

20000 926 ~ 0936

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業

平成12年度

# 創薬等ヒューマンサイエンス研究

## 重点研究報告書

第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

平成12年度

# 創薬等ヒューマンサイエンス研究

## 重点研究報告書

### 第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

# 目 次

## 課題番号

11011	脳梗塞動物モデルの開発と創薬研究への応用	柳本 広二	……	1
11037	免疫・脳神経系のゲノム恒常性維持に係る遺伝子発現制御機構の解明	葛西 正孝	……	7
11106	ヒト組織構築モデル動物の作製と応用に関する研究	藤本純一郎	……	12
11168	疾患モデルラットの調査とラットゲノムの基盤研究によるヒト疾患遺伝子の総合的探索研究	芹川 忠夫	……	19
11178	神経・筋疾患モデル動物の病態解析及び開発のための基礎研究	菊池 建機	……	25
11217	長寿命新規蛍光標識剤の開発および応用	嶋 秀明	……	30
12004	薬物及び生体分子の高感度高性能分析・解析技術の開発に関する研究	今井 一洋	……	38
12129	ゲノム情報に基づく骨疾患治療医薬品の開発に関する研究	瀬原 淳子	……	45
12259	白血球機能の新しい制御手法の開発に関する研究	鈴木 和博	……	50
12263	チャネルの開口を視る技術の開発研究	川西 徹	……	56
12271	正常ヒト上皮組織に由来する初代培養細胞の増殖制御機構の解析とその研究資源化に関する研究	林 真	……	66

## ヒト組織構築モデル動物の作製と応用に関する研究

所 属 国立小児病院小児医療研究センター  
病理病態研究部

研究者 藤本純一郎

### 分担研究者

- |                              |      |
|------------------------------|------|
| (1) 慶應義塾大学医学部・病理学教室          | 秦 順一 |
| (2) 東京理科大学生命科学研究所・生命工学技術研究部門 | 穂積信道 |
| (3) エスエス製薬株式会社・中央研究所         | 橘 公一 |

### 要 旨

SCID あるいは NOD-SCID を用いて各種ヒト疾患のモデル動物を作製した。Hu-Bone-SCID へのヒト乳癌移植モデルにおいて、血管新生に関与する  $\alpha v \beta$  インテグリンに対するキメラ抗体を投与すると乳癌の増殖抑制が起こることを明らかにした。また、VEGF 受容体ならびに Angiopoietin 受容体を可溶性の形で導入したヒト腫瘍は Hu-Bone-SCID での増殖が著明に抑制していた。これらは新たな治療モデルと考えられる。マウス生体内でのヒト組織維持に必要な環境を提供できるヒト間質細胞移植系において外来遺伝子を効率よく発現させる方法を確立した。Hu-PBL-SCID からヒト TNF- $\alpha$  に対するヒト型モノクローナル抗体を作成した。バーキットリンパ腫細胞の細胞膜糖脂質への刺激によりアポトーシスを誘導できることを示した。この刺激は免疫グロブリンを介する刺激伝達回路への関与により行われており、最終的には caspase 系が作用することが判明した。医用応用を目的とした免疫不全ブタ解析に有用な抗ブタ  $\gamma \delta$  TCR 抗体および抗ブタ CD8 抗体を作成した。

### 1. 研究目的

ヒト難治性疾患の病態解明および新規治療法開発を目指して、ヒト疾患ならびにヒト正常組織のモデル動物を作成することを目的とする。白血病などの悪性腫瘍を主な候補疾患とし、その増殖に関わる機能分子の解析を行うとともに免疫不全動物である SCID マウスおよび NOD-SCID マウスへの移植を試みる。また、ヒト骨やヒトサイトカイン遺伝子導入間質細胞の移植などによるヒト造血微小環境の再構築とその応用に関する研究も行う。さらに、将来的な家畜の医用応用を展望し、ブタ免疫系の解析に必要な抗体作成も本研究の課題とした。

