

tic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2013 2013; 430(3): 907-11.

- 5) Nagata T, Shinagawa S, Kuerban B, Shibata N, Ohnuma T, Arai H, Nakayama K, Yamada H. Age-related association between apolipoprotein E ϵ 4 and cognitive function in Japanese patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra*. 2013; (1): 66-73.

III. 学会発表

- 1) 荒川泰弘, 山田 尚. DNA トポイソメラーゼ I 同一分子内に 3 箇所のミスセンス変異をもつ, カンプトテシン高度耐性大腸癌細胞株. 第 71 回日本癌学会学術総会. 札幌, 9 月.
- 2) Yamada O¹⁾, Ozaki K, Akiyama M, Kawachi K¹⁾, Yamada H, Motoji T¹⁾ (¹Tokyo Women's Medical Univ), Vainshenker W (Inst Natl Sante Recherche Med). Emergence of CML in a PMF patient with JAK2V617F mutation before therapeutic manipulation. 第 74 回日本血液学会学術集会. 京都, 10 月.
- 3) Kashima T, Nakayama R, Agawa-Ohta M, Yamada H. hnRNP A2 mediated transcriptional control of survival motor neuron; Cellular fuction of RNA binding protein hnRNP A2. 第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡, 12 月.

分子免疫学研究部

准教授：斎藤 三郎 免疫学, アレルギー学
 講師：秋山 暢丈 免疫学, 分子生物学
 准教授：黒坂大太郎 臨床免疫学
(兼任)
 講師：大野 裕治 免疫薬理学
(兼任)

教育・研究概要

I. インターロイキン 31 の機能解析 Functional analysis of interleukin (IL)-31

インターロイキン 31 (IL-31) は, T 細胞から産生され, かゆみや脱毛を誘発し, アトピー性皮膚炎や気管支炎などのアレルギー疾患に関与するサイトカインである。

IL-31 の機能を解析するために作製した IL-31 過剰発現 (IL-31Tg) マウスにおいては, これまで報告されてきた激しい搔痒行動および脱毛の他に, 抗原非特異的 IgE 抗体産生の増強が認められた。IL-31Tg で観察された多面的機能は, リコンビナント IL-31 (rIL-31) を正常マウスに投与することで検証している。さらに, M2 マクロファージが IL-31 の標的細胞となり Th2 細胞への分化を促すことで, 抗原非特異的 IgE 抗体産生の増強が誘導されることが示唆された。

一方, 当研究部では IL-31 または IL-31RA のかわりにレポーター遺伝子 LacZ をノックインしたマウス, IL-31-LacZ ノックインマウス 2 系統と IL-31RA-LacZ ノックインマウス 2 系統を作成している。現在遺伝的背景を均一にするために戻し交配をしている。IL-31RA-LacZ ノックインヘテロマウスでは, X-gal 染色により毛根部に IL-31RA が強く発現していることを観察している。さらに, IL-31RA-LacZ ノックインマウスでは, rIL-31 投与により脱毛症状が認められないことを確認している。今後は, アトピー性皮膚炎の症状発現に IL-31 がいかに関与するのか, 他の炎症細胞を含めて IL-31 の機能を解明したい。

II. スギ花粉症緩和米を用いた第一相臨床研究

スギ花粉症緩和米の安全性については, エームス試験, 染色体異常試験, 小核試験, マウス 13 週間反復投与毒性試験, カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験, ラット生殖・発生毒性試験において, 対照 (遺伝子非組換えキタアケ米) との比較により確認している。

そこで、健康成人を対象とした「スギ花粉症緩和米の安全性の評価」の第一相臨床研究を実施した。本研究は、最初に、選抜された被験者6名にスギ花粉症緩和米20gを4週間経口摂取させ安全性を評価した上で、スギ花粉症緩和米40gを6名に経口摂取させ安全性を評価する。さらに安全性が評価されたら、スギ花粉症緩和米80gを6名に経口摂取させて安全性を評価する方法で実施した。安全性は、1)有害事象の収集・記録、2)抗体検査、3)検査値等の経時的測定値の観点から評価した。

その結果、経口摂取期間中に出現した有害事象、抗体や検査値等の軽度な異常は、スギ花粉症緩和米の経口摂取との因果関係はほとんどないと考えられ、スギ花粉症緩和米の経口摂取の安全性が評価できた。

Ⅲ. リポソームベースの細胞傷害性 T 細胞誘導ワクチンの開発

腫瘍や病原体に対して特異的な細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導ワクチンはこれらの病気を征服するために魅力的なアプローチである。これまで効率よく CTL を誘導するためのワクチンが開発されてきたが、CTL が認識する抗原をリポソーム内に封入する手段や封入したリポソームの不安定性が厄介な問題として残っている。これらの問題を解決するために、抗原と投与する前に単に混合するだけでリポソームに吸着される、新しいリポソームベースのアジュバントを開発した。このアジュバントと抗原としてオプアルブミンをマウスに投与した結果、1回投与4日後に特異的 CTL が誘導され、2週間以上誘導活性が持続することが判明した。さらに、CTL 活性は、投与した抗原の量に依存的であり、95%以上の細胞傷害活性があることが判明した。現在、担癌マウスを用いてこのアジュバントの抗腫瘍効果を調べている。

