

東北大学大学院医学系研究科 教授

菅村 和夫

「サイトカイン機能不全の分子機構と遺伝子治療」

## 1. 研究実施の概要

免疫系、造血系における細胞の生存、増殖、分化、機能発現の制御には種々のサイトカインが必須に関わっている。それらサイトカインの機能不全は生体防御に関わる免疫系、造血系の破綻につながり、原発性免疫不全症、重症感染症、がん等の発症をもたらす。また、サイトカインの機能亢進は自己免疫やアレルギー等の免疫疾患の発症に深く関わることも指摘されている。本研究チームは下記4グループから成り、サイトカインによる免疫系、造血系の発生分化増殖の制御機構を分子レベルで解明すると共に、サイトカイン受容体の機能不全に起因するヒト重症複合免疫不全症の遺伝子治療法の開発を目指した。

本研究に先だって、菅村グループはサイトカイン受容体の中で複数のサイトカインに共有される“共有 $\gamma$ 鎖 ( $\gamma$ c 鎖)”の遺伝子を単離し、 $\gamma$ c 鎖を共有するサイトカインの受容体の構造と機能を解明した。また、 $\gamma$ c 鎖変異に起因するX連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID : X-linked severe combined immunodeficiency) の病因解明に貢献すると共に、 $\gamma$ c 鎖変異マウスがヒト X-SCID のモデル動物になることを示した。宮島グループは複数のサイトカインに共有される“共有 $\beta$ 鎖 ( $\beta$ c 鎖)”の遺伝子を単離し、サイトカイン受容体の構造と機能の解明に貢献すると共に、GM-CSF や EPO などの造血サイトカインによる RAS 活性化と細胞死の抑制シグナル伝達との関係を明らかにし、また、STAT5 により誘導されるサイトカインとして Oncostatin M (OSM) を同定していた。小澤グループはアデノ随伴ウイルス (AAV) を用いた遺伝子治療用のウイルスベクターならびに治療用遺伝子導入細胞の選択的増幅技術の開発において、世界をリードする基礎的研究成果を挙げてきた。垣生グループは免疫系の中心的な役割を担う T 細胞の分化成熟のメカニズムの解析に有用な胸腺器官培養系をいち早く確立し、T 細胞の分化成熟の制御機構の研究に取り組んできた。本研究では、1) リンパ球の分化増殖に必須な $\gamma$ c 鎖下流のシグナル分子を同定し、これら分子の中に SCID の新たな原因遺伝子を見出すこと、2) 造血発生制御における OSM の機能的役割を明らかにすること、3) 遺伝子導入用 AAV ベクターを開発し、骨髓幹細胞への遺伝子導入による SCID の遺伝子治療法を確立すること、4) 胸腺内での T 細胞の分化制御に関して、TCR 遺伝子発現制御機構を中心に解析し、免疫不全症の発症機構の解明に資することを基本構想とした。これらの構想の下に、各研究グループでは以下のような研究成果を挙げる事ができた。

**菅村グループ**：サイトカイン共通受容体 $\gamma$ c 鎖を介する細胞内シグナル伝達機構を解析する中で、複数の新規分子 (STAM1、STAM2、Hgs/Hrs、AMSH、AMSH-LP、Grf40/Gads) を単離した。STAM1、STAM2 のそれぞれ単独欠損マウスでは、リンパ球の発生・分化・増殖に異常はみられなかったが、胸腺において STAM1、STAM2 を共に欠損するマウスでは、T 細胞の分化増殖が障害され、末梢 T 細胞が著減する免疫不全状態となった。AMSH 欠損マウスは、リンパ球の発生・分化・増殖に異常はみられなかったが、生後3週目に死亡し、脳海馬 CA1 領域に異常を来した。Hgs 欠損マウスは胎生致死であり、その解析から

Hgs が Smad2、Smad3 と会合し、アクチビンによる Smad2 活性化に関わることを示した。また、T 細胞に特異的に発現する新規 Grb2 ファミリー分子として Grf40/Gads を単離し、Grf40/Gads が SLP-76 や LAT と直接会合し、TCR および pre-TCR を介するシグナル伝達に関わることを明らかにした。さらに、Grf40/Gads 変異体導入マウスが T 細胞分化障害を示すことから、免疫不全症の新たな原因遺伝子となる可能性を指摘した。他方、TNF ファミリー分子に属する OX40 リガンド (OX40L) は菅村らが HTLV-I Tax の転写標的遺伝子として単離していた gp34 である。本研究では、OX40L ノックアウトマウスを作成し、同マウスが抗原提示機能不全を示すことから、OX40L が抗原提示における重要な副刺激分子であることを明らかにした。また、OX40L 遺伝子導入マウスが自然発症間質性肺炎ならびに炎症性腸疾患を呈することを見出した。この病変が CD4<sup>+</sup>T 細胞の Rag-2 欠損マウスへの移入によっても生じることから、OX40L 遺伝子導入マウスが自然発症自己免疫モデルマウスとして捉えられた。

**宮島グループ**：GM-CSF や EPO などの造血サイトカインで活性化される RAS の機能と共に、OSM の機能の解析を中心に研究を行った。RAS による細胞死抑制の分子機構の解析から、RAS により活性化される RAF/MAP キナーゼ経路と PI3 キナーゼ経路の何れも細胞死抑制作用があることを明かにした。また、OSM 受容体遺伝子のクローニングにより、受容体の分子構造を明らかにするとともに、OSM の機能解析を行った。その結果、OSM が胎児期での造血発生に極めて重要な機能があることを見いだした。すなわち、成体型造血幹細胞が発生するマウス胎仔の AGM 領域の培養系を確立し、OSM が血球および血管内皮細胞に共通の前駆細胞へマンジオブラストに作用して血球と血管内皮細胞の産生を促進することを見いだした。さらに、この培養系を使い、造血に必須の転写因子である c-Myb と AML がマンジオブラストから血球が発生する過程に機能することを示した。また、AGM で発生した造血幹細胞は胎生肝臓に移行して増殖分化すると考えられるが、我々は胎生肝臓の培養系を確立し、胎生肝造血を再現した。この培養系は造血を支持することができるが、血球の産生する OSM が肝細胞の分化を促進することから、OSM は造血系と肝臓の分化を調整するパラクライン因子であることが示された。

**小澤グループ**：アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの実用化を推進するため、その作製法 (パッケージング細胞株開発など) と応用に関する基礎研究を行った。前者では、細胞毒性を持つ AAV 蛋白質 (Rep、Cap) の発現を Cre/loxP 法により制御する方法を試み、重要な基礎データを得た。後者では、パーキンソン病・血友病・心血管病変・癌などに対する遺伝子治療実験を行った。また、AAV のコンポーネントを利用した染色体部位特異的遺伝子組込み法 (TVI : targeted vector integration) の開発を行った。特に、TVI 活性を保持し、細胞毒性の減弱したミュータント Rep の探索を行った。さらに、造血幹細胞遺伝子治療のための新規テクノロジーとして、遺伝子導入造血系細胞を体内で増やすための選択的