### 2. 研究方法

#### 1) ヒト材料の取り扱いについて

本研究で使用するヒト組織は、正常組織、疾患材料に関わらずすべてインフォームドコンセントが得られたものを用いた。

#### 2) 免疫不全マウスへのヒト組織移植と応用

NOD/SCID マウス皮下へ、インフォームドコンセント下に提供されたヒト海綿骨を移植することで、Hu-Bone SCID マウスを作成した。この系へヒト・ストローマ細胞の移植と遺伝子導入を試みるために、SR alpha-EGFP およびネオマイシン耐性遺伝子 (neor) を挿入したレトロウイルスベクター (MBAE-EGFP) および neor がなく、LTR とパッケージングシグナル、GFP 遺伝子のみからなる MSGFP を構築した。ストローマ細胞については内皮

細胞、脂肪細胞への分化を指標に培養条件を検討した。ベクターは、常法に従い ecotropic virus から amphotropic virus を作成し、NIH-3T3 細胞にてウイルス価を算出後、ヒト・ストローマ細胞へ感染させ、Hu-Bone SCID マウスへ静注した。EGFP の検出は、移植骨の培養後に共焦点レーザー顕微鏡およびフローサイトメトリーで、あるいは抗 EGFP 抗体を用いた免疫組織学的検討を行った。

Hu-Bone SCID マウスへ、ヒト神経芽腫、乳癌細胞を移植し、ヒト腫瘍血管をともなう腫瘍を作成した。このモデルを用いて、腫瘍の増殖・浸潤における血管新生抑制分子の効果を検討した。血管新生抑制分子としては、血管内皮細胞増殖因子 VEGF 受容体 Flt-1 細胞外領域と免疫グロブリン Fc のキメラ分子 (Flt-1-Fc) および angiopoietin-1 受容体 Tie-2 の細胞外領域と免疫グロブリン Fc のキメラ分子 (Tek-Fc、いずれも熊本大学須田年生博士より供与) を用いた。

### 3) ヒト型モノクローナル抗体作成

ヒト末梢血リンパ球 (Human Peripheral Blood Lymphocytes: Hu-PBL) を移植した SCID (Hu-PBL-SCID) マウスを用いたヒトモノクローナル抗体のクローニング法については前年度の報告書に詳しく述べた。本年度はヒト自己抗原である TNF- $\alpha$  に対するヒトモノクローナル抗体を作製する方法を開発した。TNF- $\alpha$  は自己抗原であるため T 細胞に対して高い抗原性を有する Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) に conjugate し、フロイントのアジュバントと共に、抗アシアロ GM 1 抗体と放射線照射処理をした SCID マウスの腹腔内に免疫した。2 週間後に脾臓から RNA を調整し、M 13 ファージディスプレイライブラリーを作製し、Strong Binder を得た。

### 4) 糖脂質豊富膜分画を会する刺激伝達回路の解析

ヒトリンパ濾胞胚中心細胞に相当するパーキットリンパ腫細胞株 Ramos を用いて刺激伝達回路の解析を行った。特に、糖脂質豊富膜分画 (glycolipid enriched membrane, GEM) の作用に着目した。GEM への刺激は、その分画中に存在する Gb3 糖脂質をリガンドであるペロ毒素 (Stx1) 刺激あるいは抗 Gb3 抗体刺激によって行った。刺激後の各種刺激伝達分子の局在変化、活性変化を免疫沈降法、Western Blot 法、キナーゼ活性測定法ならびに共焦点レーザー走査型顕微鏡観察などによって行った。細胞を界面活性剤で可溶化後、ショ糖密度勾配超遠心法で分離し非可溶化分画を GEM 分画とし、可溶化分画を DS (detergent soluble) 分画として使用した。また、GEM への刺激と表面免疫グロブリン (sIg) を介する刺激伝達回路との関係は、抗 sIg 抗体刺激を同時に行うことで検討した。また、糖脂質 Gb3 への刺激を行った場合の caspase 分子群の挙動を Western blot 法や基質に対する活性変化に着目して解析した。

