

# 分子細胞生物学研究室

## Molecular Cell Science Laboratory

主任研究員 天 沼 宏  
AMANUMA, Hiroshi

生命体の1つのあり方としてのウイルスは宿主個体、細胞との相互作用においてのみ生物学的存在が規定される研究対象である。当研究室においては、近年、急速に研究が進展した動物ウイルスである哺乳類レトロウイルスについて、その感染、増殖機構における未解決な問題、このウイルス群による各種疾病の発症機構、さらに、より付加価値の高い遺伝子導入ベクターとしての開発に関する研究を行っている。また、多細胞生物の細胞の固有の機能(分裂、増殖、分化、アポトーシスなど)のメカニズム、その制御についての研究も行っている。これらレトロウイルス、細胞の諸研究の成果を総合して、様々な疾病の新たな治療法の進展への貢献を旨としている。今年度は、標準化レトロウイルスベクター、HIV-1 *vpr* 遺伝子産物、BLV による白血病発症機構、血液細胞の増殖分化、レチノイドの生理作用機構などの研究を行った。

### 1. レトロウイルスの生物医学的研究

(1) レトロウイルスベクターの基礎的研究(天沼, 久保<sup>\*1</sup>, 片根<sup>\*2</sup>, 高尾<sup>\*3</sup>)

細胞特異的に遺伝子導入する標準化レトロウイルスベクターの作製を試みた。増殖因子, サイトカイン, ホルモンなどのペプチド性リガンドと, それに対する受容体との特異的相互作用を利用し, これらのリガンドをレトロウイルスの細胞への侵入を司るエンベロープタンパク質(Env)に組み込んでキメラタンパク質とし, これによりリガンドに対する受容体をレトロウイルスの細胞侵入のための受容体として機能させるという方法をとった。リガンドに対する受容体が細胞特異的に発現すれば, その特異性を持つ遺伝子導入ベクターが得られる。リガンドとしてはヒト上皮成長因子(EGF)およびケモカインの一種であるヒトストローマ細胞由来因子-1(SDF-1 $\alpha$ )を用いた。遺伝子治療研究に頻繁に用いられるマウス同種指向性レトロウイルス(MLV), モロニー白血病ウイルス Env の本来の感染受容体認識領域(VRA)内においてこれらのリガンドとのキメラタンパク質を作製した。VRA 中の異なる6つの部位を選び, それぞれにEGF配列を挿入した。また, VRAの配列の一部を除き, これをEGFの配列で置換した。挿入EGFキメラのうちsite 3キメラ Envのみがウイルス粒子に再構成されたが, あとのキメラ Envは生合成過程の障害で細胞に発現するがウイルス粒子には取り込まれなかった。置換EGFキメラ Envも同様であった。site 3 EGFキメラ Envを持つベクターは同種指向性ウイルスの感染受容体であるCAT-1経路での細胞侵入能を維持していたが, EGF受容体経路での細胞侵入は起こさず, EGF受容体とCAT-1との両方を発現する細胞ではEGF受容体の存在によりCAT-1経路での細胞侵入が阻害された。

SDF-1 $\alpha$ をsite 3に挿入したキメラ Envはウイルス粒子に再構成され, このベクターはSDF-1の受容体であるCXCR4経路での細胞侵入を起こした。EGFの場合と同様, このベクターはCAT-1経路での細胞侵入も起こし, CXCR4経路での細胞侵入の効率はCAT-1経路のその約1/100程度であった。リガンドキメラ Envの方法により細胞侵入の

受容体特異性の改変に明確に成功したのは当研究が初めてである。種々の膜タンパク質の中でMLVの細胞侵入の受容体として機能できるものは限られていると考えられ, 上記の結果より受容体として機能するための膜タンパク質の必要条件として複数回膜貫通タンパク質であることが示唆された。

(2) 短鎖ペプチドによる細胞増殖制御(小幡)

レトロウイルスベクターを用いたアンチセンス遺伝子導入による子宮頸がん細胞株の増殖抑制が100%の細胞には及ばないという前年度までの結果をふまえ, 全細胞のコントロールのために短鎖ペプチドによる増殖抑制を試みた。子宮頸がんの原因因子であるE6タンパク質のXS/TXV/Lモチーフに結合する, E6AP, E6BP, paxillin等に見られるLDモチーフから極力組織プロテアーゼ認識配列を避けて7merのペプチドを合成した。さらに両側にリンカー配列を付加した11merと7mer $\times$ 2の14merを合成し, これらペプチドを子宮頸がん細胞株培養に導入した。コントロールにNIH3T3細胞株を用いた。結果はコントロール細胞が全滅する高濃度でも子宮頸がん細胞株の増殖に変化は見られなかった。

