

## 8 . 免疫 部

### 部 長 竹 森 利 忠

#### 概 要

生体防御の主要な役割を果たす免疫システムは、異なった組織に局在する多数の細胞の協同作用により維持される。従って免疫部において遂行する業務、研究には、その多面性に対応するため、また明確な結論を導きだすために、幅広い領域にわたる有能な免疫学の専門家を必要とする。この形態の維持は、研究費および有能な人材の確保、および、周囲の理解を必要とする。

平成17年度、免疫部では体外診断薬委員会運営、体外診断薬検査業務、国際協力、検定検査の免疫学的評価、日本脳炎ワクチン副反応の免疫学的評価に多くの部員が参加し、多くの領域で definitive な結果を得た。また体外診断薬検査において、検査の際に外国の市販の血清パネルの購買に頼らず我々独自の血清パネルを整備することが望ましく、この作業に着手した。

研究においては、不活化全粒子インフルエンザワクチン接種により IFN $\alpha$  が産生され、その結果白血球数減少が誘導されること、UV とホルマリンの両者で不活化された全粒子 SARS-CoV が有効なワクチン効果を示すことを動物モデルを用いて明らかにし、さらに新規結核ワクチンの先駆的方向が示され、HIV 感染による免疫不全発症要因が明確な形で提示され、記憶 B 細胞選択に関する主要因子の一つが明らかにされた。また、新型インフルエンザウイルスプロトタイプワクチンの有効性評価に関する研究、劇症型溶連菌感染における宿主防御に関する研究、抗酸菌由来新規免疫誘導遺伝子の同定を目的とした研究が開始された。

免疫部の活動に関して感染研内で有形無形の論議があり、結核部に戻れば良いなどの意見もあり悩まされもした。免疫学の研究者としての質の高い研究活動と内外への発信、感染研の一員として行政的活動への積極的かつ主体性を持った参加に心を砕き、部の発展を祈ったが、果たしてこの願いは成就したのであろうか。ともあれ、長年にわたり多くのディスカッションと多大なベンチワークと努力を持って、種々の問題の解決に動んだ職員各位に改めて感謝の意を表す。

人事では、平成18年3月に竹森利忠部長、赤川清子

室長が定年退官、橋本修一、加地友弘、倉岡雅征研究員が退職した。また12年間免疫部事務を補佐した辻本みゆき非常勤職員が退職した。赤川清子室長は結核部時代を含め30年以上の長きにわたって国立予防衛生研究所 / 感染研に勤務され、免疫部の発展に尽力された。

#### 業 績

##### 調査・研究

##### I . 感染免疫に関する研究

##### 1 . ウイルス感染免疫

##### ( 1 ) C 型肝炎ウイルス

C 型肝炎患者血液中及び肝組織内に HCV ウイルス short RNA が存在しその量比がウイルスの感染性、活動性と逆相関することを明らかにし発表した。(J Viral Hepatitis in press) この short RNA 産生維持機構の解析を通してウイルス複製のメカニズムを解析し、効率よいウイルス細胞培養系を確立する目的で、C 型肝炎治療におけるインターフェロン( IFN ) の治療効果判定に short RNA が有用か検討した。short RNA の量比はウイルスの感染性、活動性と逆相関し IFN 治療効果判定の正解率は 77.1% であることから short RNA 検出は治療効果判定の有用な基準となることが明らかとなった。(大島正道、清水洋子( 日大医学部、感染研協力研究員 ) 土方美奈子( 国立国際医療セ )、吉倉 廣( F A O / W H O 合同食品規格計画 : CODEX ))

##### ( 2 ) ヒト免疫不全ウイルス ( HIV )

##### ア . HIV<sub>nef</sub>遺伝子特異的なshRNAを用いたHIV-1 増殖制御効果

RNA interference(RNAi)による遺伝子特異的なエイズ治療法の開発をめざし、レンチウイルスベクターによる shRNA 発現系を確立した。標的遺伝子として Nef が 3'LTR に重複する Nef 遺伝子の 366 番目の領域の shNef366 を選択し、その RNAi 効果を U937 細胞及び初期培養マクロファージで解析した。その結果、shNef366 はこれらの細胞における HIV-1 増殖を抑制するのみならず、潜伏感染からの活性化も抑制することを明らかにした。更に、Nef

により増強誘導されるマクロファージ由来ケモカイン MIP-1β の産生抑制効果も認め、shNef366 発現レンチウイルスベクターを用いることにより Nef が関わる病態形成の制御が可能であることが示唆された。(山本拓也(東大医科研博士課程・研究生)、三好浩之(理研バイオリソースセンター)、山本典生(東京医歯大・微生物)、山本直樹(エイズ研究センター)、井上純一郎(東大医科学研究所・ウイルス制御)、横田恭子)

#### イ．HIV-1 感染における特異的 T 細胞の活性化評価システムの確立

T 細胞の抗原特異的な反応を幅広く解析するため、IFN- $\gamma$  のプロモーター活性を検出するインディケーターレンチウイルスを作製した。静止期にある PBMC にインディケーターレンチウイルスを感染させると同時にスーパー抗原である SEB で T 細胞を活性化すると、感染 2 日後には 50%以上の T 細胞が GFP を発現していた。更に増殖期にある T 細胞では、90%以上の細胞に遺伝子導入が可能であることが示された。従ってこのインディケーターレンチウイルスを用い、HIV-1 感染者の抗原特異的な T 細胞の動態を多重染色フローサイトメーター(FACS)解析することが可能であることが示唆された。(横田恭子、山本拓也(東大医科研博士課程・研究生)、Brigitte Autran(パリ大学 Pitie Salpetriere Hospital))

#### ウ．HIV-Nef 発現による免疫不全発症機構の解明

HIVNef 発現による T 細胞免疫への影響を明らかにするため、OVA 特異的 T 細胞抗原受容体トランスジェニックマウス(TGM)と、コクサッキー・アデノウイルス受容体 TGM をかけあわせた double TGM を作成した。このマウスより精製した CD4+T 細胞に Nef 発現アデノウイルス、CD4 の発現抑制を起こさない Nef 変異体発現ウイルス(nef $\Delta$ CD4)を感染させ、FACS を用いて Nef 発現、Nef $\Delta$ CD4 発現、および Nef 非発現 T 細胞を分離後個体に移入し、T 細胞機能を検討した。その結果、Nef 発現細胞は、非発現細胞と比べ抗原刺激に対する活性化が低下し、所属リンパ節への移動も抑制された。さらに、Nef 発現により、二次応答における CD4+T 細胞のヘルパー機能が低下することが示された。しかしこれらの T 細胞の異常は Nef による CD4 発現抑制とは無関係であった。これらの結果から、Nef 発現により CD4+T 細胞の抗原刺激に対する活性化が低下し免疫不全の要因の一つとなる可能性が示唆された。(藤猪英樹(協力研究員)、阿戸学、高橋宜聖、橋本修一、加地友弘、竹森利忠)