### 5) 免疫不全家畜へのヒト造血再構築を目指した抗家畜血球モノクローナル抗体の作成

ブタ末梢白血球をマウスに免疫し、常法に従ってマウスモノクローナル抗体 (MoAb) を作成した。作成した MoAb については腹水化と精製を行った後、FITC 標識およびビオチン標識を行い実験に用いた。MoAb の特異性はブタ血球を標的としたフローサイトメーターにて解析した。また、一部の実験では市販の各種抗ブタ血球 MoAb を用いた二重染色解析を行った。

## 3. 研究成果

### 1) Hu-Bone SCID マウスへのヒト腫瘍移植と治療モデル

ヒト神経芽腫、乳癌を移植した場合、その腫瘍血管はヒト CD31、CD34 および HLA class I が陽性のヒト血管であった。次にそのヒト腫瘍血管新生におけるシグナル伝達系を明らかにする目的で、VEGF 受容体 Flt-1 および Angiopoietin 受容体 Tek 受容体細胞外領域と免疫グロブリン Fc のキメラ分子の発現ベクターをヒト神経芽腫、乳癌へ遺伝子導入し、Hu-Bone SCID マウスへ移植した。その結果、腫瘍移植後 21 日目における腫瘍の重量は、対照群に比して、Flt-1-Fc および Tek-Fc 導入群では、1/4 から 1/20 に減少した。腫瘍血管密度の減少は、Flt-1-Fc 導入群でより顕著であったが、Tek-Fc 導入群では、腫瘍血管の形態異常 (血管腔の大型化) が見られた。殆どの乳癌細胞は  $\alpha v \beta 3$  インテグリンを発現しており、乳癌細胞の骨髄転移、腫瘍血管新生に重要な機能を有することが知られている。そこでヒトインテグリン特異的モノクローナル抗体 (7E3) を投与するとコントロール抗体に比べて、乳癌細胞の増殖は 8 ~ 13 倍程減少した (Figure 1)。

## 2) ヒト間質細胞への遺伝子導入と Hu-Bone-SCID での機能維持

ヒト間質細胞の初代培養の条件を確立した後に、新たに構築したレトロウイルスベクターにより GFP を導入した。MBAE-EGFP の場合は予想通り 98%以上が EGFP 陽性であったが、興味深いことに MSGFP は選択培養なしで 70-95%の導入効率を示し、感染 6 週後にも 50-70%が陽性であった。また細胞数としては、MBAE-EGFP は感染後 4-6 週後に  $1-5 \times 10^7$  の EGFP 導入細胞を、MSGFP の場合、感染後 10 日-14 日で  $1-5 \times 10^7$  の GFP 導入細胞を得ることができた。さらにこれらの遺伝子導入ストローマ細胞を Hu-Bone SCID マウスへ静注あるいは移植骨内へ直接移植したところ、4-8 週後において移植骨内外に GFP 陽性ヒト・ストローマ細胞が観察された。

## 3) SCID マウスへのヒト免疫系再構築とヒト型モノクローナル抗体の作成

ヒト TNF- $\alpha$  で免疫した Hu-PBL-SCID マウスの脾臓細胞からの RNA を基にして scFv ライブラリーを作製し、14 個の Strong Binder を得た。これらのクローンを制限酵素、BstN1 処理により DNA フラグメントのパターンを解析したところ、3 個のクローン (2、14、20) が異なったクローンに属することが明らかとなった。そこでこれらの scFv クローンのヒト TNF- $\alpha$  に対するアフィニティー (Kd) を BIAcore で測定したところ  $9 \times 10^7 - 3 \times 10^8$  (M-1) の範囲内にあることが分かった。またこれらのクローンの DNA の塩基配列を検討し、すべて異なる VH と Vk 遺伝子からなることを確認した。