(3) AIDS発症におけるHIV-1アクセサリー遺伝子 *vpr* の意義の解明(間, 蒲田<sup>\*1</sup>, 磯貝<sup>\*4</sup>, 飯島<sup>\*3</sup>, 倉光<sup>\*3</sup>)

HIV-1アクセサリー遺伝子の1つである *vpr* の産物は, 感染効率の上昇および潜伏感染細胞でのプロウイルスの活性化を導くなど, AIDS発症のkey factorとして注目されている。一方, リンパ球をG2 arrestすること, 細胞の分化, 多倍体化およびアポトーシスを誘導することが報告されている。 *vpr* の欠失変異体をHeLa細胞に導入することによりG2 arrest能を完全に消失しているが, G1 arrest能と強いアポトーシス活性を獲得したVprのC末端欠失変異体を見だし, G2 arrestとアポトーシスは異なる経路で発揮される可能性を示した。同様に, 野生型VprもG2 arrestとは異なる機序によるアポトーシス誘導能を有することを明らかにした。

Vprは相互作用する細胞因子も複数存在する。野生型Vprと同様の核膜・核への局在能を保持しているが細胞増殖抑

制能を完全に消失している Vpr17-81 を bait として yeast two-hybrid 法を行った。UNG, DNA 除去修復機構関連分子 HHR23A を含む 5 種類の既知タンパク質と, 6 種類の未知タンパク質をコードする遺伝子が同定された。HHR23A については, C 末端側 UBA ドメインが Vpr との結合に重要であること, この結合には Vpr の 2 つの  $\alpha$ -helix ドメイン内の 33 位の His, 67 位の Leu および 74 位の Ile の各アミノ酸が重要であることを証明した。Vpr は preintegration complex に結合し, それを核に移行させることにより, マクロファージ等の非分裂細胞への HIV-1 の感染を可能にする。Vpr の機能ドメインの解析により, 2 つの  $\alpha$ -helix ドメインが共に核移行シグナルとして機能しうることを明らかにした。In vitro translation で作製した野生型および変異型 Vpr を用いて pull-down assay を行った結果, GST 融合型 Importin  $\alpha$  および  $\beta$  は Vpr の 2 つ目の  $\alpha$ -helix ドメインと相互作用していることが示された。digitonin 処理した HeLa 細胞を用いた Nuclear import assay により, Vpr の 2 つ目の  $\alpha$ -helix ドメインは核内への移行に, 1 つ目の  $\alpha$ -helix ドメインは核膜局在に重要であることを明らかにした。

(4) ウシ白血病ウイルス (BLV) による白血病発症機構の解析 (間, 田島<sup>\*1</sup>, 竹嶋<sup>\*4</sup>, 今内<sup>\*3</sup>, 高橋<sup>\*3</sup>)

BLV の転写活性化因子 Tax はウイルス遺伝子の発現を制御し, 初代培養細胞をトランスフォームする能力も有しており, 白血病誘導の主要因と考えられる。BLV Tax により活性化される細胞遺伝子は未だ同定されておらず, 白血病誘導機構の解析も殆ど進展していない。これまでに, BLV LTR に対し野生型に比べ著しく高い転写活性化能を示す高活性型 Tax 変異体を同定した。これらの活性は Tax 応答配列内の cAMP 応答配列 (CRE) に変異を導入すると著しく低下した。一部の高活性型 Tax は CRE 配列を有する *c-fos* 遺伝子のエンハンサーばかりでなく, HTLV-I と MMTV LTR をも明らかに活性化した。MMTV LTR では, CRE 配列を有しないにもかかわらず活性化は顕著であった。野生型 Tax はいずれのエンハンサーも活性化しなかった。この変異体の *in vivo* でのウイルス感染能および白血病誘導能におよぼす影響を調べるために, 感染性分子クローンをヒツジに接種した。野生型および高活性型分子クローンを各 6 頭に接種したところ, 野生型 2 頭および高活性型 3 頭で感染が成立した。個体間で, 末梢血中の BLV 陽性細胞の割合およびウイルス発現量に差異が観察されたが, 接種した分子クローンの種類との関連は認められなかった。高活性型 Tax は, *in vivo* でのウイルス感染の成立, 感染個体内でのウイルスの伝播および発現に対し, 顕著な影響を及ぼさないことが明らかとなった。

高度な多型を有するウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA)-DRB3 遺伝子が BLV による白血病発症の感受性と抵抗性を規定している。その機序を明らかにするために BoLA-DRB3 遺伝子の新しいタイピング法として PCR-sequence-based typing (SBT) を開発し, 黒毛和種, 日本短角, ホルスタイン種およびジャージー種の正常なアリル頻度を明らかにし, それを基に各々の分子進化を解析した。その結果, ホルスタインと黒毛和種は最も近縁で, 次いで日本短角, ジャージー種の順に位置していることが示された。さらに, BLV の有用な実験動物であるヒツジを, ヒツ