増幅遺伝子 (SAG : selective amplifier gene) の開発を行った。SAG は、増殖シグナルを発生する造血因子受容体部分とその活性を制御する分子スイッチの融合タンパク質をコードするものである。動物実験 (マウス及びカニクイザル) でそのコンセプトが有効に働くことを確認した。但し、エストロゲンまたはタモキシフェン反応型 SAG は、遺伝子導入細胞の増幅効率が実用性という点では不十分であったため、分子スイッチとしてエリスロポエチン受容体を用い、Mpl の増殖シグナルを利用した新しいエリスロポエチン反応型 SAG の開発にも着手した。また、X 連鎖重症複合免疫不全症や X 連鎖慢性肉芽腫症 (X CGD : X-linked chronic granulomatous disease) の免疫不全マウスを用いて遺伝子治療モデル実験を行った。X-SCID マウスでは、正常  $\gamma$ c 鎖遺伝子を発現させることで遺伝子導入細胞に選択的増殖優位性が自然に賦与されたが、X-CGD マウスの場合には治療用遺伝子に SAG のような細胞制御遺伝子を組み合わせる必要があるものと考えられた。

**垣生グループ** : T 細胞の初期分化に関わる分子機構を明らかにする目的で、リンパ幹細胞から T 細胞系列へのコミットメントおよび機能的成熟を伴う選択的分化の 2 プロセスに各々関わる因子の解明を、複数の遺伝子操作マウスを作製しながら進めた。その結果、T 細胞系列への分化決定に不可欠な T 細胞抗原レセプター (TCR) の発現・再構成を制御するエンハンサーを含むイントロン領域の役割と限界を明らかにした。一方、正の選択的シグナルは、TCR 発現には大きな影響を及ぼさないが、mRNA の cap 構造に結合して翻訳効率を促進する転写開始因子 eIF-4E の発現を増強することが示唆された。同分子の発現は選択シグナルを受けた分化途上の T 細胞にタンパクレベルにおける転写因子、c-Fos の増加を誘導することを示し、その結果、選択的分化を経過した T 細胞は細胞増殖能およびサイトカイン産生能を獲得すると推測された。

## 2. 研究構想

本研究チームは下記4グループから成り、サイトカインによる免疫系、造血系の発生分化増殖の制御機構を分子レベルで解明すると共に、サイトカイン機能不全に起因する免疫不全症の新たな原因遺伝子の同定単離を目標とした。また、X-SCID モデルマウスを用いて、ヒト免疫不全症の遺伝子治療法の開発を目指した。

**菅村グループ**は、リンパ球の発生・分化・増殖・生存に必須なサイトカイン共通受容体 $\gamma c$ 鎖の下流のシグナル分子と目される複数の機能分子(STAM1、STAM2、Hgs/Hrs、AMSH、AMSH-LP、Grf40/Gads)を同定単離し、それぞれの遺伝子欠損マウスや変異遺伝子導入マウスを樹立した。これら遺伝子改変マウスを用いて、これら機能分子の *in vivo* での役割を解析すると共に、SCID との因果関係を調べることを目的とした。その結果、胸腺における STAM1、STAM2 ダブル欠損マウスならびに Grf40/Gads 変異体導入マウスにおいて、いずれも T 細胞の分化増殖障害がみられた。また、Hgs 変異マウスは胎生致死となり、Hgs がアクチビン刺激による Smad2 の活性化に関わっていることを示した。他方、HTLV-I Tax の転写標的遺伝子として単離していた TNF ファミリー分子の1つである OX40 リガンド (OX40L) に関して、免疫系における機能的役割を解明するために、遺伝子欠損マウスならびに遺伝子導入マウスを作出した。これら OX40L 欠損マウスの解析から、OX40L が T 細胞への抗原提示において重要な副刺激分子として機能することが明らかになった。また、OX40L 遺伝子導入マウスが自然発症自己免疫様病変を示し、自己免疫のモデルマウスとして捉えられることを示した。

**宮島グループ**は、サイトカインによる造血細胞の発生増殖分化の制御を明らかにすることとを目的として、サイトカインによる細胞死の抑制機構をサイトカインにより活性化される Ras を中心に解析し、その下流の RAF/MAP キナーゼ経路と PI3 キナーゼ経路の何れも細胞死抑制に寄与することを示した。さらに、サイトカインで活性化される STAT5 の標的遺伝子として同定した OSM の機能を探索し、造血発生と肝臓分化における機能を明らかにした。すなわち、成体型造血幹細胞が発生するマウス胎仔の AGM 領域の培養系を確立し、OSM が血球および血管内皮細胞に共通の前駆細胞へマンジオブラストに作用して血球と血管内皮細胞の産生を促進することを見いだした。また、AGM で発生した造血幹細胞は胎生肝臓に移行して増殖分化すると考えられるが、我々は胎生肝臓の培養系を確立し、胎生肝造血を再現した。この培養系は造血を支持することができるが、血球の産生する OSM が肝細胞の分化を促進することから、OSM は造血系と肝臓の分化を調整するパラクリン因子であることが示された。