## 4) ヒト B 細胞における糖脂質豊富膜分画を介する刺激伝達の解析

バーキットリンパ腫細胞株 Ramos に対し Stx1 を用いて Gb3 を刺激するとアポトーシスを生じる。その過程で、細胞内各種蛋白のチロシン残基にリン酸化が起きる。それらには Syk や Lyn など sIg 刺激に関与する Src 型キナーゼが含まれていた。事実、Lyn はそのキナーゼ活性の上昇も見られた。Stx1 非刺激時には、sIg、Syk および Lyn の間には強い結合が見られないが、Stx1 刺激後にはこれら 3 種の蛋白が共役し物理的に結合することが明らかになった (Figure 2)。さらに、共焦点レーザー走査型顕微鏡観察で、Gb3 への刺激による Gb3 と sIg の細胞表面上の同一部位への集簇が確認された。

Src 型キナーゼは GEM との関連が指摘されていることより、Stx1 刺激によってその関連がどのように変化するかを検討した。Syk ならびに sIg は DS 分画から回収されるが、Lyn は GEM 分画、DS 分画の両者から回収される。ただ、Stx1 刺激を行った場合は、GEM 分画から回収される Lyn が増加することが判明した。また、Stx1 刺激によって Gb3 と物理的に会合する Lyn 量が増加することも明らかとなった (Figure 2)。

## 5) 糖脂質 Gb3 刺激によるバーキットリンパ腫細胞アポトーシスでの caspase の関与

Ramos への Gb3 刺激を行うと、caspase proenzyme が分解され、その量が時間に比例して急速に減少することが判明した。その時間経過は subploid DNA 含有細胞の増加と一致した。また、caspase proenzyme の減少に伴って poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) の分解ならびに inhibitor of caspase-activated DNase (ICAD) の量的減少が見られた。他の caspase についてもその分解の有無を追跡したところ、caspase 2 は変化しないのに対し、caspase 7 と caspase 8 はともに分解され減少した。なお、Ramos には Fas 分子が発現しているが抗 Fas 抗体刺激を行ってもアポトーシスは生じなかった。

## 6) ブタ白血球に対するモノクローナル抗体の作成と解析

昨年度作成したブタ白血球に対するモノクローナル抗体のうち、7G3 および 1F10 について詳細な検討を加えた。二重染色の結果、7G3 抗体は CD3 陽性細胞の一部とのみ反応する抗 T 細胞サブセット抗体であることが判明した。陽性率から  $\gamma \delta$  T 細胞を認識している可能性が示唆されたため、市販の抗  $\gamma \delta$  TCR 抗体との間で二重染色を行った。その結果、7G3 抗体は、市販抗体のうち最も広い反応性を示す TCR-N4 抗体とほとんど同じ細胞集団を認識することが判明した。ブタ末血リンパ球を材料として免疫沈降を行った結果、7G3 抗体は還元状態で 43Kd 蛋白と反応することが判明した。一方、1F10 抗体は末血リンパ球の一部と反応し、フローサイトメーター上で弱陽性ピークと強陽性ピークを示す典型的な CD8 染色パターンを示した。そこで、市販の CD8 抗体との間で二重染色を行ったところ両者は同じ細胞集団と反応した。

## 4. 考 察

ヒト造血細胞のみならず造血微小環境 (すなわち骨組織) を同時に移植し Hu-Bone-SCID を作成するするこ

とにより、ヒト造血細胞の長期維持が可能になるとともに、ヒト血管を同時に供給できるモデル系を作成することができた。本年度は特に、これらのヒト腫瘍モデルを用いて血管新生の抑制による治療実験を行い、良好な腫瘍増殖阻止効果を明らかにできた。すなわち、本研究の当初目標が達成できたと考えられる。

本年度はさらにヒト組織移植モデルを改良するための基礎研究も行った。造血を維持する間質細胞は多彩な細胞への分化能を保有することが示されており、間質細胞を改変し機能を付加することにより多彩な能力が獲得される可能性がある。新たに作成したレトロウイルスベクターは極めて高い感染効率・発現効率を示すことが明らかになり、応用範囲が広がると期待できる。

ヒト免疫系を構築したマウスからのヒト型モノクローナル抗体作成も高い力価を持つ抗 TNF- $\alpha$  抗体について成功した。この実験系はすでに基礎研究のレベルを終了したと考えており、ウイルスならびに細菌毒素などへの応用の段階にある。