ジ MHC(OLA)-DRB1 の塩基配列から予測されるアミノ酸配列を元に, BLV による白血病発症に対して抵抗性と感受性群の二群に分類し, BLV 実験感染を行った。その結果, MHC のハプロタイプ間にウイルス増殖および免疫応答に差異があることを明らかにした。

2. 細胞増殖分化, 細胞周期の制御機序の分子細胞生物学的解析 (戸所, 永田<sup>\*5</sup>, 加藤<sup>\*1</sup>, 倉沢<sup>\*5</sup>, 石原<sup>\*1</sup>, 草野<sup>\*1</sup>, 春田<sup>\*5</sup>, 望月<sup>\*5</sup>, 須賀田<sup>\*3</sup>, 正寄<sup>\*3</sup>, 小田<sup>\*3</sup>)

マウスより新規の, G タンパク質複合体による細胞内情報伝達の制御因子として RGS18 遺伝子を単離した。RGS18 は RGS サブファミリー B に属し, 脾臓と巨核球, 血小板, 顆粒球・単球などの血液細胞に発現しており, 細胞質に存在した。RGS18 は  $G\alpha i$ ,  $G\alpha q$  に結合し, これらの GTPase 活性を促進する活性 (GAP 活性) を持っていた。巨核球コロニー形成を促進する SDF-1 を巨核球に作用させると RGS18 の  $G\alpha i$  への結合に影響を与えることから, RGS18 は巨核球の増殖, 分化, 移動に関与していると考えられる。

血液細胞増殖分化の支持細胞であるストローマ細胞にインターロイキン-1 (IL-1) によって誘導される新規の ankyrin repeat 構造を持つ核タンパク質 (INAP) の遺伝子を単離した。INAP は Bcl-3 や  $I\kappa B$  のメンバーと相同性があったが, RelA, NF- $\kappa B$ 1, NF- $\kappa B$ 2, C/EBP  $\beta$  と相互作用せず, IL-1 によって誘導される特異的遺伝子発現においてユニークな役割を演じていると思われる。

セントロメア複合体の構成因子としてヒトの CENP-H 遺伝子を単離した。HeLa 細胞における共焦点顕微鏡による観察により CENP-H は CENP-A, C と局在を共にした。CENP-H はそれ自身で重合してマルチマーを形成し, ヒトのセントロメア-キネトコア複合体の構成と機能にかかわっていると考えられる。

3. レチノイドによる生理機能調節のメカニズム解明

(1) 核内レチノイン酸受容体 (RAR/RXR) と転写因子 Sp1 との物理的相互作用を介する転写調節機構の解析 (小嶋, 鈴木<sup>\*1</sup>, 島田<sup>\*3</sup>)

レチノイドが血管内皮細胞や肝星細胞に働くと RAR の産生・活性化が起こり, RAR が Sp1 と物理的相互作用をする結果 Sp1 の構造が変化し, 標的配列 GC Box への結合が増強し, GC Box をプロモーターに有する TGF- $\beta$  やその受容体, 活性化酵素 ( $\alpha$ PA) の転写が促進され, TGF- $\beta$  の活性化を介して, 最終的に血管新生を阻害したり肝臓の線維化を増悪することを見いだした。RAR, Sp1 共に DNA 結合領域およびその近傍が相互作用に重要な役割を果たしていることが変異体を用いた解析から示唆された。今後は, 相互作用に必要なとされる領域をさらに絞り, 同相互作用を特異的に阻害するペプチドあるいはドミナントネガティブ変異体の作製を試みる。また, 血管形成を評価する *in vivo* 実験系としてニワトリ胚漿尿膜血管形成モデルを導入した。この実験系を用いて, レチノイドによる血管形成阻害には TGF- $\beta$  以外のどのような因子が関与しているのかを解析する予定である。

(2) トランスグルタミナーゼを介する新しい細胞死誘導機構の解析 (小嶋, 小林<sup>\*3</sup>)

タンパク質の Gln-Lys 残基間にイソペプチド結合による架

橋を形成する酵素, 組織トランスグルタミナーゼ (tTGase) は, Sp1 を架橋不活性化することによりカスパーゼ非依存性のアポトーシスを引き起こすことを見いだした。この現象は, tTGase を強制発現した NIH3T3 細胞やレチノイドによって内在性 TGase の発現を高めたヒト白血病細胞株 HL60, 肝がん細胞株 HuH7 において観察される。血管内皮細胞では, TGase の強制発現は必要ではなく, レチノイン酸などの刺激によって通常細胞質に存在する TGase が核に移行することがアポトーシス誘導に大事であること, このとき, TGase に存在する 2カ所の核移行シグナルが働いているらしいことを見いだした。また, TGase がカスパーゼ 3 により分解を受けることも分かった。

(3) 肝線維症・肝硬変の機構解明と新規治療・予防法の開発 (小嶋, 秋田<sup>\*3</sup>)

