of neural stem cells by flow cytometry analysis using combination of the surface markers.  
*J. Neurosci. Res.* 80: 456-466
30. Iwanami A, Kakneko S, Nakamura M, Kanemura Y, Mori H, Kobayashi S, Yamasaki M, Momoshima S, Ishii H, Ando K, Tanioka Y, Tamaoki N, Nomura T, Toyama Y, Okano H.2005  
Transplantation of human neural stem/progenitor cells promotes functional recovery after spinal cord injury in common marmoset.  
*J. Neurosci. Res.* 80: 182-190
31. Iwanami A, Yamane J, Katoh H, Nakamura M, Momoshima S, Ishii H, Tanioka Y, Tamaoki N, Nomura T, Toyama Y. and Okano H.2005  
Establishment of Graded Spinal Cord Injury Model in a Non-human Primate: the Common Marmoset. *J. Neurosci. Res.* 80: 272-181
32. Islam MO., Kanemura Y., Tajria J., Mori H., Kobayashi S., Hara M, Yamasaki M, Okano H, Miyake J.2005  
Functional expression of ABCG2 transporter in human neural stem/progenitor cells.  
*Neurosci. Res.* 52:75-82
33. Yoda A, Kouike H, Okano H, Sawa H.2005  
Components of the transcriptional Mediator complex are required for asymmetric cell division in C.

elegans

*Development* 132: 1855-1893

34. Suzuki S, Yamashita T, Tanaka K, Hattori H., Sawamoto K, Okano H. , Suzuki N.2005  
Activation of cytokine signaling through Leukemia Inhibitory Factor Receptor (LIFR)/gp130 attenuates ischemic brain injury in rats.  
*J. Cerebral Blood Flow and Metabolism* 328: 348-352
35. Pignatelli A, Kobayashi K, Okano H, Belluzzi O.2005  
Functional responses of dopaminergic neurons in the mouse olfactory bulb.  
*J. Physiol.* 564: 501-514.
36. Yuasa S, Itabashi Y, Koshimizu U, Tanaka T, Sugimura K, Fukami S, Itabashi Y, Hattori F, Shinazaki T, Ogawa S, Okano H and Fukuda K., 2005:  
Transient inhibition of BMP signaling by Noggin induces cardiomyocyte differentiation of mouse embryonic stem cells. *Nature Biotech.* 23: 607-611.
37. Kambara H, Okano H, Chiocca A, Saeki Y, 2005  
An oncolytic HSV1 mutant expressing ICP34.5 under control of a nestin promoter increases survival of animals, even when symptomatic from a brain tumor. *Cancer Research* 65: 2832-2839
38. Yamashita T, Sawamoto K, Suzuki S, Suzuki N, Adachi K, Kawase T, Mihara M, Ohsugi Y, Abe K, Okano H, 2005.  
Blockade of IL-6 signaling aggravates ischemic cerebral damage in mice. *J. Neurochem.* In Press
39. Matsuda Y, Wakamatsu Y, Kohyama J, Okano H, Fukuda K, Yasugi S, 2005.  
Notch signaling functions as a binary switch for the determination of glandular and luminal fates of endodermal epithelium during chicken stomach development. *Development* In Press.
40. Yoshimi K, Ren Y.-R., Seki T, Yamada M, Hayakawa H, Ooizumi H, Onodera M, Saito Y, Maruyama S, Okano H, Mizuno Y, Mochizuki H.: Possibility of neurogenesis in substantia nigra of parkinsonian brain. *Ann Neurol* In Press.
41. Mori A, Ueda T, Shimizu H, Yoshitake A, Hachiya T, 2005.  
Onoguchi K, Takakura H, Yoshitake M, Taguchi S, Cho Y, Inoue S, Kabei N, Okano H, Yozu R, Sasaki T: An Epidural Cooling Catheter Protects the Spinal Cord Against Ischemic Injury in Pigs. *Annals of Thoracic Surgery* In Press
42. Islam MO, Kanemura Y, Tajria J, Mori H, Kobayashi S, Miyake J Hara M, Yamasaki M, Okano H, 2005.  
Characterization of ABC transporter, ABCB1 expressed in human neural stem/progenitor cells. *FEBS Lett.* In Press.
43. 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, Tani K, 2005.  
Establishment of novel embryonic stem cell lines derived from the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Stem Cell* In Press.
43. Nakamura, M., Okano, H., Toyama, Y., Dai HN and Bregman, BS., 2005. Transplantation of embryonic spinal cord-derived neural stem cells support growth of supraspinal projections and