#### エ．ヒト単球由来マクロファージにおけるマクロファージ指向性 HIV の増殖応答の解析

昨年度 M-tropic HIV-1 に感受性を示すヒト単球由来マクロファージにおいてエリスロマシ(EM)誘導体の一部にウイルス増殖抑制作用があることを報告したが、今回その作用機序について検討した。その結果、ウイルス産生を認めた EM 誘導体を添加した群では、対照群と同様に Hck 蛋白の発現が高く、高分子型 C/EBP $\beta$  蛋白の発現を認めるとともに、p38MAPK の強い燐酸化が認められた。一方ウイルス産生の抑制作用を示した EM201 および EM703 を添加した群では、Hck 蛋白の発現が低く、低分子型 C/EBP $\beta$  蛋白の発現を強く認めるとともに、p38MAPK の燐酸化の抑制と ERK1/2 の強い燐酸化が認められた。また、p38MAPK の燐酸化阻害剤である SB203580 もウイルスの増殖を抑制した。しかし、ERK1/2 の上流の MEK の阻害剤である PD98059 は抑制作用を示さなかった。これらの結果より、M-tropic HIV-1 の増殖抑制には宿主側細胞における p38MAPK の燐酸化の抑制と ERK1/2 の燐酸化が重要な役割を果たしていることが示唆された。(小室 巖、砂塚敏明、大村 智(北里大学北里生命科学研究所)、岩本愛吉(東大医科研・感染)、赤川清子)

#### (3) 新型インフルエンザウイルス

##### ア．H5N1 型不活化全粒子ワクチンにより惹起される免疫応答の解析

新型インフルエンザの大流行に備え、感染防御効果の優れたワクチン開発が急務とされる。しかし流行が予測される H5N1 型の不活化全粒子ワクチンは、現行のワクチンに比べ抗体惹起能が劣る可能性が示唆され、その原因の究明と免疫原性の改善を促す技術開発が必要である。本研究は、H5N1 型ワクチン株(NIBRG-14 株)と内部タンパクが同一な H1N1 型対照株(PR8)を用い自然免疫賦活能を調べる目的で IFN- $\gamma$  産生誘導能を比較した。その結果、ワクチン接種後短時間で誘導される IFN- $\gamma$  産生量が H5N1 型のワクチン株で著明に低いことが明らかとなった。(高橋宜聖、阿戸学、倉岡雅征、二宮 愛(ウイルス 3 部)、小田切孝人(ウイルス 3 部)、田代真人(ウイルス 3 部)、竹森利忠)

#### (4) 重症急性呼吸器症候群(SARS-CoV)

##### ア．感染によるアポトーシス感受性についての解析

SARS-CoV は VeroE6 細胞で効率よく増殖しアポトーシスを誘導する。我々は SARS-CoV による CPE 効果を規定する細胞因子を明らかにするため、VeroE6 の CPE のないクローン(CP-)と有るクローン(CP+)を確立した。高い

moi(>0.1)で感染 48 時間後のウイルス産生量は両クローンで大差がない。低い moi(<0.001)では、CP(-)は感染 4 日後にウイルス産生が最大に達した。(CP-)は ACE2 の発現が低いことから、細胞内に侵入した初期ウイルス量がウイルス増殖速度を決定していると考えられる。しかし最終的な CPE の有無はウイルス産生量ではなく、ウイルスの増殖過程でウイルスと作用する何らかの細胞側の因子が関与することが示唆された。(横田恭子、森島貴義(東京医薬専門学校・実習生)、高木弘隆(バイオセーフティ管理室)、山本拓也、大島正道、水谷哲也(ウイルス 1 部)、森川茂(ウイルス 1 部))

## 2. 細菌

### (1) 結核菌

#### ア. 感染ヒト単球由来マクロファージにおける Hck 及び C/EBP $\beta$ の発現

ヒト単球由来 M 型 M $\phi$  は、結核菌の殺菌を、また GM 型 M $\phi$  は結核菌の増殖を促す。今回、両 M $\phi$  におけるチロシンキナーゼ Hck 及び転写因子 C/EBP $\beta$  の発現と M $\phi$  の結核菌殺菌及び増殖抑制活性の活性化との関連を検討した。その結果、M 型 M $\phi$  は、Hck を強く発現しているが、結核菌感染によりその発現はさらに増強が認められた。また、C/EBP $\beta$  の発現は、Large アイソフォームの発現が主で Small アイソフォームの発現はほとんど認められないが、結核菌感染により Large および Small の両者の強い発現増強が誘導された。一方、GM 型 M $\phi$  は Hck の発現は弱く、C/EBP $\beta$  は small アイソフォームの強い発現を認めるが、いずれの蛋白も結核菌感染によって発現変化は認められなかった。しかし、IL-10 処理 GM 型 M $\phi$  では、結核菌感染により未処理 GM 型 M $\phi$  と異なり Hck および C/EBP $\beta$  の強い発現増強を認めた。これらのことより、Hck および C/EBP $\beta$  が、M $\phi$  の結核菌の殺菌作用あるいは増殖抑制作用に重要な役割を果たしていることが強く示唆された。(赤川清子、山崎利雄(細菌第一部))

#### イ. トランスポゾンを用いた抗酸菌由来新規免疫誘導遺伝子の同定

生菌による免疫誘導は、死菌や菌構成成分の投与と比較して強力で、かつ長期にわたるが、未だその分子機構は不明である。本研究は、挿入配列として既知のマウス T 細胞特異的抗原ペプチドをコードするトランスポゾンを挿入した非結核抗酸菌 *Mycobacterium fortuitum* 変異株をスクリーニングし、最終的には宿主免疫応答を促進するのに必要な結核菌遺伝子を同定することを目的とする。マウス CD8 陽性 T 細胞特異的抗原ペプチド群のデータベ