ラット肝線維化モデルにおいては, 肝臓が傷害を受けると肝星細胞に蓄えられているビタミン A の代謝が高まり, all-trans-, 9,13-di-cis- RA が生成し, 星細胞に働いて「RAR への結合・活性化 Sp1 の転写活性促進 PA 遺伝子の発現促進 細胞表面プラスミン活性の上昇 TGF-β 産生活性化の誘導 コラゲンの産生促進, およびコラーゲナーゼの産生抑制, 肝実質細胞の機能低下」という分子機序により肝線維症・肝硬変の病態形成が促進されることを報告してきた。今年度は, プロテアーゼ阻害剤によって TGF-β の活性化のプロセスを阻害すると肝線維化・肝硬変の発症を抑制できるだけでなく, 一旦発症した病態を改善できることを示した。一方, 感染症の際に見られる内毒素による肝再生不全時には, 内毒素により刺激を受けた Kupffer 細胞から TNF-α が放出され, これが肝星細胞に働くことと血漿カリクレインの細胞表面への結合が高まることによって血漿カリクレインによる TGF-β の活性化が起こり, 生じた TGF-β が肝細胞の増殖を抑えるという新しい TGF-β 活性化反応が起こっていることを見いだした。さらに, ヒト肝がん組織では, RXR α がリン酸化されることによって, その機能を失うとともに, 正常な分解を免れることを見いだした。

4. 造血幹細胞の個体発生的起源 (渥美, 上野<sup>\*3</sup>, 杉山<sup>\*3</sup>)

最近成体由来する神経幹細胞が神経系のみならず多様な体細胞に分化するという報告が相次いでいる。それは神経幹細胞がより未熟な多能性幹細胞にまで戻り得る可能性を示唆している。その機構を解明し, 未知の多能性, 体性幹細胞を同定するために, 神経幹細胞を *in vitro* で神経系以外の細胞に分化させる系を開発した。まず 14 日目の 129 マウス胎仔脳より, 神経幹細胞のクローン Br2/4 を樹立した。この細胞は bFGF と EGF を含む無血清培地で維持された。この細胞はネスチン陽性であり, アストロサイトに極めて分化しやすいアストロサイト前駆細胞の表現型をとりながら, 場合によっては神経細胞にも分化することができた。従って神経幹細胞のクローンということができた。次にこの細胞を中胚葉系へ分化誘導するために 10% ウシ胎児血清, BMP-4, bFGF とアクチピンを加えて浮遊培養し, 1 週間後よりラミニンコートしたディッシュに付着させて培養したところ, 1 週間後より, 神経系細胞のクラスターの周辺に上皮様の細胞 (MS 細胞) が出現した。MS 細胞はコンプレント後長期培養することによって脂肪細胞に

分化した。また BMP-4, bFGF, デキサメタゾン, TGF β, LIF を含む無血清培地中で浮遊培養することによって, 軟骨へ分化させることができた。脂肪細胞への分化はオイルレッド O による染色で, 軟骨への分化はアルシアンブルー染色や軟骨特異的プロテオグリカンに対する抗体, タイプ 2 コラーゲンに対する抗体による染色で確認した。MS 細胞は安定に維持することができ, かつ単一細胞由来のクローンを得ることも可能であった。

<sup>\*1</sup> 基礎科学特別研究員, <sup>\*2</sup> 研修生 (筑大大学院), <sup>\*3</sup> 研修生, <sup>\*4</sup> ジュニア・リサーチ・アソシエイト, <sup>\*5</sup> 協力研究員