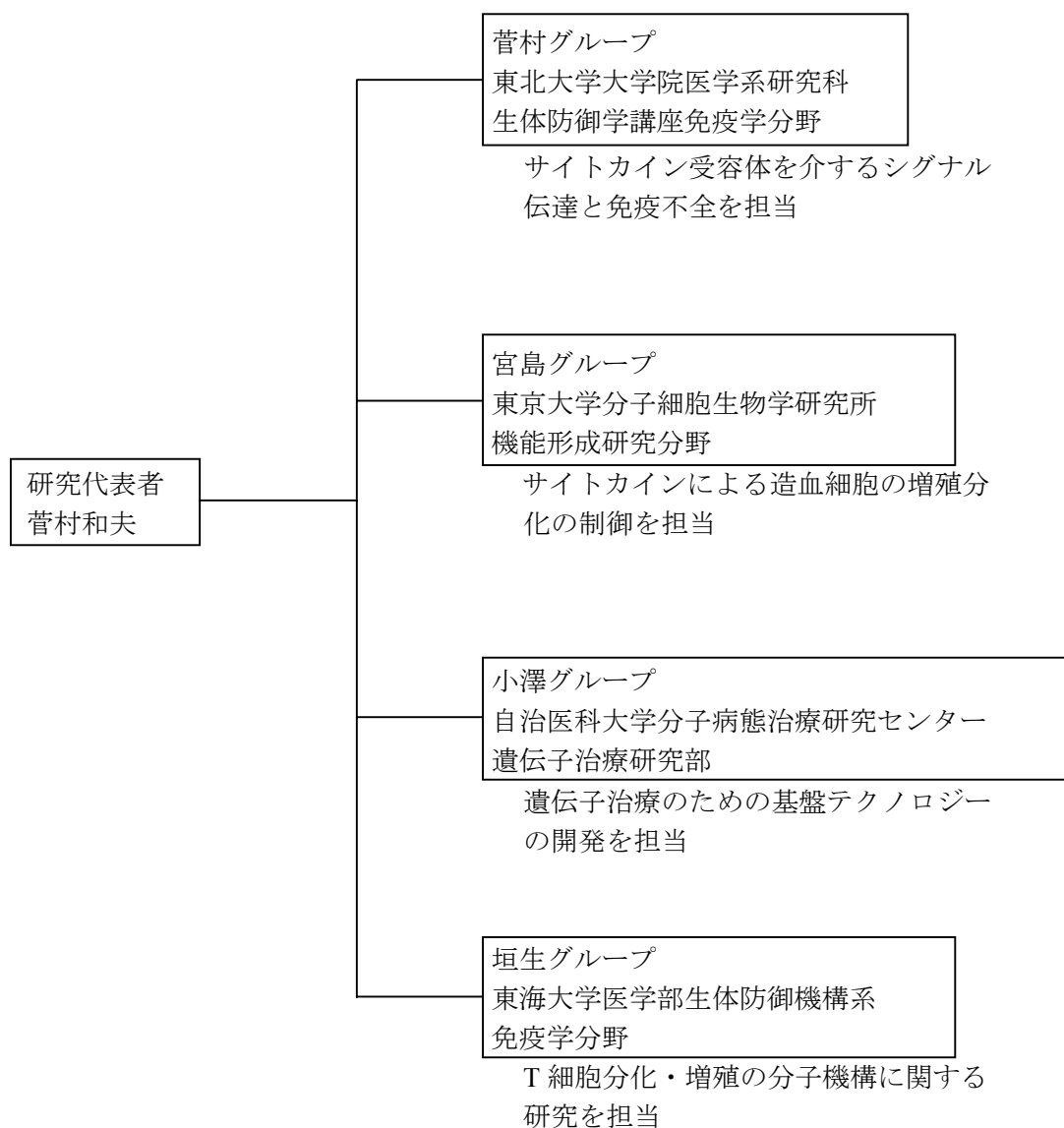
**小澤グループ**は、遺伝子治療技術の安全性と有効性を高めるために、以下の研究を計画した。1) アデノ随伴ウイルス (AAV) のコンポーネントを利用した染色体部位特異的遺伝子組込み法の開発を行った。その後、AAV ベクター作製法に関する検討、AAV ベクターを用いた遺伝子治療モデル実験などを試みた。2) 遺伝子導入造血幹細胞を体内で増幅するための選択的増幅遺伝子 (SAG) の開発を行った。基本コンセプトは、造血因子受容

体の増殖シグナルを用い、分子スイッチとしてエストロゲン（あるいはタモキシフェン）受容体のホルモン結合領域を利用するもので、実用化に向けた研究を進めた。マウスとカンクイザルの系でエストロゲン（あるいはタモキシフェン）反応型 SAG が機能することを確認したが、効率は不十分であった。そこでさらに強力な SAG としてエリスロポエチン受容体を分子スイッチに利用する方法の開発に着手した。3) 免疫不全マウスの系で遺伝子治療実験を試みた。

**垣生グループ**は、将来免疫不全症の治療および再生医学への応用に繋げることを目的として、リンパ幹細胞から T 細胞系列への分化決定に関わる因子およびその機構の解明を目指した。具体的には、T 細胞の分化に重要な TCR の発現制御と正の選択的分化に関わる分子を同定すべく、遺伝子操作の手法を用いて解析に適切な実験系を確立し、解析を進めた。

### 3. 研究実施体制

#### (1) 体制



### 4. 研究期間中の主な活動

#### (1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 12 年 11 月 14～16 日	第 30 回日本免疫学会	仙台市	2,500	国際シンポジウムを含む
平成 12 年 11 月 17～18 日	日・米・独合同 免疫学セミナー	宮城県 遠刈田	32	closed meeting

## 5. 主な研究成果

### 菅村グループ :

#### (1) 論文発表 (海外 27 件)

1. Ishii, N., Owada, Y., Yamada, M., Miura, S., Murata, K., Asao, H., Kondo, H. and Sugamura, K.: Loss of neuron in the hippocampus and cerebral cortex of AMSH-deficient mice. *Mol. Cell. Biol.*, 21, 8626-8637, 2001.
2. Ndhlovu, L.C., Ishii, N., Murata, K., Sato, T. and Sugamura, K.: Critical involvement of OX40 ligand signals in the T-cell priming events during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 167, 2991-2999, 2001.
3. Sasaki, Y. and Sugamura, K.: Involvement of Hgs/Hrs in signaling for cytokine-mediated c-fos induction through interaction with TAK1 and Pak1. *J. Biol. Chem.*, 276, 29943-29952, 2001.
4. Morita, E., Tada, K., Chisaka, H., Asao, H., Sato, H., Yaegashi, N., and Sugamura, K.: Human parvovirus B19 induces cell cycle arrest at G2 phase with accumulation of mitotic cyclins. *J. Virol.*, 75, 7555-7563, 2001.
5. Asao, H., Okuyama, C., Kumaki, S., Ishii, N., Tsuchiya, S., Foster, D., and Sugamura, K.: The common gamma chain (gc) is an indispensable subunit of the IL-21 receptor complex. *J. Immunol.*, 167, 1-5, 2001.
6. Kikuchi, K., Kawasaki, Y., Ishii, N., Sasaki, Y., Asao, H., Takeshita, T., Miyoshi, I., Kasai, N. and Sugamura, K.: Suppression of thymic development by the dominant-negative form of Gads. *Int. Immunol.*, 13, 777-783, 2001.
7. Takasawa, N., Ishii, N., Higashimura, N., Murata, K., Tanaka, Y., Nakamura, M., Sasaki, T., and Sugamura K.: Expression of gp34 (OX40 ligand) and OX40 on human T cell clones. *Jpn. J. Cancer Res.*, 92, 1-6, 2001.
8. Yamada, M., Takeshita, T., Miura, S., Murata, K., Kimura, Y., Ishii, N., Nose, M., Sakagami, H., Kondo, H., Tashiro, F., Miyazaki, J., Sasaki, H. and Sugamura, K.: Loss of hippocampal CA3 pyramidal neurons in mice lacking STAM1. *Mol. Cell. Biol.*, 21, 3807-3819, 2001.
9. Otsu, M., Sugamura, K. and Candotti, F.: Lack of dominant-negative effects of a truncated gc on retroviral-mediated gene correction of immunodeficient mice. *Blood*, 97, 1618-1624, 2001.5.22
10. Kumaki, S., Ishii, N., Minegishi, M., Ohashi, Y., Hakozaiki, I., Nonoyama, S., Imai, K., Morio, T., Tsuge, I., Sakiyama, Y., Miyanoshita, A., Miura, J., Mayumi, M., Heike, T., Katamura, K., Tanaka, H., Izui, I., Kamizono, J., Hibi, S., Sasaki, H., Kimura, M., Kikuta, A., Date, Y., Sako, M., Tanaka, H., Sano, K., Sugamura, K. and Tsuchiya, S.: Characterization of the gc chain among 27 unrelated Japanese patients with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID). *Hum. Genet.* 107, 406-408, 2000.