昨年度までに、小児造血器腫瘍モデル作成および小児腫瘍増殖機構について研究を行ってきたが、本年度は小児造血器腫瘍の代表的病型であるバーキットリンパ腫において糖脂質への刺激とアポトーシスとの関連について詳細な情報を得ることができた。従来より、蛋白-蛋白相互作用の研究が主たる分野であったが、糖脂質へのアプローチも腫瘍増殖制御に有用であることを示すことができたと考えている。

抗家畜血球モノクローナル抗体作成は、現在注目を浴びつつある家畜の医用応用への応用を展望した課題である。事実、小児センターでは農林水産省・畜産試験場との間で、ヒト組織移植による再生医学モデル構築を目指した免疫不全ブタ作成プロジェクトが進行している。今年度は、作成した抗体の一部がブタ  $\gamma \delta$  TCR および CD8 を認識することを明らかにできた。医学分野から畜産分野という異分野への積極的アプローチのひとつの成果として評価できると考える。

## 5. 結 論

1) SCID あるいは NOD-SCID を用いて各種ヒト疾患のモデル動物を作製した。

2) Hu-Bone-SCID へのヒト乳癌移植モデルにおいて、血管新生に関与する  $\alpha v \beta$  インテグリンに対するキメラ抗体を投与すると乳癌の増殖抑制が起こることを明らかにした。また、VEGF 受容体ならびに Angiopoietin 受容体を可溶化の形で導入したヒト腫瘍は Hu-Bone-SCID での増殖が著明に抑制していた。これらは、新たな治療モデルと考えられる。

3) マウス生体内でのヒト組織維持に必要な環境を提供できるヒト間質細胞移植系において外来遺伝子を効率よく発現させる方法を確立した。

4) Hu-PBL-SCID からヒト TNF- $\alpha$  に対するヒト型モノクローナル抗体を作成した。

5) バーキットリンパ腫細胞の細胞膜糖脂質への刺激によりアポトーシスを誘導できることを示した。この刺激は免疫グロブリンを介する刺激伝達回路への関与により行われており、最終的には caspase 系が作用することが判明した。

6) 医用応用を目的とした免疫不全ブタ解析に有用な抗ブタ  $\gamma \delta$  TCR 抗体および抗ブタ CD8 抗体を作成した。

## 6. 研究発表

1. Taguchi T, Kiyokawa N, Sato N, Saito M, and Fujimoto J. The characteristic expression of Hck in Human B cell precursors. *Exp-Hematol*, 2000;28(1):55-64.

2. Serizawa I, Amano K, Ishii H, Ichikawa T, Kusaka M, Taguchi T, Kiyokawa N and Fujimoto J. Long-term overexpression of human granulocyte colony-stimulating factor in transgenic mice: persistent neutrophilia with no increased mortality for more than one year. *Cytokine*, 2000; 12(6):630-5.

3. Sato N, Kiyokawa N, Taguchi T, Suzuki T, Sekino T, Ohmi K, Itagaki M, Sato T, Lepage A, Lanza F and Fujimoto J. Functional conservation of platelet glycoprotein V promoter between mouse and human megakaryocytes, *Exp-Hematol*, 2000; Jul;28(7):802-14.