## 誌上発表 Publications

(原著論文) \*印は査読制度がある論文誌

- Okuno M., Adachi S., Akita K., Moriwaki H., Kojima S., and Friedman S. L.: "Liver fibrosis and hepatic stellate cells", *Connect. Tissue* **32**, 401-406 (2000). \*
- Ellinger-Ziegelbauer H., Karasuyama H., Yamada E., Tsujikawa K., Todokoro K., and Nishida E.: "Ste20-like kinase (SLK), a regulatory kinase for polo-like kinase (Plk) during the G2/M transition in somatic cells", *Genes Cells* **5**, 491-498 (2000). \*
- Shimizu M., Hara A., Okuno M., Matsuno H., Okada K., Ueshima S., Matsuo O., Niwa M., Akita K., Yamada Y., Yoshimi N., Uematsu T., Kojima S., Friedman S. L., Moriwaki H., and Mori H.: "Mechanism of retarded liver regeneration in plasminogen activator-deficient mice: Impaired activation of hepatocyte growth factor after Fas-mediated massive hepatic apoptosis", *Hepatology* **33**, 569-576 (2001). \*
- Sugata N., Li S., Earnshaw W. C., Yen T. J., Yoda K., Masumoto H., Munekata E., Warburton P. E., and Todokoro K.: "Human CENP-H multimers colocalize with CENP-A and CENP-C at active centromere-kinetochore complexes", *Hum. Mol. Genet.* **9**, 2919-2926 (2000). \*
- Takeshima S., Ikegami M., Morita M., Nakai Y., and Aida Y.: "Identification of new cattle *BoLA-DRB3* alleles by sequence-based typing", *Immunogenetics* **53**, 74-81 (2001). \*
- Haruta H., Kato A., and Todokoro K.: "Isolation of a novel interleukin-1 inducible nuclear protein bearing ankyrin-repeat motifs", *J. Biol. Chem.* **276**, 12485-12488 (2001). \*
- Ueda H., Kawahara M., Aburatani T., Tsumoto K., Todokoro K., Suzuki E., Nishimura H., Schueler P. A., Winter G., Mahoney W. C., Kumagai I., and Nagamune T.: "Cell-growth control by monomeric antigen: The cell surface expression of lysozyme-specific Ig V-domains fused to truncated Epo receptor", *J. Immunol. Methods* **241**, 159-170 (2000). \*
- Inui T., Nakao M., Nishio H., Nishiuchi Y., Kojima S., Muramatsu T., and Kimura T.: "Solution synthesis and biological activity of human pleiotrophin, a novel heparin-binding neurotrophic factor consisting of 136

amino acid residues with five disulfide bonds”, *J. Peptide Res.* **55**, 384–397 (2000). \*

Nishizawa M., Kamata M., Katsumata R., and Aida Y.: “A carboxy-terminally truncated form of the human immunodeficiency virus type 1 Vpr protein induces apoptosis via G<sub>1</sub> cell cycle arrest”, *J. Virol.* **74**, 6058–6067 (2000). \*

Kamata M. and Aida Y.: “Two putative  $\alpha$ -helical domains of human immunodeficiency virus type 1 Vpr mediate nuclear localization by at least two mechanisms”, *J. Virol.* **74**, 7179–7186 (2000). \*

Tajima S. and Aida Y.: “The region between amino acids 245 and 265 of the bovine leukemia virus (BLV) tax protein restricts transactivation not only via the BLV enhancer but also via other retrovirus enhancers”, *J. Virol.* **74**, 10939–10949 (2000). \*

Esser D., Amanuma H., Yoshiki A., Kusakabe M., Rudolph R., and Boehm G.: “A hyperthermostable bacterial histone-like protein as an efficient mediator for transfection of eukaryotic cells”, *Nat. Biotechnol.* **18**, 1211–1213 (2000). \*

Nishizawa M., Kamata M., Myojin T., Nakai Y., and Aida Y.: “Induction of apoptosis by the Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 occurs independently of G<sub>2</sub> arrest of the cell cycle”, *Virology* **276**, 16–26 (2000). \*

#### ( 総 説 )

奥野正隆, 秋田國治, 小嶋聡一: “TGF- $\beta$  活性化抑制による肝線維化進展の阻止”, *BIO Clinica* **16**, 310–313 (2001).

永田由香, 戸所一雄: “MAPK とアポトーシス”, *血液・腫瘍科* **40**, 315–321 (2000).

小嶋聡一: “内皮細胞と線索系”, *血管と内皮* **10**, 305–314 (2000).

一瀬白帝, 小嶋聡一: “遺伝子と疾病研究の最前線をゆく (16) トランスグルタミナーゼ関連疾患の分子病態: タンパク質架橋結合反応の異常が多彩な疾病・病態を惹き起こす”, *実験医学* **18**, 1421–1425 (2000).

永田由香, 戸所一雄: “赤血球/巨核球の分化制御シグナル”, *分子細胞治療* **2**, 124–130 (2001).

#### ( その他 )

Aida Y., Takeshima S., Nagaoka Y., Ikegami M., Gotoh K., Kabeya H., Onuma M., and Okada K.: “The relationship between polymorphism of the MHC class II DR gene and resistance and susceptibility to bovine leukemia virus-induced lymphoma”, *Proc. Int. Veterinary Cytokine and Vaccine Conf.*, pp. 159–162 (2000).

間陽子: “免疫応答遺伝子の多型解析を用いたウシ抗病性品種確立のための基盤技術の開発”, *平成 11 年度食肉に関する助成研究調査成果報告書* **18**, 80–90 (2000).

#### 口 頭 発 表 Oral Presentations

##### ( 国際会議等 )

Mizuno Y., Okazaki Y., Sotomaru Y., Kohno T., Amanuma H., Muramatsu M., and Hayashizaki Y.: “High-throughput genome wide search for mice im-

printed genes using parthenogenote and androgenote with RIKEN full-length mouse cDNA microarray analysis”, 13th Ann. Cold Spring Harbor Meet. on Genome Sequencing & Biology, New York, USA, May (2000).