11. Miura, S., Takeshita, T., Asao, H., Kimura, Y., Murata, K., Sasaki, Y., Hanai, J., Beppu, H., Tsukazaki, T., Wrana, J.L., Miyazono, K. and Sugamura, K.: Hgs/Hrs, a FYVE domain protein is involved in Smad signaling through cooperation with SARA. *Mol. Cell. Biol.*, 20, 9346-9355, 2000.
12. Otsu, M., Sugamura, K. and Candotti, F.: In vivo competitive studies between normal and common gamma chain-defective bone marrow cells: implications for gene therapy. *Hum. Gene Ther.*, 11, 2051-2056, 2000.
13. Ishiai, M., Kurosaki, M., Inabe, K., Chan, A.C., Sugamura, K. and Kurosaki, T.: Involvement of LAT, Gads, and Grb2 in compartmentation of SLP-76 to the plasma membrane. *J. Exp. Med.*, 192, 847-856, 2000.
14. Kondo, M., Scherer, D.C., Miyamoto, T., King, A.G., Akashi, K., Sugamura, K. and Weissman, I.L.: Cell fate conversion of lymphoid committed progenitors by instructive actions of cytokines. *Nature*, 407, 383-386, 2000.
15. Endo, K., Takeshita, T., Kasai, H., Sasaki, Y., Tanaka, N., Asao, H., Kikuchi, K., Yamada, M., Chen, M., O'Shea, J.J. and Sugamura, K.: STAM2, a new member of the STAM family, binding to the Janus kinases. *FEBS Lett.*, 477, 55-61, 2000.
16. Murata, K., Ishii, N., Takano, H., Miura, S., Ndhlovu, L. C., Nose, M., Noda, T. and Sugamura, K.: Impairment of antigen-presenting cell function in mice lacking expression of OX40 ligand. *J. Exp. Med.*, 191, 365-374, 2000.
17. Tanaka, N., Kaneko, K., Asao, H., Kasai, H., Endo, Y., Fujita, T., Takeshita, T. and Sugamura, K.: Possible involvement of a novel STAM-associated molecule "AMSH" in intercellular signal transduction mediated by cytokines. *J. Biol.Chem.*, 274, 19129-19135, 1999.
18. Yamada, A., Kubo, K., Takeshita, T., Harashima, T., Kawano, N., Mine, K., Sagawa, K., Sugamura, K. and Itoh, K.: Molecular cloning of a glycosylphosphatidylinositol-anchored molecule CDw108. *J. Immunol.*, 162, 4094-4100, 1999.
19. Asada, H., Ishii, N., Sasaki, Y., Endo, K., Kasai, H., Tanaka, N., Takeshita, T., Tsuchiya, S., Konno, T. and Sugamura, K.: Grf40, a Novel Grb2 Family Member, Is Involved in T-Cell Signaling through Interaction with SLP-76 and LAT. *J. Exp. Med.*, 189, 1383-1390, 1999.
20. Kumaki, S., Ishii, N., Minegishi, M., Tsuchiya, S., Cosman, D., Sugamura, K. and Konno, T.: Functional role of IL-4 and IL-7 in the development of X-linked severe combined immunodeficiency. *Blood*, 93, 607-612, 1999.
21. Abe, H., Takeshita, T., Nagata, K., Arita, T., Endo, Y., Fujita, T., Takayama, H., Kubo, M. and Sugamura, K.: Molecular Cloning, Chromosome mapping and characterization of the mouseCRTH2 gene, a putative member of the leukocyte chemoattractant Receptor Family. *Gene*, 227, 71-77, 1999.
22. Yasuda, K., Nemoto, T., Ohashi, Y., Satomi, S., Murata, K., Ishii, N., Takeshita, T. and

- Sugamura, K.: Prolongation of allograft survival by administration of mAb specific for the three subunits of IL-2 receptor. *Int. Immunol.*, 10, 561-567, 1998.
23. Moffatt, S., Yaegashi, N., Tada, K., Tanaka, N. and Sugamura, K.: Human parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein induces apoptosis in erythroid lineage cells. *J. Virol.*, 72, 3018-3028, 1998.
  24. Asao, H., Sasaki, Y., Arita, S., Tanaka, N., Endo, K., Kasai, H., Takeshita, T., Endo, Y., Fujita, T. and Sugamura, K.: Hrs is associated with STAM, an signal transducing adaptor molecule: Its suppressive effect on cytokine-induced cell growth. *J. Biol. Chem.*, 272, 32785-32791, 1997.
  25. Takeshita, T., Arita, T., Higuchi, M., Asao, H., Endo, Y., Kuroda, H., Tanaka, N., Murata, K., Ishii, N. and Sugamura, K.: STAM, signal transducing adaptor molecule, is associated with Janus kinases and involved in signaling for cell growth and c-myc induction. *Immunity*, 6, 449-457, 1997.
  26. Oda, K., Asao, H., Higuchi, M., Tanaka, N., Moffatt, S., Nakamura, M., Tabayashi, K. and Sugamura, K.: Induction of IL-1 $\beta$  converting enzyme-independent apoptosis by IL-2 in human T cell lines. *Int. Immunol.*, 9, 1303-1310, 1997.
  27. Tanaka, N., Abe H., Yagita, H., Okumura, K., Nakamura, M. and Sugamura, K.: Essential requirement of Itk, a T cell specific tyrosine kinase in CD2-mediated IL-2 promoter activation in human T cell line Jurkat. *Eur. J. Immunol.*, 27, 834-841, 1997.