ースを作成し、ペプチドを *M. fortuitum* のコドン読み枠に変換した DNA を含むトランスポゾン配列を精製した。今後、異なるペプチドを発現する変異株群をマウスに感染させ、宿主免疫誘導に障害を持つ変異株のトランスポゾン挿入部位を同定することによって、宿主免疫を修飾する新規抗酸菌遺伝子を同定する予定である。(阿戸学、大西眞(細菌第一部)、渡邊治雄(細菌第一部)、竹森利忠)

### (2) 劇症型溶連菌

#### ア. 感染における宿主防御機構修飾

A 群溶連菌 (GAS) の劇症型感染は致死率の高い病態を形成する。我々は、劇症株による重症化が宿主の防御機構の障害に依存する可能性を考え、GAS M49 株の中で劇症型感染分離株と通常感染分離株を、GAS に対する主要な防御担当細胞であるヒト好中球、または線維芽細胞株に *in vitro* で感染させ、貪食能、遊走能、殺菌能をそれぞれ比較解析した。M49 型劇症株の好中球の貪食、遊走に対する阻害作用、また、線維芽細胞株の殺菌抵抗性に関しては、株間の差が大きく、臨床像につながる劇症株の一般的傾向は抽出できなかった。一方、好中球による劇症株の殺菌能は、通常株と比較して有意に障害されていることが明らかとなった。以上より、劇症型感染を引き起こす M49 型 GAS は、好中球に対する殺菌抵抗性を通じて重症化する可能性が示唆された。(阿戸学、池辺忠義(細菌第一部)、渡邊治雄(細菌第一部)、竹森利忠)

### (3) プリオン

#### ア. 免疫系における増殖・伝播機構の研究

食物摂取により生体に侵入した異常プリオンが神経症状を引き起こす過程で免疫系の介在が必須であることが知られている。この感染初期に免疫系でおこる異常型プリオンの伝播機構を知る目的で、プリオン病発症過程に伴う免疫系構築細胞への異常型プリオン蓄積の定量と免疫担当細胞培養系を用いた異常プリオン伝播の試験管内モデルシステムの構築を行っている。BSE トランスジェニックマウス・モデルにおいて、感染後期には、濾胞樹状細胞 (FDC) に加えて脾臓 B 細胞にも高濃度で異常型プリオンが蓄積することを免疫学的手法を用いて確認した。この異常型プリオン保持 B 細胞を、ハイブリドーマ法を用いて多数株化した。また、感染マウス脾臓から上皮・内皮細胞、マクロファージ様細胞、FDC 様細胞の株化を進めており、異常プリオン形成に関与する免疫関連因子を探索している。(大西和夫、山口沙由里、樋口好美(感染病理部)、佐多徹太郎(感染病理部)、山河芳夫(細胞化学部))

#### (4) 原虫・寄生虫

##### A. 内蔵リウマチ症防御免疫成立機構の解析

内蔵リウマチ症は致死的原虫感染症である。ヒトの病態をよく反映する感染マウスモデルを用いて、感染免疫の成立機構を解析した結果、感染初期に脾臓の樹状細胞(DC)が IL-12 を産生し感染特異的 T 細胞免疫を誘導することが判明した。一方、DC の T 細胞領域への移動に必要なケモカイン CCL19 / 21 を欠損する *plt/plt* マウスでは、感染脾臓 DC の活性化と DC からの IL-12 産生が障害された結果、エフェクター期での抑制性サイトカイン IL-10 の産生が亢進し、感染感受性亢進が認められた。以上より、感染初期において、DC が脾臓 T 細胞領域へ遊走することが、IL-12 産生誘導および感染免疫の成立に重要であることが考えられた。(阿戸 学、中野英樹、垣内史堂(東邦大)、Asher Maroof、Soombul Zubairi、Paul Kaye(London School of Hygiene and Tropical Medicine))

##### I. マラリア感染防御に関する免疫細胞の同定

マラリア感染防御に必須な免疫因子を同定することを目的とし、マウスマラリア *Plasmodium chabaudi* 感染モデルを用いて、紫外線(UV)照射による抗マラリア免疫応答の抑制機構を解析した。その結果、UV による感染感受性の亢進には脾臓 myeloid 系細胞の機能修飾が関与している可能性が示唆された。一方、UV によるマラリア感染感受性の亢進は、抑制性サイトカイン IL-10 非依存性であることが、IL-10 KO マウスを用いた実験から確定された。今後、この UV によるマラリア感染感受性責任分子の究明が課題である。(山本紀一(協力研究員)、高橋宜聖、藤猪英樹(協力研究員)、阿戸 学、竹森利忠)

##### ウ. 住血吸虫感染防御に関する研究

マラリアに次ぐ重要な国際寄生虫感染症である住血吸虫症の感染防御を誘導する感作方法の確立とワクチンへの応用を目指している。本症は、治療後も何度も再感染をする、獲得免疫が獲られ難い疾患の1つで、感染防御ワクチンの作製が望まれている。実験は、初めに弱毒化幼虫作製が試みられ、DNA 合成阻害剤1種に、マウスへの感染は成立するが発症はしない幼虫の作製を可能にするものの有る事が判明。次にこの弱毒幼虫感作マウスに、住血吸虫の自然感染を行い、感染防御効果が調べられた。結果は、強い防御効果が得られた。この防御効果をより強くする目的で、幾つかのアジュバント併用実験が更に行われ、BCG、PPD には、感作増強効果は認められなかったが、サポニンには増強効果が認められた。この効果

をさらに強く(90 - 100%近く)する目的で FK565 (藤沢製薬) 水酸化アルミニウムゲルなどの混合アジュバントの実験が進行している。(平山中己、朝日博子(寄生動物部)、吉成正裕(横浜市立大学)、南 陸彦(横浜市立大学)、金澤 保(産業医科大学))