Okuno M., Akita K., Sano T., Nishiwaki R., Moriwaki H., and Kojima S.: “Acyclic retinoid on liver cancer and fibrosis”, Henry M. and Lillian Stratton Basic Research Single Topic Conf., (The American Association for the Study of Liver Diseases), Warrenton, USA, June (2000).

Kojima S., Akita K., Kawada N., Ikeda K., Kaneda K., Suzuki Y., Moriwaki H., and Okuno M.: “Fibrogenic role of plasminogen activator/plasmin: Prevention of rat hepatic fibrosis by protease inhibitor, camostat mesilate, via suppressing the formation of TGF- $\beta$ ”, Henry M. and Lillian Stratton Basic Research Single Topic Conf., (The American Association for the Study of Liver Diseases), Warrenton, USA, June (2000).

Kojima S., Suzuki Y., Shimada J., and Friedman S. L.: “Induction of fibrinolytic factors in vascular endothelial cells through GC box motifs”, 15th Int. Congr. on Fibrinolysis and Proteolysis, (International Committee for Fibrinolysis and Thrombolysis (ISFT)), Hamamatsu, June (2000).

Aida Y., Takeshima S., Nagaoka Y., Ikegami M., and Gotoh K.: “The relationship between polymorphism of the *BoLA-DRB3* gene and resistance or susceptibility to bovine leukemia virus-induced lymphoma”, 27th Int. Conf. on Animal Genetics (ISAG 2000), Minneapolis, USA, July (2000).

Konnai S., Nagaoka Y., Onuma M., and Aida Y.: “Analysis and frequency of *OLA-DRB1* alleles in Suffolk, Cheviot, Corriedale sheep”, 27th Int. Conf. on Animal Genetics (ISAG 2000), Minneapolis, USA, July (2000).

Takeshima S., Ikegami M., Nakai Y., Morita M., and Aida Y.: “Identification of *BoLA-DRB3* in Japanese black cattle by PCR sequence-based typing”, 27th Int. Conf. on Animal Genetics (ISAG 2000), Minneapolis, USA, July (2000).

Aida Y.: “Identifying DRB3 alleles by sequence-based typing”, 27th Int. Conf. on Animal Genetics (ISAG 2000), Minneapolis, USA, July (2000).

Kojima S.: “A novel mechanism by which transglutaminase induces apoptosis: Cross-linking of transcription factor Sp1 by tissue transglutaminase”, 6th Int. Conf. on Transglutaminase and Protein Crosslinking, (CovalAb R&D, GALDERMA R&D, L’OREAL Recherche, European Science Foundation, Le Grand Lyon, and L’Office du Tourisme de Lyon), Lyon, France, Sept. (2000).

Kojima S., Shimokado K., Suzuki Y., and Friedman S. L.: “Transcriptional activation of urokinase by the Kruppel-like factor ZF9 in vascular endothelial cells”, 11th Int. Vascular Biology Meet., Geneva, Switzerland, Sept. (2000).

Suzuki Y., Shimada J., and Kojima S.: “Transcriptional regulation via physical interaction between RAR/RXR