(2) 特許出願 (国内 5件、海外 3件)

1. 発明の名称 : ヒトタンパク質 Grf40 とその cDNA

発明者 : 菅村和夫、浅田洋司

出願番号 : 特願平 10-296464      出願日      H10. 10. 19

国際出願 : PCT/JP99/05757      国際出願日      H11. 10. 19

2. 発明の名称 : ヒトタンパク質 STAM2a および STAM2b、ならびにこれらの分子をコードする cDNA

発明者 : 菅村和夫、遠藤一博

出願番号 : 特願平 10-296465      出願日      H10. 10. 19

国際出願 : PCT/JP99/05756      国際出願日      H11. 10. 19

指定国 : 米国、カナダ、豪州、EP (英、独、仏)

3. 発明の名称 : タンパク質 AMSH とその cDNA

発明者 : 菅村和夫、田中伸幸

出願番号 : 特願平 10-322674      出願日      H10. 11. 12

国際出願 : PCT/JP99/06309      国際出願日      H11. 11. 12

指定国 : 米国、カナダ、豪州、EP (英、独、仏、蘭)

4. 発明の名称：細胞死誘導モデル非ヒト動物

発明者：菅村和夫、石井直人

出願番号：特願 2000-308880 出願日 H13. 06. 18

5. 発明の名称：OX40L 遺伝子を導入した自己免疫疾患モデル非ヒト哺乳動物

発明者：菅村和夫、村田和子

出願番号：特願 2001-304645 出願日 H13. 09. 28

(3) 受賞

平成 11 年 第 16 回 持田記念学術賞受賞

「サイトカン共通受容体  $\gamma c$  鎖と XSCID の研究」

宮島グループ：

(1) 論文発表 (海外 21 件)

1. Matsui T., Kinoshita T., Morikawa Y., Tohya K., Katsuki M., Ito Y., Kamiya A., and Miyajima A.: K-Ras mediates cytokine-induced formation of E-cadherin-based adherens junctions during liver development. *EMBO J.* 21, 1021-1030, 2002.
2. Takeuchi M., Sekiguchi T., Hara T., Kinoshita T., and Miyajima A. Cultivation of AGM-derived hematopoietic stem cells in the fetal liver microenvironment amplifies long-term repopulating activity and enhances homing to the bone marrow. *Blood*, 99, 1190-1196, 2002.
3. Minehata K., Mukoyama Y., Sekiguchi T., Hara T., and Miyajima A. Macrophage-colony stimulating factor modulates the development of hematopoiesis by stimulating the differentiation of endothelial cells in the AGM region. *Blood*, 96, 2360-2368, 2002.
4. Kamiya A., Kinoshita T., and Miyajima A.: Oncostatin M and hepatocyte growth factor induce hepatic maturation via distinct signaling pathways. *FEBS Letters* 492, 90-94, 2001.
5. Kinoshita T., Nagata K., Sorimachi N., Karasuyama H., Sekiguchi T., and Miyajima A. Oncostatin M suppresses generation of progenitors in fetal liver by inhibiting the hepatic microenvironment. *Experimental Hematology* 29, 1091-1097, 2001.
6. Miyajima A., T. Kinoshita, M. Tanaka, A. Kamiya, Y. Mukoyama and T. Hara.: Roles of Oncostatin M in hematopoiesis and liver development. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 11: 177-183, 2000.
7. Mukoyama Ys, Chiba N, Hara T, Okada H, Ito Y, Kanamaru R, Miyajima A, Satake M, Watanabe T.: The AML1 Transcription Factor Functions to Develop and Maintain

- Hematogenic Precursor Cells in the Embryonic Aorta-Gonad-Mesonephros Region. *Dev Biol* 220: 27-36, 2000.
8. Ito Y., T. Matsui, A. Kamiya, T. Kinoshita, and A. Miyajima: Retroviral gene transfer of signaling molecules into murine fetal hepatocytes defines distinct roles for the STAT3 and Ras pathways during hepatic development. *Hepatology* 32, 1370-1376, 2000.
  9. Kojima N., Kinoshita T., Kamiya A., Nakamura K. and Miyajima A.: Cell-density-dependent regulation of hepatic development by a gp130-independent pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277, 152-158, 2000.
  10. Shinjo T., Kurihara R., Inukai T., Hosoi H., Kinoshita T., Miyajima A., Houghton P.J., Look A.T., Ozawa K., and Inaba T.: Downregulation of Bim, a proapoptotic relative of Bel-2, is a pivotal step in cytokine-initiated survival signaling in murine hematopoietic progenitors. *Mol. Cell. Biol.* 21, 854-864, 2000.
  11. Kamiya A., T. Kinoshita, Y. Ito, Y. Morikawa, E. Senba, K. Nakashima, T. Taga, K. Yoshida, T. Kishimoto, and A. Miyajima: Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through gp130. *EMBO J.* 8, 2127-2136.
  12. Kitajima K., M. Kojima, K. Nakajima, S. Kondo, T. Hara, A. Miyajima, and T. Takeuchi.: Definitive but not primitive hematopoiesis is impaired in jumonji. *Blood.* 93: 87-95, 1999.
  13. Chida D, O. Miura, A. Yoshimura, and A. Miyajima: Role of cytokine signaling molecules in erythroid differentiation of mouse fetal liver hematopoietic cells: functional analysis of signaling molecules by retrovirus-mediated gene expression. *Blood* 93: 1567-1578, 1999.
  14. Tanaka M., T. Hara, N.G. Copeland, D.J. Gilbert, N.A. Jenkins, and A. Miyajima: Reconstitution of the mouse oncostatin M receptor: molecular cloning of the mouse oncostatin M receptor b subunit. *Blood* 93: 804-815, 1999.
  15. Miyajima A., Y. Itoh, and T. Kinoshita: Cytokine signaling for proliferation, survival, and death in hematopoietic cells. *Int. J. Hematol.* 69, 137-146, 1999.
  16. Kurihara R., T. Kinoshita, A. Miyajima, T. Shinjyo, T. Yoshihara, T. Inukai, M. Matsutani, K. Ozawa, A. T. Lock, and T. Inaba. Regulation of cytokine-mediated cell survival through two distinct pathways, Ras/NFIL3 (E4BP4) and Bel-XL/Caspase-3, in murine IL-3 dependent pro-B lymphocytes. *Mol. Cell. Biol.* 19: 2754-2762. 1999.
  17. Hara T., Nakano Y., Tanaka M., Tamura K., Sekiguchi T., Minehata K., Copeland N.G., Jenkins N.A., Okabe M., Kogo H., Mukoyama Y., and Miyajima A. Identification of podocalyxin-like protein 1 as novel cell surface marker for hemangioblasts in the murine aorta-gonad-mesonephros region. *Immunity* 11, 567-578, 1999.
  18. Nakayama K., T. Hara, M. Hibi, T. Hirano and A. Miyajima. The Novel Oncostatin M-Inducible Gene OIG37 Forms a Gene Family with MyD118 and GADD45 and Negatively Regulates Cell Growth *J. Biol. Chem.* 274.24766-24772, 1999.