## II. ワクチンに関する研究

### 1. 抗結核菌ワクチン

#### (1) BCG 発現のための協力プロモーターの検索

BCG での外来性抗原の発現を高めるため、頻繁に使用されている BCG のヒートショック蛋白(HSP60)プロモーター以外の新規プロモーターをスメグマ菌より検索した。形の如く、*Mycobacterium smegmatis* よりゲノム DNA を抽出し、500-1200bp の断片を、xyl 酵素遺伝子のの上流に挿入し、プロモーターライブラリーを作成した。このライブラリーで、スメグマ菌および BCG を形質転換し、BCG の HSP60 プロモーターとほぼ同程度の新しいスメグマ菌のプロモーターをクローニングした。このプロモーターは、BCG 内でインターフェロン-ガンマの発現を HSP60 プロモーターと同程度発現することを確認した。(谷山忠義、橋本直樹(研究生、早稲田大学)、橋本和治(研究生、早稲田大学))

#### (2) リコンビナント BCG のサルでの抗結核防御効果の検討

BCG のワクチン効果に疑問が持たれていることから、BCG 株を遺伝子工学的手法で強力な抗結核菌ワクチンを作成することを目指している。我々は、BCG 東京株に Mpt64 抗原とサル IFN- の両者を発現するリコンビナント BCG を作成し、サルを用いた抗結核ワクチン効果を、BCG 東京株と比較した。その結果、リコンビナント BCG をサルに一回投与した群では、BCG 東京株(1回)とほぼ同程度が若干よい効果があった。リコンビナント BCG の3回投与では、BCG 東京株(一回)より強い防御効果を示した。(谷山忠義、菅原 勇(協力研究員、結核研究所)、宇田川忠(協力研究員、結核研究所))

#### (3) リコンビナント BCG (Ag85A) と Ag85A ペプチドの投与による強い抗結核防御効果の誘導

我々は、Ag85A を発現するリコンビナント BCG と Ag85A ペプチド投与による抗結核防御効果の誘導について、Ag85A を誘導する DNA ワクチンと比較検討した。その結果、リコンビナント BCG (Ag85A) や Ag85A を誘導する DNA ワクチンの単独より、リコンビナント BCG (Ag85A) と Ag85A ペプチドの併用投与により、強い抗

結核防御効果が得られた。この防御効果は、市販の BCG 東京株の抗結核防御効果より明らかに強かった。(菅原勇(協力研究員、結核研究所)、宇田川忠(協力研究員、結核研究所)、谷山忠義)

## 2. 日本脳炎ワクチン接種による副反応の免疫学的基盤に基づく評価

日本脳炎ワクチン接種後に急性散在性脳脊髄炎(ADEM)の発症例が報告され、ADEM の発症要因として現行ワクチンがマウスの脳成分を含むことが指摘されている。本研究では、日本脳炎ワクチン中の物質により、ADEM 類似の神経系疾患である実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)をマウスに誘導できるかについて、自己免疫感受性である SJL/J 系統マウスを用いて検証した。まず、SJL/J マウスをマウス脊髄破砕物で免疫し誘導された T 細胞を現行ワクチンと共に培養しても、特異的 T 細胞の反応は起こらず、現行ワクチン中には中枢神経成分特異的な T 細胞の反応を誘導する脳由来成分は含まれていないことが明らかとなった。次に SJL/J マウスの EAE モデルにおいて、日本脳炎ワクチンを免疫原として用いた場合にはヒトに用いる 1000 倍量のワクチンを投与しても EAE は誘導されなかった。一方百日咳毒素の投与は EAE 発症を亢進させ、これは脳血液関門の透過性の亢進を起因とした血球系細胞の脳組織への侵入が原因とされる。我々の解析ではヒトに用いる 1000 倍量の日本脳炎ワクチンを投与した場合、百日咳毒素と同様に EAE 発症を促進する効果を示すことが観察された。これらの結果、日本脳炎ワクチンはアジュバントとして実験的マウス EAE 発症に関与する可能性を有するものの、ワクチン中の物質そのものが免疫原として働くことは無いと考えられる。(橋本修一、阿戸 学、高橋宣聖、倉岡雅征、加地友弘、前田 基、山本紀一(協力研究員)、高崎智彦、倉根一郎(ウイルス第一部)、竹森利忠)

## 3. インフルエンザワクチン安全性試験としての白血球減少試験の免疫学的検証

インフルエンザワクチン検定の白血球減少試験における白血球減少活性の免疫学的意義を明らかにするため、ワクチン投与後のマウス各臓器の白血球数と血中サイトカイン濃度を測定した。その結果、全粒子ワクチン投与後の末梢血中白血球減少は、T 細胞、B 細胞、顆粒球分画で検出された。同力価の HA ワクチンと全粒子ワクチンの投与比較においては、全粒子ワクチン群に、白血球減少と血中インターフェロンアルファ(IFN $\alpha$ )濃度の著しい上昇を認め、一方、IFN / レセプター欠損マウスで

は白血球減少が認められなかった。以上より、ワクチンによる白血球減少は、全粒子ワクチンによって産生誘導された IFN $\alpha$  を介して起こることが示された。(阿戸学、高橋宣聖、藤猪英樹(協力研究員)、橋本修一、加地友弘、山本紀一(協力研究員)、板村繁之、田代真人(ウイルス第三部)、堀内善信、荒川宜親(細菌第二部)、竹森利忠)

## 4. SARS-CoV ワクチン：UV 不活化と UV 不活後ホルマリン処理した SARS-CoV 全粒子のワクチン効果の比較

UV 照射不活化 SARS-CoV(UV-V)と、更にホルマリン処理を加えた SARS-CoV(UV-F-V)をアラムアジュバント混合あるいは単独で 2 回皮下に免疫しワクチン効果について検討した。両群のマウスともほぼ同程度の血中 IgG 中和抗体産生が誘導され、その産生は 6 ヶ月以上持続した。また両群においてほぼ同数の Nucleocapsid 特異的骨髄抗体産生細胞が産生された。興味深いことにホルマリン添加した UV-F-V 投与群では IgG2a の産生が抑制され、所属リンパ節 T 細胞のウイルス粒子抗原刺激による IL-4 産生が増強していた。従って、ホルマリン添加を加えたワクチンではより Th2 型にシフトすることが示唆された。(横田恭子、阿戸 学、高橋宣聖、橋本修一、加地友弘、倉岡雅征、山本紀一、山本拓也(東大医科研博士課程・研究生)、大島正道、大西和夫、竹森利忠)