「点検・評価」

分子免疫学研究部は開かれた研究室を目指している。免疫学の基礎研究としては免疫応答の調節機構の解明を、応用研究としてはアレルギー疾患や自己免疫疾患の病態ならびに治療法の開発を進めている。

基礎研究では、アトピー性疾患に関与するインターロイキン 31 (IL-31) の多面的機能、スギ花粉症治療米の有効性と安全性の評価、さらには細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を誘導する新しい抗癌戦略の構築などについて検討を進めている。それぞれにつ

いて結果は得られてはいるが、どこまでを出口とするのか考える時期にあると思われた。

応用研究においては、学内外の多くの研究者との共同研究により、花粉症、関節リウマチ、SLE や葡萄膜炎などの病態および発症機構の解明などの研究を進展させている。研究するための環境は十分備わっていると思われるが、応用研究を発展させるためには、臨床系大学院学生や研究員を獲得することが必要と思われた。

教育の面では、当研究室の専任教員2名で研究室配属、選択実習、免疫学の講義および実習などを担当している。特に教育では学生の心に火を付けるような講義ならびに実習の質を高める努力が必要と思われた。さらに、教育と研究を両立させながら成果を発表に導けるかが今年度も大きな課題として残った。様々な課題に挑戦するのは素晴らしいことではあるが、成果をまとめるための課題を絞ることの重要性を痛感している。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Kamada M, Ikeda K, Fujioka K, Akiyama N, Akiyoshi K, Inoue Y, Hanada S, Yamamoto K, Tojo K, Manome Y. Expression of mRNAs of urocortin and corticotropin-releasing factor receptors in malignant glioma cell lines. *Anticancer Res* 2012; 32(12): 5299-307.

II. 総説

- 1) 斎藤三郎. 【花粉症治療の現状と今後の展望－免疫・薬理からみた－】スギ花粉症治療米を用いた経口免疫療法の評価と将来展望. *アレルギーの臨* 2013; 33(1): 47-51.

III. 学会発表

- 1) Akiyama N, Fujii Y, Endoh-Kasahara S, Ohoshima R, Takaiwa, F, Saito S. Induction of oral tolerance by transgenic rice accumulating Japanese cedar pollen allergens in Japanese monkeys with Japanese cedar pollinosis. EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology) Congress 2012, Geneva, June.
- 2) Saito S. (Symposium SS43: New trends of the diagnosis and therapy of pollinosis (Joint Symposium of the 53rd Annual Meeting of Palynological Society of Japan)) Induction of oral tolerance by transgenic rice accumulating Japanese cedar pollen allergens in Japanese monkeys. IPCXIII/IOPC IX 2012. Tokyo,

Aug.

- 3) 斎藤三郎, 藤井裕二, 高岩文雄, 秋山暢丈. スギ花粉症治療米の安全性の評価－健康ニホンザルを用いた検討－. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪. 11月.

分子細胞生物学研究部

教授：馬目 佳信 分子細胞生物学・神経科学

教育・研究概要

I. 脳腫瘍局所療法の開発

1. 超音波による脳腫瘍への核酸デリバリーと中枢神経系細胞へ与える影響

超音波は物理的な音響外力を体深部まで伝達することができるため近年、診断目的の利用に加えて血栓や結石などの治療目的に用いられるようになってきている。本研究部も脳腫瘍に対して音響活性化物質との組みあわせで腫瘍細胞を局所で超音波のキャビテーション効果で破壊するシステムを開発してきている。さらに超音波は遺伝子や干渉 RNA など治療用の核酸を細胞内に導入することが可能なため、これまでの治療用のシステムに加えて有効性を上げるための核酸デリバリー法の開発も進めている。治療のためには中枢神経系に 300～500kHz と比較的長い波長の超音波が用いられるが実は超音波が中枢神経系の細胞に与える影響についてはあまり知られていない。中枢神経系は精神や言語、四肢の動きなど人間らしさとしての重要な役割を担当する臓器であり、また一旦障害を受けると再生が難しいため安全性の担保が必要である。そこで本年度、超音波が中枢神経系細胞へ与える影響を遺伝子転写の変化を指標にして包括的に調査した。その結果、星状膠細胞では超音波を照射すると mRNA の転写は増大し、特に核酸やタンパク質合成酵素や核内の転写因子、細胞内シグナル系、その他の遺伝子の転写が亢進、小膠細胞ではインターロイキンやケモカイン受容体の発現の上昇を認めた。また神経幹細胞についても転写産物の量の変動をマイクロアレイによるパステュー解析で比較した。

2. 脳腫瘍細胞での corticotropin-releasing factor (CRF) 受容体および CRF 類似ペプチドの発現

以上のように中枢神経系への超音波照射で発現する遺伝子を網羅的に解析したところ、脳腫瘍細胞から corticotropin-releasing factor (CRF) 受容体および CRF 類似ペプチドが産生されていることが判明した。そこでヒト神経膠芽腫 5 種、ラット 3 種の細胞株を用いてそれぞれの因子がどの程度、転写されているかを半定量 PCR 法で測定した。その結果、転写量自体にはどの因子も細胞株による大きな違いがなく、CRF 類似ペプチドのなかではウロコルチ