- and Sp1 in the vascular endothelial cells”, 11th Int. Vascular Biology Meet., Geneva, Switzerland, Sept. (2000).
- Aida Y., Takeshima S., Nagaoka Y., Ikegami M., Gotoh K., Kabeya H., Onuma M., and Okada K.: “Relationship between polymorphism of the MHC class II DRB gene and resistance and susceptibility to development of bovine leukemia virus-induced lymphoma”, 5th Int. Symp. on Predictive Oncology and Therapy, (International Society for Preventive Oncology), Geneva, Switzerland, Oct. (2000).
- Mizuno Y., Okazaki Y., Tomaru Y., Kiyosawa H., Sotomaru Y., Kohno T., Amanuma H., Muramatsu M., and Hayashizaki Y.: “High-throughput genome wide search for mice imprinted genes using parthenogenote and androgenote with RIKEN full-length mouse cDNA microarray analysis”, 14th Int. Mouse Genome Conf. (IMGC 2000), (International Mammalian Genome Society), Narita, Nov. (2000).
- (国内会議)
- 今内覚, 長岡淑子, 岡田幸助, 小沼操, 間陽子: “OLA-DRB1 アリルの塩基配列の決定と PCR-RFLP 法の開発”, 第 129 回日本獣医学会学術集会, つくば, 4 月 (2000).
- 竹嶋伸之輔, 池上美絵, 森田光夫, 中井裕, 間陽子: “PCR-Sequence-Based Typing (PCR-SBT) 法を用いたウシ MHC クラス II 遺伝子の塩基配列の決定”, 第 129 回日本獣医学会学術集会, つくば, 4 月 (2000).
- 田島茂, 間陽子: “牛白血病ウイルス BLV Tax 変異体による HTLV-I および *c-fos* 遺伝子エンハンサー配列の活性化”, 第 129 回日本獣医学会学術集会, つくば, 4 月 (2000).
- 間陽子, 竹嶋伸之輔, 池上美絵, 岡田幸助: “牛白血病ウイルス感染牛のウシ MHC クラス II 遺伝子の解析”, 第 129 回日本獣医学会学術集会, つくば, 4 月 (2000).
- 高橋雅彦, 田島茂, 間陽子: “高活性 *tax* 遺伝子を有する牛白血病ウイルス (BLV) 感染性分子クローンの解析”, 第 129 回日本獣医学会学術集会, つくば, 4 月 (2000).
- 間陽子: “平成 12 年度日本獣医学会賞受賞者講演: 牛白血病ウイルスによる白血球発症の感受性を規定するウシ MHC クラス II 遺伝子の分子生物学的解析とその臨床応用”, 第 129 回日本獣医学会学術集会, つくば, 4 月 (2000).
- 小嶋聡一: “トランスグルタミナーゼとアポトーシス”, 第 5 回 Vascular Medicine 学会, 東京, 7 月 (2000).
- 戸所一雄: “新規キネトコア蛋白質と染色体構造”, 国立遺伝学研究会「染色体分配の生物学」, 三島, 10 月 (2000).
- 高木道浩, 片倉博, 間陽子, 田島茂, 岡田幸助, 大橋和彦, 杉本千尋, 小沼操: “ウシ白血球ウイルス感染ヒツジにおけるアポトーシス関連遺伝子の動態”, 第 130 回日本獣医学会, (大阪府立大学・農), 堺, 10 月 (2000).
- 渥美忠男: “ES 細胞系を用いた各種幹細胞間の相互関係の解析”, 第 53 回日本細胞生物学会大会, 福岡, 10 月 (2000).
- 久保嘉直, 天沼宏: “*c-fos* 癌遺伝子により発現が上昇する新規細胞接着因子の機能解析”, 第 59 回日本癌学会総会, 横浜, 10 月 (2000).
- 久保嘉直, 片根真澄, 高尾英子, 天沼宏: “マウスレトロウイルスエンベロープ蛋白質細胞内領域の機能解析”, 第 73 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (2000).
- 小嶋聡一, 佐野哲朗, 鈴木康弘, 森脇久隆, 奥野正隆: “非環式レチノイドによるトランスグルタミナーゼを介する肝癌細胞のアポトーシス誘導”, 第 73 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (2000).
- 磯貝まや, 渡邊俊樹, 間陽子: “HIV-1 Vpr と HHR23A-UBA ドメインとの結合部位の解析および機能との相関”, 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 10-11 月 (2000).
- 蒲田政和, 間陽子: “HIV-1 Vpr 蛋白には機構の異なる二つの核移行シグナルが存在する”, 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 10-11 月 (2000).
- 田島茂, 間陽子: “ウシ白血球ウイルス (BLV) Tax 変異体による CRE 配列非依存的転写活性化”, 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 10-11 月 (2000).
- 高木道浩, 間陽子, 田島茂, 大橋和彦, 小沼操: “ウシ白血球ウイルス (BLV) 感染ヒツジにおけるアポトーシス関連遺伝子の動態”, 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 10-11 月 (2000).
- 小嶋聡一: “レチノイドによる転写因子 Sp1 の機能制御”, 第 11 回日本レチノイド研究会, 岐阜, 11 月 (2000).
- 小嶋聡一, 秋田國治, 森脇久隆, 河田則文, 奥野正隆: “TNF- $\alpha$  による肝星細胞における血漿カリクレイン依存 TGF- $\beta$  活性化の誘導”, 第 23 回日本血栓止血学会学術集会, (名古屋大学医学部内科学第一講座第三研究室), 名古屋, 11 月 (2000).
- 鈴木康弘, 芦野洋美, 小嶋聡一: “レチノイドによる TGF- $\beta$  を介する血管新生阻害効果”, 第 8 回日本血管細胞生物学会, (東京医科歯科大学医学部循環制御学第三内科), 東京, 11 月 (2000).
- 小嶋聡一, 小林光輝, 島田純, 鈴木康弘: “組織トランスグルタミナーゼによる新規アポトーシス誘導機構”, 第 8 回日本血管細胞生物学会, 東京, 11 月 (2000).
- 磯貝まや, 渡邊俊樹, 間陽子: “HHR23A UBA ドメインと結合する HIV-1 Vpr ドメインの同定および機能との関連”, 第 14 回日本エイズ学会学術集会・総会, 京都, 11-12 月 (2000).
- 蒲田政和, 間陽子: “HIV-1 Vpr 蛋白核移行の分子機序”, 第 14 回日本エイズ学会学術集会・総会, 京都, 11-12 月 (2000).
- 須賀田直子, Li S., Earnshaw W. C., Yen T. J., 宗像英輔, 依田欣哉, 舛本寛, 戸所一雄: “CENP-H マルチマーは活性化セントロメア/キネトコアを構成する”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 高尾英子, 片根真澄, 久保嘉直, 王翼飛, 皿井明倫, 天沼宏: “CXCR4 標的化マウスレトロウイルス (RV) ベクターの作製”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 水野洋介, 岡崎康司, 外丸靖浩, 清澤秀孔, 外丸祐介, 河野友宏, 天沼宏, 村松正實, 林崎良英: “High-throughput genome wide search for mouse imprinted genes using parthenogenote and androgenote with RIKEN full-length mouse cDNA microarray analysis”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 加藤明, 春田洋孝, 戸所一雄: “インターロイキン 1 によって誘導される新規アンキリンモチーフ蛋白質の単離・同定”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 永田由香, 小田昌朗, 小笹徹, 戸所一雄, 小田昌朗: “新規