## 5. 腸管内ワクチンデリバリー

感染防御の主要な場である粘膜免疫組織、特に腸管をターゲットとしたワクチン・デリバリーシステム(DDS)を開発するために、工業的に製造可能な腸溶性 DDS を設計・製造し、性能試験を行っている。これまでに経口ワクチン DDS の製造過程におけるゲスト分子充填法を改良し、抗原の含有率を飛躍的に高めるとともに、腸管免疫アジュバントであるコレラトキシンを添加した DDS の製法を確立し、その免疫賦活化能を評価してきた。今年度は、これらのキットサン・ナノ粒子 DDS に 2 次ターゲットイング(腸管粘膜移行)能を付与するために、PTD(protein transduction domain)と呼ばれる細胞膜通過能のあるアミノ酸配列群のうち、Oligo-L-lysine を DDS に付加した製剤を作製し、その性能を評価した結果、腸管粘膜に分泌される抗原特異的 IgA の誘導を改善することができた。(大西和夫、村上正裕(天藤製薬株式会社創薬センター)、山口沙由理(非常勤職員)、竹森利忠)

## III. 免疫学的診断法に関する研究

### 1. モノクローナル抗体を用いた SARS-CoV 抗原捕捉検出システムの開発と改良

我々が確立した SARS コロナウイルス構造タンパク質に対するモノクローナル抗体と、高感度蛍光 ELISA 法を組み合わせることにより、数十ピコグラム/mL の SARS ウイルス蛋白質を迅速に検出できる高感度の抗原捕集検出 ELISA システムをすでに構築している。この ELISA システムをさらに最適化するために、蛍光基質、ELISA プレートの素材、血清中の阻害物質などについて検討した。その結果、検出感度については蛍光基質・プレート素材を変えても大きな増感効果を得ることはできず、ELISA 系はほぼ最適化されていると考えられた。血清は 5 倍希釈濃度以上で阻害効果が認められた。これらの制約を打開し、さらに感度を上げるためには、ELISA 法ではなく磁性マイクロビーズなどを用いた B/F 分離法を応用した蛍光酵素免疫測定法を開発する必要があると考えられる。(大西和夫、横田恭子、磯貝まや、山口沙由理(非常勤職員)、高木弘隆(バイオセーフティー管理室)、竹森利忠)

## 2. 新規結核補助診断法確立

新規結核補助診断法確立のため、抗酸菌遺伝子 Ag85a を組み込んだアデノウイルスベクターをヒト抗原提示細胞に感染させ、抗酸菌遺伝子産物に対する T 細胞免疫反応を測定する系を検討した。その結果、末梢血単球にアデノウイルスを感染させると、既存のアデノウイルス特異的 T 細胞より、多量のインターフェロンガンマ(IFN $\gamma$ )が産生された。このため、現在の形では結核診断法として用いることができないことが判明した。一方、Ag85a 組み込みアデノウイルス感染による IFN $\gamma$  産生は、コントロールウイルス感染に比べて有意に低下していた。単球を除去した末梢血単核球ではこの T 細胞応答抑制が認められないことから、Ag85a は単球の機能阻害を介して、T 細胞応答を抑制する可能性が示された。(阿戸 学、藤猪英樹(協力研究員)、竹森利忠)

## IV. 免疫機能に関する研究

### 1. 免疫記憶に関する研究

#### (1) 記憶 B 細胞選択、維持に関する内在性因子の解析

##### A. 記憶 B 細胞選択に Ras が関与する

これまでに、記憶 B 細胞が Ras シグナル調節分子(p80)を強く発現することを見だし、Ras 機能を阻害したマウスでは、二次刺激に対する記憶 B 細胞の抗体産生が強く抑制されることを明らかにした。本研究では p80 分子が抗体産生に果たす役割を調べる目的で、p80 を過剰発現した脾臓 B 細胞に抗原刺激を加えたところ、抗体産生細胞への分化が促進され、IgG 抗体産生が増強されることを

見いだした。一方、B 細胞の増殖速度やアポトーシスに対する抵抗性には大きな影響は認められず、p80 を介した Ras シグナルの効果は、抗体産生細胞への分化過程に特異的である可能性が示唆された。(高橋宜聖、倉岡雅征、橋本修一、西麻理子(実習生)、小高正広(実習生)、竹森利忠)

### イ. 記憶 B 細胞機能に関する遺伝子発現

記憶 B 細胞に高発現する遺伝子を種々の方法で同定した。このうち SMN1 については記憶 B 細胞の長期生存に関与する可能性が推察されている。このため SMN1 の機能について詳しく解析し、この遺伝子産物がミトコンドリアの機能の調節に関与し抗レドックス活性を亢進する可能性が示された。(加地友弘、橋本修一、倉岡雅征、高橋宜聖、竹森利忠)

## 2. プレ B 細胞受容体の機能

抗体の抗原認識多様性を生み出す過程で中心的な役割を果たすプレ B 細胞受容体の機能を解析している。プレ B 細胞受容体は抗体 H 鎖と代替軽鎖からなり、B 前駆細胞に発現する。代替軽鎖は非免疫グロブリン領域(non-Ig 領域)と呼ばれる特徴的なドメインを持ち、我々はこの構造が受容体の活性化に重要な働きを担っていることを明らかにしてきた。この受容体の細胞内での挙動を可視化する実験系を構築するために  $\mu$ H 鎖と GFP の融合蛋白質、 $\mu$ H-TM12-GFP を作成した。 $\mu$ H-TM12-GFP を代替 L 鎖と共発現させることによりプレ B 細胞受容体を再構成し、その細胞内挙動を観察した結果、non-Ig 領域の有無で再構成プレ B 細胞受容体の細胞内膜系(おそらくゴルジ体・後期エンドソーム)への集積が大きく変化することから、 $\lambda$ 5 の non-Ig 領域で誘導されるプレ B 細胞受容体の自動的な架橋・活性化は後期エンドソーム近傍で起こることが強く示唆された。(柳沢有紀(筑波大・院・生命環境化学)、Lill Martensson(Babraham Institute)、Fritz Melchers(Max Planck Institute for Infection Biology)、山口沙由理(非常勤職員)、大西和夫)