4. Mori T, Kiyokawa N, Katagiri-U Y, Taguchi T, Suzuki T, Sekino T, Sato N, Ohmi K, Nakajima H, Takeda T and Fujimoto J. Globotriaosyl ceramide (CD77/Gb3) in the glycolipid-enriched membrane domain participates in the B cell receptor-mediated apoptosis by regulating Lyn kinase activity in human B cells, *Exp-Hematol*, 2000 Nov 1;28(11):1260-1268.
5. Sato N, Kiyokawa N, Takada K, Itagaki M, Saito M, Sekino T, Suzuki T, Taguchi T, Mimori K, Lanza F and Fujimoto J. Characterization of monoclonal antibodies against mouse and rat platelet glycoprotein V (CD42d), *Hybridoma*, 2000;19(6):455-61.
6. Kiyokawa N, Mori T, Taguchi T, Saito M, Minori K, Suzuki T, Sekino T, Sato N, Nakajima H, Katagiri-U Y, Takeda T and Fujimoto J. Activation of the caspase cascade during Stx1-induced apoptosis in Burkitt's lymphoma cells, *J-Cell-Biochem*, 2001 Apr 1;81(1):128-142.
7. Katagiri-U Y, Kiyokawa N and Fujimoto J. A role for lipid rafts in immune cell signaling. (review), *Microbiol-Immunol*, 2001;45(1):1-8.
8. Katagiri-U Y, Kiyokawa N and Fujimoto J. The effect of Shiga toxin binding to globotriaosylceramide in rafts of human kidney cells and Burkitt's lymphoma Ramos cells. (review), *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, in press.
9. Suzuki T, Kiyokawa N, Taguchi T, Sekino T, Katagiri-U Y and Fujimoto J. CD24 induces apoptosis in human B cells via the GEM/rafts mediated signaling system. *J-Immunol*, in press.
10. Ebata T, Mogi S, Hata Y, Fujimoto J, Yagita H, Okumura K, and Azuma M. Rapid induction of CD95 ligand and CD4+ T cell-mediated apoptosis by CD137(4-1BB) costimulation, *Eur-J-Immunol*, 2001;31:, in press.
11. Ochi, K., Nozaki, H., Tanaka, F, Kato, S., Fukuzawa, R., Sobue, G., Fukuuchi, Y., Toyama, Y., Hata, J., Umezawa, A.: Specific bisulfate modification of CTG triplet repeats of the androgen receptor gene, a gene associated with triplet disease X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Neurosci. Res. Com.* 28:1-10, 2001
12. Hamatani, T., Sasaki, H., Ishihara, K., Hida, N., Maruyama, T., Yoshimura, Y., Hata, J., Umezawa, A.: Epigenetic mark sequence of the H19 gene in human sperm. *BBA*: 91530:1-8, 2001
13. Okita, H., Umezawa, A., Fukuma, M., Ando, T., Urano, F., Sano, M., Nakata, Y., Mori, T., Hata, J.: Acute myeloid leukemia possessing jumping translocation is related to highly elevated levels of EAT/mcl-1, a Bcl-2 related gene with anti-apoptotic functions. *Leukemia Research* 24:73-77, 2000
14. Suzuki, A., Umezawa, A, Sano, M, Nozawa, S, Hata, J.: Involvement of EAT mcl1, a bcl-2 related gene, in the apoptotic mechanisms underlying human placental development and maintenance. *Placenta* 21:177-183, 2000
15. Takata, A., Kikuchi, H., Fukuzawa, R., Ito, S., Honda, M., Hata, J., : Constitutional WT1 mutations correlate with clinical features in children with progressive nephropathy. *J. Med. Genetics* 37:698-701, 2000
16. Sano, Umezawa, Suzuki, A., Shimoda, K., Hata, J., : Involvement of EAT/mcl-1, an apoptotic bcl-2 related, in murine embryogenesis and human development. *J. Exp Cell Res* 259:127-139, 2000
17. Kinjo, K, Kaizaki, M, Muto, A, Fukuchi, Y, Umezawa, A, Yamato, K, Nishihara, T, Hata, J, Ito, M, Ueyama, Y, Ikeda, Y: Arsenic trioxide(As2O3)-induced apoptosis and differentiation in retinoic acid-resistant acute promyelocytic leukemia model in hGM-CSF-producing transgenic SCID mice. *Leukemia*14:431-438, 2000
18. Yamaoka, T, Yano, M, Yamada, T, Matsushita, T, Motitani, M, Li, S, Yoshimoto, K, Hata, J, Itakura, M: Diabetes and pancreatic tumours in transgenic mice expressing Pax 6. *Diabetologia* 43:332-339, 2000
19. Xin, Z., Soejima, H., Higashimoto, K., Yatsuki, H., Zhu, X., Satoh, Y., Masaki, Z., Kaneko, Y.,