- functional recovery after spinal cord injury in neonate rat. *J. Neurosci Res* In Press.
44. Hishikawa K., Miura S., Nakanishi A., Shibata K., Matsuzaki Y., Marumo T., Hayashi M., Nakaki T., Okano H. and Fujita T, 2005.  
:Musculin/MyoR is Expressed in Kidney Side Population Cells and Can Regulate Their Function. *J. Cell Biol.* In Press.
  45. Sahara M, Sata M, Matsuzaki Y, Tanaka K, Morita T, Hirata Y, Okano H, Nagai R, 2005.  
Comparison of various bone marrow fractions in the ability to participate in vascular remodeling after mechanical injury. *Stem Cell* In Press.
  46. Crespel A, Rigau V, Coubes P, Rousset MC, de Bock F, Okano H, Baldy-Moulinier M, Bockaert J. and Lerner-Natoli M.2005  
Increased neurogenesis in human temporal lobe epilepsy: evidence for a new neurogenesis area, the fissura hippocampi.  
*Neurobiology of Disease* In Press
  47. Sasaki T, Iwata S, Okano HJ, Urasaki Y, Hamada J, Tanaka H, Dang NH, Okano H, Morimoto C.2005  
Nedd9 protein, a Cas-L homologue, is upregulated and may remodel neurons after transient global ischemia.  
*Stroke* In Press
  48. Kanemura Y, Mori H, Nakagawa A, Islam MO, Kodama E, Yamamoto A, Shofuda T., Kobayashi S, Miyake J, Yamazaki T, Hirano S, Yamasaki M, Okano H.2005  
In vitro screening of epigenetic factors for human neural stem/progenitor cells proliferation using indirect measurement of total ATP content in viable cells. *Cell Transplantation.* In Press
  49. Tamura T, Nakamura M, Ogawa Y, Toyama Y, Miura M., Okano H. 2005  
Targeted expression of anti-apoptotic protein, p35, in oligodendrocytes reduces delayed demyelination and functional impairment after spinal cord injury.  
*Glia* In Press
  50. Akasaka Y, Saikawa Y, Fujita K, Kubota T, Ishii T, Okano H, Kitajima M.2005  
Expression of a candidate marker for progenitor cells, Musashi-1, in the proliferative regions of human antrum and its decreased expression in intestinal metaplasia.  
*Histopathology* In Press

## 総説

1. Okano H., Kawahara H., Toriya M., Nakao K., Shibata S. and Imai T.2005  
Function of RNA binding protein Musashi-1 in stem cells.  
*Exp. Cell Res.* In Press
2. Okano H, Okada s, Nakamura M, Toyama Y, 2005.  
Neural Stem Cells and Regeneration of Injured Spinal Cord. *Kidney International* In Press.

## 著書

1. Iwanami A, Ogawa Y, Nakamura M, Kaneko S, Sawamoto K, Okano HJ, Toyama Y, Okano H:

2005

Neural stem/progenitor cell transplantation for spinal cord repair; optimal timing of transplantation. *Principle of Molecular Neurosurgery. Prog. Neurol. Surg.* (eds. Freese A, Simone FA, Leone P, Janson C), Basel, Karger, 18: 104-123

2. Okano H, Kohyama J, Ohba H, Sakaguchi M, Tokunaga A, Shimazaki T, Okano HJ: Neural stem cells: Isolation and self-renewal. In *Tissue Stem Cells; Biology & Applications*. (Edited by Potten, Wilson, Clarke, Renehan, Marcel Dekker), Taylor & Francis Group, LLC, New York, 2005. In Press

## 学会発表 (国際学会)

### < 口頭発表 >

1. Hideyuki Okano 2004.5.6  
Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair,  
Mammary Stem Cell Workshop,, London,U.K.
2. Hideyuki Okano. 2004.5.18  
Stem Cell Therapy of Injured CNS,  
HFSP Fourth Annual Awardees Meeting,Hakone, Kanagawa, Japan.
3. Hideyuki Okano 2004.6.2  
Stem cells and Regeneration of Central Nervous System,  
Come with KI to Asia at Nobel Forum, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden
4. Hideyuki Okano. 2004.8.7  
Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair, the 15<sup>th</sup> international symposium on  
Molecular Biology of Hematopoiesis, Hitotsubashi Memorial Auditorium, Tokyo
5. Hideyuki Okano. 2004.8.24  
Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair,  
16<sup>th</sup> International Congress of the IFAA \*Symposium, Kyoto
6. Hideyuki Okano 2004.9.30  
Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair,  
3<sup>rd</sup> Weimar Conference on Genetics, Weimar, Germany
7. Hideyuki Okano. 2004.10.3  
Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair,  
Workshop –HEMA OSYGENASE AND OSIDATIVE STRESS-\*special invited lecture,, Catania,  
Italy
8. Masanori Sakaguchi, Tetsuro Shingo, Satoru Ishibashi, Jyunichi Yamane, Toshihiko Kuroiwa,  
Takuya Shimazaki, Kazunobu Sawamoto, Hirotaka James Okano, Mieko Shiwa, Toshihiko Kadoya,  
Françoise Poirier, Masaya Nakamura, Hidehiro Mizusawa, Hiromitsu Nakauchi, Hideyuki Okano.  
2004.10.26  
Function of galectin-1 in self-renewal of neural stem cells and CNS regeneration,  
The Society for Neuroscience's 34<sup>th</sup> Annual Meeting, San Diego, USA
9. Hideyuki Okano. 2004.11.16



Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair

The 17th naito Conference on Molecular Basis for Maintenance Differentiation of Stem Cells,  
Shonan, Kanagawa, Japan.

10. Hideyuki Okano. 2004.12.6

Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair

The 4<sup>th</sup> Asia Pacific Symposium on Neural Regeneration, osaka

11. Hideyuki Okano. 2005.1.20

Self-renewal of Neural Stem Cells and CNS-Repair,

ISN Forefronts in Nephrology “Stem Cell and Regeneration of the Kidney” \*Opening Lecture,  
Karuzawa, Nagano, Japan.