## 3. BILL カドヘリン遺伝子欠損マウスにおける腸管病原性細菌感受性の検討

BILL カドヘリンは Ca<sup>2+</sup>依存性細胞接着分子であり、B リンパ球とともに小腸上皮細胞に非常に強く発現している。エルシニアやリステリアは、 $\alpha$ 1 インテグリンや E カドヘリンなどの細胞接着分子をレセプターとした細胞侵入性を有する事が知られていることから、BILL カドヘリン遺伝子欠損マウスの各種腸管病原性細菌に対する感受

性を比較した。このうち、*Salmonella enterica* serovar Typhimurium ( $10^7$  CFU)の経口投与後の生存日数に野生型との差異(弱い延命効果)が認められたため、GFP 発現 *Salmonella* を用いて遺伝子欠損マウスにおける小腸上皮侵入機構について組織学的方法により検討している。

[大西和夫、廣瀬健二(細菌部)、窪田真澄(筑波大学大学院生命環境科学)、山口沙由理(非常勤職員)]

#### 4. 免疫不全症モデルマウスを用いたウイルス感染症の病態解析

ウイルスの増殖、病原性、持続感染と宿主の感染防御機構との関連を解析するためには、免疫不全症モデルマウスを使用した動物実験が不可欠であると考えられる。Translin 遺伝子を欠損したマウス(TSN KO)では、重症複合免疫不全症モデルマウスと同様に白血球の著しい減少が幼年期に観察される。この原因は、末梢血リンパ球の成熟が未分化な状態( $B220^+ CD43^+ IL-7R^+$ )で停止していることに因るものであった。我々は、TSN KO マウスのコロナウイルス感受性に関する感染実験を行い、ウイルス感染に対する抵抗性や血中抗体価が有意に低下していることを明らかにした。この結果は、TSN KO マウスにおけるリンパ球減少症と易感染性が密接に関連していることを示している。(福田裕子、石田礼子、田原口元子(動物管理室)、山田 靖子(動物管理室)、葛西正孝)

#### 5. 骨髄不全症における造血幹細胞の自己複製に関する研究

骨髄不全症の病因と疾病遺伝子を解析する目的で、Translin 遺伝子欠損マウス(TSN KO)を用いた実験をおこなった。TSN KO マウスは、幼年期に著しいリンパ球減少症を呈するが、約8-10ヶ月を経過すると骨髄における造血が低下して重篤な骨髄不全に陥る。更に、慢性骨髄性白血病や骨髄線維症で見られるような巨大脾腫と肝臓の肥大化を呈することが明らかとなった。この現象は主に幼若骨髄系細胞の減少に因るものであるが、逆に造血幹細胞(Lin<sup>-</sup> Sca1<sup>+</sup> c-Kit<sup>+</sup>)の増加をもたらすという事実が判明した。以上の結果は、骨髄における造血幹細胞の複製と前駆細胞への振り分けが、Translin 遺伝子によって制御されていることを示唆している。(石田礼子、福田裕子、中原一彦(大学評価学位授与機構)、葛西正孝)

#### V. その他の研究

##### 1. 破傷風神経毒素に対する神経細胞表面受容体分子に関する研究

破傷風神経毒素(T.Tn)は、運動神経末端の神経筋接合部に特異的に結合し、神経細胞内に取り込まれ逆行性に輸送され、後根神経節を飛び越えて中枢神経細胞に取り込まれ、宿主の呼吸筋を麻痺させ、宿主を死に至らしめる致死毒素である。このT.Tnの結合する特異的受容体は未だに特定されていない。実験はこの受容体の同定を目的としている。T.Tnと結合する神経細胞株の候補として、トロント大学のCashman教授から分与を受けたマウス由来の運動神経系細胞株(NSC-34)を用いたT.Tn結合実験では、明らかな結合が見られなかった。現在、ソーク研究所のSchubert教授了解下、国立精神神経センター木村英雄先生からHT22細胞株の分与を受け、この細胞で同様な実験を行っている。HT22細胞は、ミトコンドリア外膜に発現するある種の蛋白分子が細胞表面にも発現しているとの報告のある神経系の細胞株で、この蛋白分子とT.Tnとの結合性が調べられている。(平山中己)

#### 品質管理に関する業務

##### I. 急性A型肝炎診断薬承認前審査業務

平成17年度より急性A型肝炎診断薬承認前審査業務を担当した。HAV抗体体外診断薬の承認前検査4件(うち2件は継続審査中)を行った。また欧米での市販の血清パネルに頼らず、我々独自の標準パネルを作成する目的で、陰性コントロール血清および陽性コントロールとして急性肝炎、慢性肝炎患者血清約500検体を収集した。これらは今後スクリーニング予定である。(大西和夫、大島正道、横田恭子、阿戸 学、高橋宜聖、竹森利忠)

#### 国際協力関係業務

##### I. インドネシア共和国における鳥インフルエンザ診断のシステム構築

東南アジアを起点とする鳥インフルエンザの流行から人への感染拡大に至ることが危惧され、インドネシアにおける鳥インフルエンザウイルスの感染拡大を未然に防止することが急務と考えられる。2005年10月から11月、ウイルス3部を主体としたインドネシアにたいする国際緊急支援隊が派遣され、ここに専門家として参加した。JICA外務省の協力のもとインドネシア保健省のR&Dセンターに赴き鳥インフルエンザ診断におけるシステム構築を指導した。(横田恭子、大島正道)

#### その他

##### I. 共同大型利用機器管理

平成17年度細胞自動解析装置の使用は、957回、2194時間でその内訳は感染研873回、2042時間、感染研以外

の研究機関 84 回、152 時間であった。機器の使用に関して予約の管理を行い、利用申請書の適切な保存を行った。また、機器を適正に管理・保全し、故障等のトラブルには円滑に対処した。新規使用者に対し講習会を開催するとともに、特殊な操作法に関しては個別に技術指導を行った。(渡辺恵理(非常勤職員)、高橋宜聖、竹森利忠)