- Jinno, Y., Fukuzawa, R., Hata, J. Mukai, T.: A novel imprinted gene, KCNQ1DN, within the WT2 critical region of human chromosome 11p15.5 and its reduced expression in Wilms' tumors. *J Biochem* 128:847-853, 2000
20. Minh, T., Watanabe M., Tanabe, S., Yamada, T., Hata, J., Watanabe, S.: Occurrence of tris(4-chlorophenyl)metanee, tris(4-chrorophenyl)methanol, and some other persistent orgonocholines in Japanese human adipose tissue. *Environmental Health Perspective* 108:599-603, 2000
21. Fukushima S, Yamada T, Hata J. Augmentation of human leukemic cell invasion by the activation of small GTP-binding protein Rho. *Exp Hematol* 28: 391-400, 2000
22. Zhao C, Yamada T, Kuramochi S, Yamazaki K, Mukai M, Kameyama K, Hata J Two cases of ectopic hamartomatous thymoma. *Virchows Archiv* 437:643-647, 2000
23. Yamada T, Hashiguchi A, Fukushima S, Kakita Y, Umezawa U, Maruyama T, Hata J Function of 90 kDa heat shock protein in cellular differentiation of human embryonal carcinoma cells. *In Vitro Cell Dev Biol-Animal* 36:139-146, 2000
24. Nguyen, H., Hay, J., Mazzulli, T., Gallinger, S., Sandhu, J., Teng, Y-T. and Hozumi, N. Efficient generation of respiratory syncytial virus (RSV)-neutralizing human MoAbs via human peripheral blood lymphocyte (hu-PBL)-SCID mice and scFv phage display libraries. 122: 85-93. 2000.