RGS 蛋白質ファミリーのクローニングとその機能解析”,  
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).  
三上剛和, 西橋 藍, 須賀田直子, 戸所一雄, 池村淑道, 深川  
竜郎: “新規セントロメアタンパク質 CENP-H の機能解  
析”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).

---

### *Research Subjects and Members of Molecular Cell Science Laboratory*

1. Biomedical Studies on Retroviruses
2. Studies on Regulatory Mechanisms of Cell Growth,  
Differentiation, and Cell Cycle
3. Mechanism of Regulation of Cellular Function by  
Retinoid
4. Characterization of Multipotent Somatic Stem Cells

### *Head*

Dr. Hiroshi AMANUMA

### *Members*

Dr. Kazuo TODOKORO  
Dr. Masanori OBATA  
Dr. Tadao ATSUMI  
Dr. Yoko AIDA  
Dr. Soichi KOJIMA  
Dr. Katsuya ISHIHARA \*<sup>1</sup>  
Dr. Masakazu KAMATA \*<sup>1</sup>  
Dr. Akira KATO \*<sup>1</sup>  
Dr. Yoshinao KUBO \*<sup>1</sup>  
Dr. Kenichi KUSANO \*<sup>1</sup>  
Dr. Yasuhiro SUZUKI \*<sup>1</sup>  
Dr. Shigeru TAJIMA \*<sup>1</sup>  
Dr. Hirotaka HARUTA \*<sup>2</sup>  
Dr. Yasuhiro KURASAWA \*<sup>2</sup>

Dr. Yuko MOCHIZUKI \*<sup>2</sup>  
Dr. Yuka NAGATA \*<sup>2</sup>

---

\*<sup>1</sup> Special Postdoctoral Researcher

\*<sup>2</sup> Contract Researcher

### *Visiting Members*

Dr. Yoji IKAWA (Fac. Med., Tokyo Med. Dent. Univ.)  
Ms. Maya ISOGAI (Grad. Sch. Med., Univ. Tokyo)  
Ms. Terue KUROSAWA (Jpn. Health Sci. Found.)  
Dr. Kosuke OKADA (Fac. Agr., Iwate Univ.)  
Mr. Shinnosuke TAKESHIMA (Grad. Sch. Agr. Sci.,  
Tohoku Univ.)  
Ms. Kyoko YAMADA (Jpn. Health Sci. Found.)

### *Trainees*

Mr. Kuniharu AKITA (Grad. Sch. Med., Gifu Univ.)  
Ms. Sayuki IJIMA (Grad. Sch. Med., Univ. Tsukuba)  
Mr. Masumi KATANE (Inst. Biol. Sci., Univ. Tsukuba)  
Mr. Mitsuteru KOBAYASHI (Biosyst. Studies, Univ.  
Tsukuba)  
Mr. Satoru KONNAI (Grad. Sch. Vet. Med., Hokkaido  
Univ.)  
Mr. Madoka KURAMITSU (Grad. Sch. Life Environ.  
Sci., Univ. Tsukuba)  
Mr. Masaaki ODA (Grad. Sch. Biostudies, Kyoto Univ.)  
Ms. Jyun SHIMADA (Biosyst. Studies, Univ. Tsukuba)  
Ms. Yuka SHOZAKI (Grad. Sch. Med., Univ. Tsukuba)  
Ms. Naoko SUGATA (Grad. Sch. Agr., Univ. Tsukuba)  
Ms. Kayo SUGIYAMA (Biol. Sci. Tech., Sci. Univ.  
Tokyo)  
Mr. Masahiko TAKAHASHI (Inst. Biol. Sci., Univ.  
Tsukuba)  
Ms. Eiko TAKAO (Biosyst. Studies, Univ. Tsukuba)  
Mr. Masami UENO (Grad. Sch. Biol. Sci. Tech., Sci.  
Univ. Tokyo)