19. Mukoyama Y., N. Chiba, M. Mucenski, M. Satake, A. Miyajima, T. Hara and T. Watanabe. c-Myb Induces the Generation of Hematopoietic Cells during the Cultivation of the Murine Embryonic Aorta-Gonad-Mesonephros Region. *Current Biol.* 9, 833-836, 1999.
20. Kinoshita T., Sekiguchi, M. J Xu, Y. Ito, A. Kamiya, K. Tsuji, T. Nakahata, and A. Miyajima. Hepatic differentiation induced by oncostatin M. attenuates fetal liver hematopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96; 7265-7270, 1999.
21. Hara, T., K. Tamura, Y. Mukoyama, H.J Kim, H. Kogo, P.J. Donovan and A. Miyajima: Distinct roles of oncostatin M and leukemia inhibitory factor for the development of germ cells and testis. *Develop. Biol.*, 201, 144-153, 1998.
22. Mukoyama, Y., T. Hara, M.J. Xu, K. Tamura, P.J. Donovan, H. Kogo, K. Tsuji, T. Nakahata, and A. Miyajima: In vitro expansion of murine hematopoietic progenitors derived from the embryonic aorta gonad mesonephros region. *Immunity*, 8, 105-114, 1998.
23. Chida D., H. Wakao, and A. Miyajima: Transcriptional regulation of the b-casein gene by cytokines: cross-talk between STAT5 and other signaling molecules. *Mol. Endocrinol.*, 12, 1792-1805, 1998.
24. Kinoshita, T., M. Shirouzu, A. Kamiya, K. Hashimoto, S. Yokoyama and A. Miyajima: Raf/MAPK-and rapamycin-sensitive pathways mediate the anti-apoptotic function of p21Ras in IL-3 dependent hematopoietic cells. *Oncogene* 15, 619-627, 1997.
25. Ohta, T., T. Kinoshita, M. Naito, M. Masutani, T. Tsuruo and A. Miyajima: Requirement of the caspase-3/CPP32 protease cascade for apoptotic death following cytokine deprivation in hematopoietic cells. *J. Biol. Chem.* 272, 23111-23116, 1997.
26. Ichihara, M., T. Hara, H.J. Kim, T. Murata, and A. Miyajima: Oncostatin M and leukemia inhibitory factor do not utilize the same functional receptor in mice. *Blood* 90, 165-173, 1997.
27. Wakao H., D. Chida, J.E. Damen, G. Krystal and A. Miyajima: A possible involvement of STAT5 in erythropoietin-induced hemoglobin synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 234, 198-205, 1997.

#### 小澤グループ :

- (1) 論文発表 (海外 25 件)
1. Muramatsu, S., Fujimoto, K., Ikeguchi, K., Shizuma, N., Kawasaki, K., Ono, F., Shen, Y., Lijun, W., Mizukami, H., Kume, K., Matsumura, M., Nagatsu, N., Urano, F., Ichinose, H., Nagatsu, T., Terao, T., Nakano, I., and Ozawa, K.: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesizing enzymes. *Hum. Gene Ther.* (in press)
2. Okada, T., Mizukami, H., Urabe, M., Nomoto, T., Matsushita, T., Hanazono, Y., Kume, A., Tobita, K., and Ozawa, K.: Development and characterization of an antisense-mediated

- regulation system for adeno-associated virus vector production with introduction of Cre recombinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288: 62-68, 2001.
3. Muramatsu, M., Hanazono, Y., Ogasawara, Y., Okada, T., Mizukami, H., Kume, A., Mizoguchi, M., Muramatsu, M., Hanazono, Y., Ogasawara, Y., Okada, T., Mizukami, H., Kume, A., Mizoguchi, H., and Ozawa, K.: Reversible integration of the dominant negative retinoid receptor gene for ex vivo expansion of hematopoietic stem/progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 27: 891-896, 2001.
  4. Kogure, K., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Sato, Y., Monahan, J., and Ozawa, K.: Targeted integration of foreign dna into a defined locus on chromosome 19 in K562 cells using AAV-derived components. *Int. J. Hematol.* 73: 469-475, 2001.
  5. Kanazawa, T., Urabe, M., Mizukami, H., Okada, T., Kume, A., Nishino, H., Monahan, J., Kitamura, K., Ichimura, K., and Ozawa, K.: AAV HSVtk/ganciclovir on cancer cells. *Cancer Gene Ther.* 8: 99-106, 2001.
  6. Urabe, M., Shimazaki, K., Saga, Y., Okada, T., Kume, A., Tobita, K., and Ozawa, K.: Self-amplification system for recombinant adeno-associated virus production. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 276: 559-563, 2000.
  7. Shen, Y., Muramatsu, S., Ikeguchi, K., Fujimoto, K., Fan, D., Ogawa, M., Mizukami, H., Urabe, M., Kume, A., Nagatsu, I., Urano, F., Suzuki, T., Ichinose, H., Nagatsu, T., Monahan, J., Nakano, N., and Ozawa, K.: Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase, aromatic l-amino acid decarboxylase, and GTP cyclohydrolase I for gene therapy of Parkinson's disease. *Hum. Gene Ther.* 11: 1509-1519, 2000.
  8. Shimpo, M., Ikeda, U., Maeda, Y., Ueno, S., Ikeda, M., Minota, S., Takizawa, T., Urabe, M., Kume, A., Monahan, J., Ozawa, K., and Shimada, K.: Gene transfer into rat renal cells using adeno-associated virus vectors. *Am. J. Nephrol.* 20: 242-247, 2000.
  9. Kume, A., Xu, R., Ueda, Y., Urabe, M., and Ozawa, K.: Long-term tracking of murine hematopoietic cells transduced with a bicistronic retrovirus containing CD24 and EGFP genes. *Gene Ther.* 7: 1193-1199, 2000.
  10. Maeda, Y., Ikeda, U., Oya, K., Shimpo, M., Ueno, S., Okada, K., Saito, T., Mano, H., Ozawa, K., and Shimada, K.: Endogenously generated nitric oxide by nitric-oxide synthase gene transfer inhibits cellular proliferation. *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 292: 387-393, 2000.
  11. Ogasawara, Y., Hanazono, Y., Kodaira, H., Urabe, M., Mano, H., Kakizuka, A., Kume, A., and Ozawa, K.: Potential application of dominant negative retinoic acid receptor genes for ex vivo expansion of hematopoietic stem cells. *Gene Ther. Mol. Biol.* 3: 293-300, 1999.
  12. Urabe, M., Kume, A., Takahashi, T., Serizawa, N., Tobita, K., and Ozawa, K.: A switching system regulating subcellular localization of nuclear proteins using a viral protease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266: 92-96, 1999.