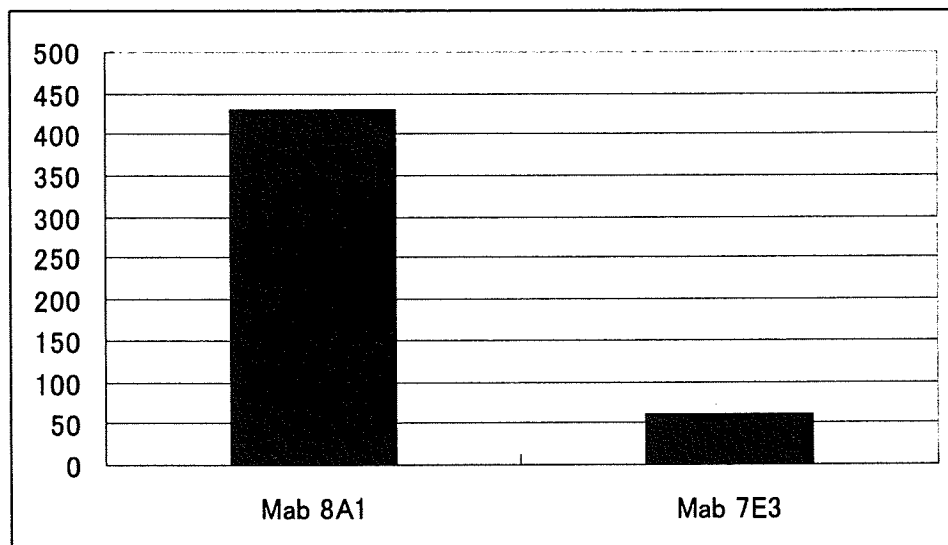


Figure 1 Inhibition of Tumor Growth by Anti-human Integrin Antibody

7E3:anti-human Integrin antibody, 8A1:control antibody

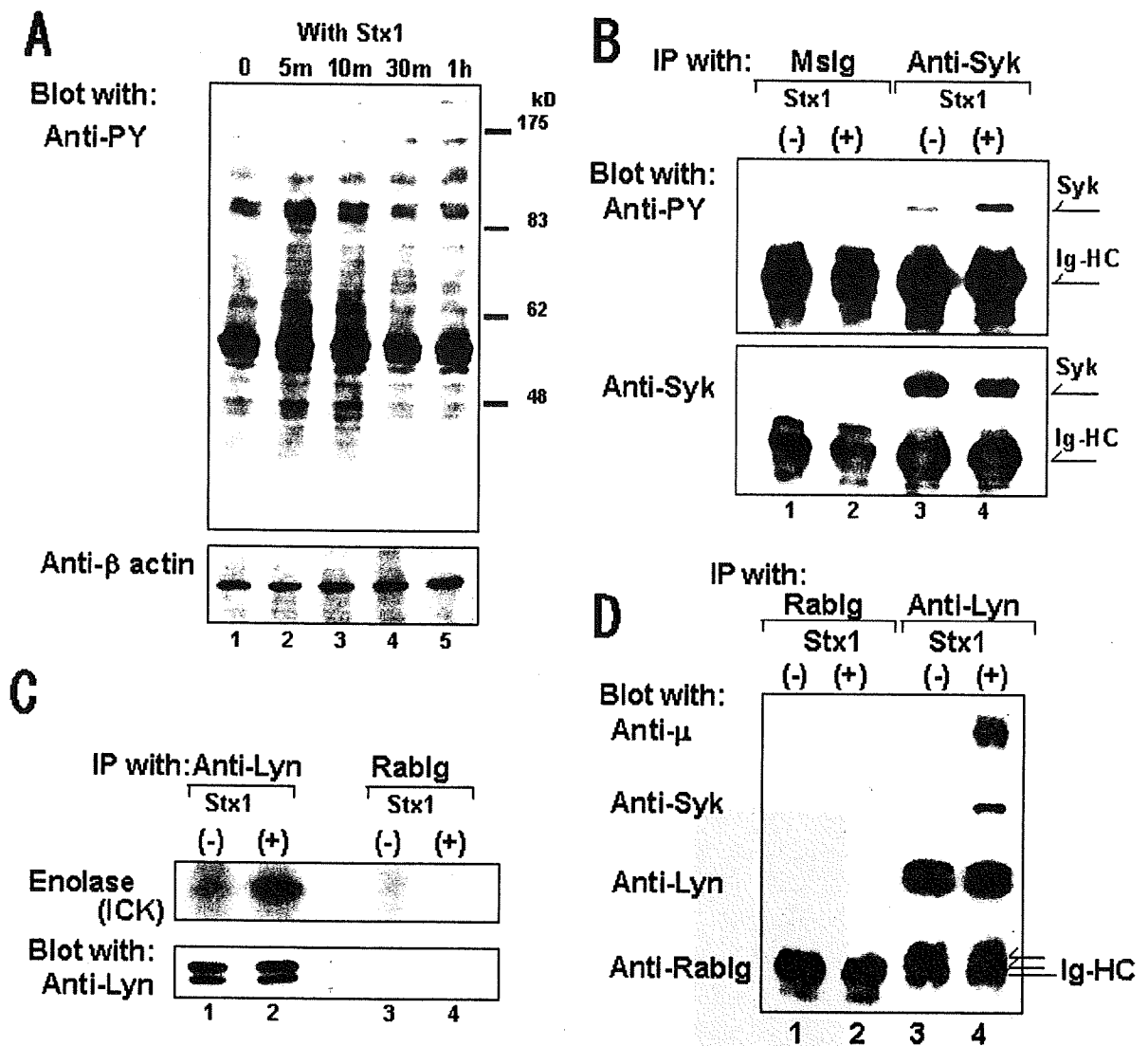


Figure 2. Early Activation of Protein Kinases In Ramos Cells Mediated by Stx1 Treatment

A: Tyrosine phosphorylated proteins after Stx1 treatment. B: Tyrosine phosphorylation of Syk kinase following Stx1 treatment. C: Increase of Lyn kinase activity following STx1 treatment. D: Co-Immunoprecipitation of Lyn, Syk and sIg after STx1 treatment.

---

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究  
重点研究報告書

第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

平成13年11月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社