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Sugawara, I., Udagawa, T. and Taniyama, T.: Protective efficacy of recombinant (Ag85A) BCG Tokyo with Ag85A peptide boosting against Mycobacterium tuberculosis-infected guinea pigs in comparison with that of DNA vaccine encoding Ag85A. *Tuberculosis*, in press (2006)
- 2) Akagawa K.S., Komuro, I., Kanazawa H., Yamazaki, T., Mochida K. and Kishi, F.: Functional heterogeneity of colony-stimulating factor-induced human monocyte-derived macrophages. *Respirology* 11: S32-S36, 2006
- 3) Tsunetsugu-Yokota, Y., Ohnishi, K., and Takemori, T. Severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus: application of monoclonal antibodies and development of an effective vaccine. *Rev. Med. Virol.* 16: 117-131, 2006.
- 4) Takahashi, Y., Inamine, A., Hashimoto, S., Haraguchi, S., Yoshioka, E., Kojima, N., Abe, R., Takemori, T. Novel role of the Ras cascade in memory B cell response. *Immunity* 23: 127-138, 2005.
- 5) Inamine, A., Takahashi, Y., Baba, N., Miyake, K., Tokuhisa, T., Takemori, T., Abe, R. Two waves of memory B cell generation in the primary immune response. *Int. Immunol.* 17: 581-589, 2005.
- 6) Ato M, Maroof A, Zubairi S, Nakano H, Kakiuchi T, Kaye PM. Loss of dendritic cell migration and impaired resistance to *Leishmania donovani* infection in mice deficient in CCL19 and CCL21. *J Immunol.* 176: 5486-5493, 2006.
- 7) Ohnishi, K., Sakaguchi, M., Kaji, T., Akagawa, K., Taniyama, T., Kasai, M., Tsunetsugu-Yokota, Y., Ohshima, M., Yamamoto, K., Takasuka, N., Hashimoto, S., Ato, M., Fujii, H., Takahashi, Y., Morikawa, S., Ishii, K., Sata, T., Takagi, H., Itamura, S., Odagiri, T., Miyamura, T., Kurane, I., Tashiro, M., Kurata, T., Yoshikura, H. and Takemori, T. Immunological detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus by monoclonal antibodies. *Jpn. J. Infect. Dis.* 58: 88-94, 2005.
- 8) Ohnishi, K., Melchers, F., Shimizu, T. Lymphocyte-expressed BILL-cadherin/cadherin-17 contributes to the development of B cells at two stages. *Eur. J. Immunol.* 35: 957-963, 2005.
- 9) Shoda, E., Kawano, E., Aoki, K., and Akagawa, K.S.: Differentiation ability of monocytes from chronic myelomonocytic leukemia into macrophages and multinucleated giant cells. *J. Clin. Exp. Hematopathol.* 45: 89-92, 2005.
- 10) Komuro, I., Yasuda, T., Iwamoto, A. and Akagawa, K.S. : Catalase plays a critical role in the CSF-independent survival of human macrophages via regulation of the expression of *Bcl-2* family genes. *J. Biol. Chem.* 280: 41137-41145, 2005.
- 11) Kamada, N., Hisamatsu, T., Okamoto, S., Sato, T., Matsuoka, K., Arai, K., Nakai, T., Hasegawa, A., Inoue, N., Watanabe, N., Akagawa, K.S., Hibi, T. : Abnormally differentiated subsets of intestinal macrophage play a key role in Th1 dominant chronic colitis through excess production of IL-12 and IL-23 in response to bacteria. *J. Immunol.* 175: 6900-6908, 2005.
- 12) Narita, T., Ando, A., Mikami, Y. and Taniyama, T.: Overexpression of CIN85 suppresses the growth of herpes simplex virus in HeLa cells. *Exp. Cell Res.* 311: 265-271, 2005.
- 13) Narita, T., Nishimura, T., Yoshizaki, K. and Taniyama, T.: CIN85 associates with TNF receptor 1 via Src and modulates TNF- $\alpha$ -induced apoptosis. *Exp. Cell Res.* 304: 256-264, 2005.
- 14) Kasai, M., Fukuda, Y and Ishida, R. A gene-targeted mouse model for bone marrow failure syndrome. *Blood* 140b: 4235, 2005.

#### 2. 和文発表

- 1) 橋本修一、高橋宜聖、竹森利忠「二次リンパ組織にお



ける B 細胞分化のダイナミクスとその制御機構」臨床免疫、45 : 129-133、2006 .

2) 横田 ( 恒次 ) 恭子 : HIV はどのように免疫系を破壊するのか ? 特集 HIV と免疫、日本エイズ学会誌、7:171-179、2005 .

3) 大西和夫 . 「免疫学ハンドブック」 196-208頁 ( 第 2 部 免疫の分子機構 [ 2 ] リンパ球分化 ) オーム社刊、2006 .

4) 谷山忠義、マクロファジ活性化因子 ( MAF ) 広範囲血液・尿化学検査・免疫学的検査 ( 第 6 版 ) ——その数値をどう読むか— 4、日本臨床、63 ( Suppl 8 ): 44-47、2005 .

5) 谷山忠義、インターロイキン-2 (IL-2) および IL-2 受容体、広範囲 血液・尿化学検査・免疫学的検査 ( 第六版 ) ——その数値をどう読むか- 4、日本臨床、63 ( Suppl 8 ): 65-67、2005 .

6) 赤川清子 : 呼吸器系の生物学—ヒト単球由来マクロファージの機能 . Annual Review 呼吸器 2005, 17-25, 2005

7) 赤川清子、阿戸 学 : 感染症 . 免疫学ハンドブック、オーム社、p360-374, 2005 .

8) 赤川清子 : 結核免疫、結核 第 4 版 ( 泉 考英 監修 ) 医学書院、p41-47, 2006 .

9) 小室 巖、砂塚敏明、大村 智、赤川清子 : マクロライド誘導体のヒト単球由来マクロファージにおける HIV-1 の増殖能に与える影響 . Jpn. J. Antibiotics 59 (Suppl A) : 25-29, 2006 .

10) 小室 巖、砂塚敏明、大村 智、赤川清子 : マクロライド誘導体のヒト単球由来マクロファージにおける HIV-1 の増殖能に与える影響について . Jpn. J. Antibiotics 58 (Suppl.A) : 54-60, 2005 .

## II . 学会発表

### 1 . 国際学会

1) Takahashi, Y., Inamine, A., Hashimoto, S., Abe, R., Takemori, T. "Unique role of the Ras cascade in memory B cell response." Keystone symposia, B cell development,

function and disease, Colorado, USA, Apr. 2005.

2) Yamamoto, T., Isogai, M., Inoue, J.-I., Tsunetsugu-Yokota, Y. Inhibition of HIV-1 replication in primary macrophage by a Nef-specific short hairpin RNA expressing lentivirus vector. Seventh International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Kobe, July 1-5, 2005.