13. Ogasawara, Y., Mizukami, H., Urabe, M., Kume, A., Kanegae, Y., Saito, I., Monahan, J., and Ozawa, K.: Highly-regulated expression of adeno-associated virus large Rep proteins in stable 293 cell lines using the Cre-loxP switching system. *J. Gen. Virol.* 80: 2477-2480, 1999.
14. Xu, R., Kume, A., Matsuda, K.M., Ueda, Y., Kodaira, H., Ogasawara, Y., Urabe, M., Kato, I., Hasegawa, M., and Ozawa, K.: A selective amplifier gene for tamoxifen-inducible expansion of hematopoietic cells. *J. Gene Med.* 1: 236-244, 1999.
15. Matsuda, K.M., Kume, A., Ueda, Y., Urabe, M., Hasegawa, M., and Ozawa, K.: Development of a modified selective amplifier gene for hematopoietic stem cell gene therapy. *Gene Ther.* 6: 1038-1044, 1999.
16. Kume, A., Hashiyama, M., Suda, T., and Ozawa, K.: Green fluorescent protein as a selectable marker of retrovirally transduced hematopoietic progenitors. *Stem Cells* 17: 226-232, 1999.
17. Kume, A., Ito, K., Ueda, Y., Hasegawa, M., Urabe, M., Mano, H., and Ozawa, K.: A G-CSF receptor-tyrosine kinase B fusion gene: a new type of molecular switch for expansion of genetically modified hematopoietic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 260: 9-12, 1999.
18. Ogasawara, Y., Urabe, M., Kogure, K., Kume, A., Colosi, P., Kurtzman, G.J., and Ozawa, K.: Efficient production of adeno-associated virus vectors using split-type helper plasmids. *Jpn. J. Cancer Res.* 90: 476-483, 1999.
19. Urabe, M., Hasumi, Y., Kume, A., Surosky, R.T., Kurtzman, J., Tobita, K., and Ozawa, K.: Charged-to-alanine scanning mutagenesis of the N-terminal half of adeno-associated virus type 2 Rep78 protein. *J. Virol.* 73: 2682-2693, 1999.
20. Fan, D., Ogawa, M., Fujimoto, K., Ikeguchi, K., Ogasawara, Y., Urabe, M., Nishizawa, M., Nakano, I., Yoshida, M., Nagatsu, I., Ichinose, H., Nagatsu, T., Kurtzman, G.J., and Ozawa, K.: Behavioral recovery in 6-hydroxydopamine lesioned rats by cotransduction of striatum with tyrosine hydroxylase and aromatic l-amino acid decarboxylase genes using two separate adeno associated virus vectors. *Hum. Gene Ther.* 9: 2527-2535, 1998.
21. Kodaira, H., Kume, A., Ogasawara, Y., Urabe, M., Kitano, K., Kakizuka, A., and Ozawa, K.: Fas and mutant estrogen receptor chimeric gene: a novel suicide vector for tamoxifen-inducible apoptosis. *Jpn. J. Cancer Res.* 89: 741-747, 1998.
22. Fan, D., Ogawa, M., Ikeguchi, K., Fujimoto, K., Urabe, M., Kume, A., Nishizawa, M., Matsushita, N., Kiuchi, K., Ichinose, H., Nagatsu, T., Kurtzman, G.J., Nakano, I., and Ozawa, K.: Prevention of dopaminergic neuron death by adeno-associated virus vector-mediated GDNF gene transfer in rat mesencephalic cells in vitro. *Neurosci. Lett.* 248: 61-64, 1998.
23. Maeda, Y., Ikeda, U., Shimpo, M., Ueno, S., Ogasawara, Y., Urabe, M., Kume, A., Takizawa, T., Saito, T., Colosi, P., Kurtzman, G., Shimada, K., and Ozawa, K.: Efficient gene transfer into cardiac myocytes using adeno-associated virus (AAV) vectors. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 30: 1341-1348, 1998.

24. Ogasawara, Y., Urabe, M., and Ozawa, K.: The use of heterologous promoters for adeno-associated virus (AAV) protein expression in AAV vector production. *Microbiol. Immunol.* 42: 177-185, 1998.
25. Ito, K., Ueda, Y., Kokubun, M., Urabe, M., Inaba, T., Mano, H., Hamada, H., Kitamura, T., Mizoguchi, H., Sakata, T., Hasegawa, M., and Ozawa, K.: Development of a novel selective amplifier gene for controllable expansion of transduced hematopoietic cells. *Blood* 90: 3884-3892, 1997.
26. Urabe, M., Hasumi, Y., Ogasawara, Y., Matsushita, T., Kamoshita, N., Nomoto, A., Colosi, P., Kurtzman, G.J., Tobita, K., and Ozawa, K.: A novel dicistronic AAV (adeno-associated virus) vector using a short IRES (internal ribosome entry site) segment derived from hepatitis C virus genome. *Gene* 200: 157-162, 1997.
27. Maeda, Y., Ikeda, U., Ogasawara, Y., Urabe, M., Takizawa, T., Saito, T., Colosi, P., Kurtzman, G., Shimada, K., and Ozawa, K.: Gene transfer into vascular cells using adeno-associated virus (AAV) vectors. *Cardiovascular Res.* 35: 514-521, 1997.

#### 垣生グループ :

- (1) 論文発表 (海外 22 件)
1. Keitaro Hayashi, Natsumi Abe, Toshio Watanabe, Masuo Obinata, Mamoru Ito, Takehito Sato, Sonoko Habu and Masanobu Satake: Overexpression of AML1 transcription factor drives thymocytes into the CD8 single-positive Lineage. *J. Immunol.* 167: 4957-4965, 2001.
2. Takehiko Sato, Chiharu Sato, Daisuke Suzuki, Yuki Yoshida, Satoshi Nunomura, Tatuya Matsumura, Katsuto Hozumi, and Sonoko Habu: Surface molecules essential for positive selection are retained but Interfered in thymic epithelial cells after monolayer culture. *Cellular Immunology* 211: 71-79, 2001.
3. Makoto Senoo, Yasuko Matsumura and Sonoko Habu: Identification of a novel retrovirus long terminal repeat (LTR) that is targeted by p51A (Tap63  $\gamma$ ) and selective dominant-negative activity of p73L( $\Delta$ Np63  $\alpha$ ) toward p53-responsive promoter activities. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 286:628-634, 2001.
4. Makoto Senoo, Naoko Mochida, Lili Wang, Yasuko Matsumura, Daisuke Suzuki, Naoki Takeda, Yoichi Shinkai and Sonoko Habu: Limited effect of Chromatin remodeling on D  $\beta$ -to-J  $\beta$  recombination in CD4+CD8+ thymocyte: Implications for a new aspect in the regulation of TCR  $\beta$  gene recombination. *Int. Immunol.* 13: 101-110, 2001.
5. Makoto Senoo, I Tsuchiya, Y Matsumura, T Mori, Yuuki Saito, H Kato, T Okamoto and Sonoko Habu: Transcriptional dysregulation of the p73L/p63/p51/p40/KET gene in human squamous cell carcinomas-expression of Np73L, a novel dominant negative isoform, and loss of expression of the Potential tumor suppressor p51. *British J. Cancer* 84: 1235-1241, 2001.
6. Keitaro Hayashi, Waka Natsume, Toshio Watanabe, Natsumi Abe, Naomi Iwai, Hitoshi



- Okada, Yoshiaki Ito, Masahide Asano, Yoichiro Iwakura, Sonoko Habu, Yousuke Takahama and Masanobu Satake: Diminution of the AML1 transcription factor function causes differential effects on the fates of CD4 and CD8 single-positive T cells. *J. Immunol.* 165:6816-6824, 2000.
7. Satoshi Nunomura, Takehito Sato, Sonoko Habu, Molecular Basis for Functional Maturation of Thymocytes: Increase in c-fos Translation with Positive Selection. *J. Immunol.*, 164: 5590-5595, 2000.
  8. Katsuto Hozumi, Ryo Ohtsuka, Daisuke Suzuki, Kiyoshi Ando, Mamoru Ito, Takashi Nishimura, Matthias Merkenschlager and Sonoko Habu: Establishment of efficient teaggregation culture system for gene transfection into immature t cells by retroviral vectors. *Immunol. Lett.* 71: 61-66, 2000.
  9. Takashi Yahata, Chie Yahata, Akio Ohta, Masashi Sekimoto, Hidetoshi Kitamura, Kenji Iwakabe, Sonoko Habu, Shinzi Azuma, Minoru Nakui, Marimo Sato, Toshiaki Koda and Takashi Nishimura: Interleukin-4-dependent induction of preproenkephalin in antigen-specific T helper-type2 (Th2) cells. *J. Neuroimmunology* 105: 103-108, 2000.
  10. Takashi Nishimura, Kenji Iwakabe, Masashi Sekimoto, Yasushi Ohmi, Takashi Yahata, Minoru Nakui, Takehito Sato, Sonoko Habu, Hiroyuki Tashiro, Marimo Sato and Akio Ohta: Distinct role of antigen-specific T helper type 1(Th1) and Th2 cells in tumor Eradication in vivo. *J. Exp. Med.* 190 (5): 617-628, 1999.
  11. Takashi Yahata, Naoko Abe, Chie Yahata, Yasushi Ohmi, Akio Ohta, Kenji Iwakabe, Sonoko Habu, Hideo Yagita, Hidemitsu Kitamura, Naoto Matsuki, Minoru Nakui, Marimo Sato and Takashi Nishimura: The essential role of phorbol ester-sensitive protein kinase C isoforms in activation-induced cell death of Th1 cells. *Eur. J. Immunol.* 29: 727-732, 1999.
  12. Takehito Sato, Satoshi Numomura, Chiharu Sato, Katsuto Hozumi, Yoshihiro Kumagai, Takashi Nishimura, Tak W.Mak, Kenji, Kishimura and Sonoko Habu: CD45 can act as a negative regulator for the transition from early to late CD<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> thymocytes. *Int. Immunol.*, 11: 89-97, 1999.
  13. Takashi Yahata, Kiyoshi Ando, Kazuhito Watanabe, Takehiko Mori, Akio Ohta, Yasushi Ohmi, Kenji Iwakabe, Soichi Kuge, Minoru Nakui, Mamoru Ito, Sonoko Habu, Shuhei Yasuda and Takashi Nishimura: Reconstitution of immune systems in RAG-2<sup>-</sup> mice by transfer with interleukin-12-induced splenic hematopoietic progenitor cells. *Immunol. Lett.* 62 (3): 165-170, 1998.
  14. Takashi Yahata, Kazuhito Watanabe, Akio Ohta, Yasushi Ohmi, Naoko Sato, Kazuki Santa, Naoko Abe, Kenji Iwakabe, Satoshi Kaneko, Norihito Suzuki, Sonoko Habu, Shuhei Yasuda and Takashi Nishimura: Accumulation of IL-12-activated antitumor effector cells into lymph nodes of tumor-bearing mice. *Immunol. Lett.*, 61: 127-133, 1998.
  15. K. Hozumi, T. Sato, A. Wilson and S. Habu: Stage specific element for germ-line transcription of the TCR receptor  $\alpha$  gene. 10th International Congress of Immunology, 173-176, 1998.

16. Takehito Sato, Kenji Kishihara, Tak W. Mak and Sonoko Habu:  $\beta$ -selection of immature thymocytes is less dependent on CD45 tyrosinephosphatase. Immunol. Letter, 64: 133-138, 1998.
17. Yoshie Kametani, Hiroko Goto, Akiko Kobori, Takehito Sato, Kiyoshi Ando, Katsuto Hozumi, Takashi Nishimura, Takashi Saito, Tadashi Yamamoto and Sonoko Habu: EX vivo evidence for asymmetric tyrosine phosphorylation of ZAP-70 on double  $\alpha\beta$ -positive thymocytes in the positive selection process. Int.Immunol., 10: 1203-1210, 1998.
18. K. Hozumi, Y. Tanaka, T. Sato, A. Wilson and S. Habu Evidence of stage-specific element for germ-line transcription of the T cell receptor  $\alpha$  gene located upstream of J $\alpha$  49 locus. Eur.J.Immunol., 28: 1368-1378, 1998.
19. Mamoru Watanabe, Yoshitaka Ueno, Tomoharu Yajima, Susumu, Okamoto, Tatsuhiko Hayashi, YasushiIwao, Hiroma, Ishii, SonokoHabuo, Masahiro Uehira, Hirofumi Nishimoto, Hiromichi Ishikawa, Jun-ichi Hata and Toshifumi Hibi: Interleukin-7 transgenic mice develop chronic colitics with decreased interleukin-7 protein accumulation in the colonic mucosa. J. Exp. Med., 187: 389-402, 1998.
20. Y. Ohmi, A. Ohta, Y. Sasakura, N. Sato, T. Yahata, K. Santa, S. Habu and T. Nishimura The role of phorbol ester-sensitive protein kinase C isoforms in lymphokine-activated killer cell-mediate cytotoxicity: Dissociation between perforin-dependent and fas-dependent cytotoxicity. Biochemical and Biophysical Res. Communications, 235: 461-464, 1997.
21. A. Ohta, N. Sato, T. Yahata, Y. Ohmi, K. Santa, T. Sato, H. Tashiro, S. Habu and T. Nishimura: Manipulation of Th1/Th2 balance in vivo by adoptive transfer of antigen-specific Th2 cells. J.Immunological Methods, 209: 85-92, 1997.
22. Takashi Nishimura, Kazuki Santa, Takashi Yahata, Naoko Sato, Akio Ohta, Yasushi Ohmi, Takehito Sato, Katsuto Hozumi and Sonoko Habu: Involvement of IL-4 producing V $\beta$  8.2<sup>+</sup>CD<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>CD45RB<sup>-</sup>T cells in Non-MHC gene controlled predisposition toward skewing into T helper type-immunity in BALB/c mice<sup>1</sup>. J. Immunol. 158: 5698-5705, 1997.

(2) 特許出願（国内 1 件）

発明の名称：遺伝子導入及び/又は遺伝子欠損非ヒト動物作製用ベクター

発明者：妹尾 誠、垣生園子

出願番号：特願 2001-30183

出願日：H13. 02. 06