3) Okado H, Kasai M. A transcriptional repressor, RP58, is essential for cortical lamination and reciprocal connectivity between the cortex and thalamus. "Dynamics of cortical development and neuronal migration" Tokyo, Jan., 2006.

### 2 . 国内学会

1) 阿戸 学、竹森利忠 . 劇症型 A 群溶連菌の細胞内殺菌からの逃避 . 第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

2) 山本紀一、阿戸 学、藤猪英樹、高橋宜聖、橋本修一、加地友弘、竹森利忠 . 不活化インフルエンザウイルス粒子に含まれる白血球数減少活性の解析 . 第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

3) 藤猪英樹、阿戸 学、高橋宜聖、橋本修一、中山俊憲、谷口克、小安重夫、竹森利忠 . HIV<sub>nef</sub> 発現により誘導される成熟 T 細胞の機能低下 . 第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

4) 高橋宜聖、加地友弘、稲嶺絢子、橋本修一、広瀬幸子、竹森利忠 . マウス記憶 B 細胞に発増強するアポトーシス抑制分子の作用機序 . 第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

5) 加地友弘、高橋宜聖、竹森利忠 . Survival of motor neuron (SMN) 蛋白質による抗酸化作用抵抗性の賦与 . 第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

6) 柳沢有紀、Lill Martensson、清水健之 ( 札幌医大 )、Fritz Melchers、大西和夫 . 「 $\mu$ H鎖-GFP融合タンパク質と代替L鎖変異体を用いたプレB細胞受容体の可視化による機能解析 . 第35回日本免疫学会総会 2005年12月 横浜

7) 窪田真澄、高橋宜聖、竹森利忠、大西和夫 . B 細胞分化の過程で発現する BILL-cadherin は二次免疫応答におけ

## 免疫部

る抗体産生細胞の分化に關与する . 第 35 回日本免疫学会  
総会 2005 年 12 月 横浜

8) 明間洋子、倉岡雅征、梅田由起子、橋口昌章、伊勢 涉、  
高橋宜聖、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏  
志 . CD3-IL-R+ Peyer's Patch cells are a novel cell subset  
which promote IgA production: cell lineage and role in class  
switch recombination . 第 35 回日本免疫学会総会 2005  
年 12 月 横浜

9) 阿戸 学、Engwerda CR、Maroof A、Dianda L、中野英  
樹、垣内史堂、Kaye PM . *Leishmania donovani* 感染マウス  
モデルにおける防御免疫誘導機構の解析 . 第 74 回日本寄  
生虫学会大会 2005 年 4 月 米子

10) 赤川清子、金沢裕子、岸 文雄 . 結核菌感染ヒト単  
球由来マクロファージにおける Hck 及び C/EBP $\beta$  の発現 .  
第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

11) 小室 巖、岩本愛吉、赤川清子 . マクロライド誘導  
体のヒト単球由来マクロファージにおける M-tropic  
HIV-1 の増殖応答への影響(2) . 第 35 回日本免疫学会総会  
2005 年 12 月 横浜

12) 新納宏昭、Siamak Jabbarzadeh、飯野忠史、成田雅、  
谷山忠義、原田実根、赤司浩一 . アダプター蛋白 CIN85  
による B 細胞抗原受容体シグナルの制御機構 . 第 35 回日  
本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

13) Yamamoto, T., Tachikawa-Kawana, A., Iwamoto, A.,  
Autran, B., Tsunetsugu-Yokota, Y. Characterization of  
virus-specific T cell activation in human by a potent  
antigen-presenting activity of dendritic cells: an evaluation *in*  
*vitro* for the vaccine development . 第 35 回日本免疫学会総  
会 2005 年 12 月 横浜

14) 橋本和治、橋本直樹、谷山忠義 . BCG における蛋白  
の大量発現のための強力な抗酸菌由来のプロモーターの  
探索 . 第 80 回日本結核病学会 2005 年 4 月 大宮

15) 山口昌樹、中野敦行、田原祐助、谷山忠義 . 血糖測  
定に用いる Glucose oxidase 遺伝子組換え酵母の獲得 . 第  
44 回日本 ME 学会 2005 年 4 月 つくば

16) 小室 巖、砂塚敏明、大村 智、赤川清子 . マクロ

ライド誘導体のヒト単球由来マクロファージにおける  
HIV-1 の増殖能に与える影響 . 第 12 回マクロライド新  
作用研究会 2005 年 7 月 東京

17) 赤川清子 . マクロファージの多様性とその起源 (特  
別講演) . 第 16 回日本生体防御学会総会 2005 年 8 月  
東京

18) 赤川清子 . マクロファージ及び樹状細胞の分化と機  
能 (シンポジウム) . エンドトキシン研究会 2005 年 11  
月 東京

19) 岡戸晴生、川野仁、大高-丸山千秋、三輪昭子、葛西  
正孝 . 転写抑制蛋白 RP58 は大脳皮質ニューロンの移動と  
分化に必要である . 第 83 回日本生理学会大会、2006 年  
3 月 前橋

20) 山本拓也、井上純一郎、横田 (恒次) 恭子 . HIV-1 nef  
発現を抑制する shRNA 発現システムの構築とマクロファ  
ージにおける Nef の機能解析 . 第 53 回ウイルス学会、2005  
年 11 月 横浜

21) 横田 (恒次) 恭子、高木弘隆、山本拓也、大島正道、  
水谷哲也、森川 茂 . VeroE6 における SARS-CoV の増殖  
とアポトーシスに関する解析 .  
第 53 回ウイルス学会、2005 年 11 月 横浜

22) 石井孝司、横田 (恒次) 恭子、長谷川秀樹、永田典  
代、水谷哲也、森川 茂、田口文広、田代真人、鈴木哲  
朗、宮村達男 . 高度弱毒化ワクチニアウイルス DIs の組  
換え SARS ワクチンとしての検討 . 第 53 回ウイルス学会、  
2005 年 11 月 横浜

23) Okado H, Ohtaka-maruyama C, Miwa A, Kawano H,  
Kasai M. Cell death and synuclein expression in the  
embryonic mouse cerebral cortex. "Cell cycle-based unifying  
approach for neurodegeneration and cancer" The 29th Annual  
Meeting of Japan Neuroscience Society , Kyoto, July 2006