

F. 健康危険情報  
なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takaishi, H., Kitamoto, M., Takahashi, S., Aikata, H., Kawakami, Y., Nakashio, R., Nakanishi, T., Nakamura, Y., Shimamoto, F., Asahara, K., Kajiyama, G., and Ide, T. Precancerous hepatic nodules had significant levels of telomerase activity by sensitive quantitation using hybridization protection assay. *Cancer*, 88: 312-317, 2000
2. Aikata, H., Takaishi, H., Kawakami, Y., Takahashi, S., Kitamoto, M., Nakanishi, T., Nakamura, Y., Shimamoto, F., Kajiyama, G., and Ide, T. Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation. *Exp. Cell Res.*, 256: 578-582, 2000
3. Kawakami, Y., Kitamoto, M., Nakanishi, T., Yasui, W., Tahara, E., Nakayama, J.-I., Ishikawa, F., Tahara, H., Ide, T., and Kajiyama, G. Immuno-histochemical detection of human telomerase reverse transcriptase in human liver tissues. *Oncogene*, 19: 3888-3893, 2000
4. Ohsugi, I., Tokutake, Y., Suzuki, N., Ide, T., Sugimoto, M., and Furuichi, Y. Telomere repeat DNA form a large non-covalent complex with unique cohesive properties dissociated by Werner syndrome DNA helicase in the presence of replication protein A. *Nuc. Acid Res.*, 28: 3642-3648, 2000
5. Kawabe, T., Tsuyama, N., Kitao, S., Nishikawa, K., Shimamoto, A., Shiratori, M., Matsumoto, T., Anno, K., Sato, T., Mitsui, Y., Seki, M., Enomoto, T., Goto, M., Ellis, N. A., Ide, T.

Furuichi Y., and Sugimoto, M. Differential regulation of human RecQ family helicases in cell transformation and cell cycle. *Oncogene*, 19: 4764-4772, 2000

2. 学会発表

多数につき略

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

老化細胞における細胞周期制御機構の解析に関する研究

分担研究者 中西 真 名古屋市立大学医学部第二生化学 教授

細胞老化の原因として、様々な外的ストレスによる DNA 傷害の蓄積と、傷害 DNA の修復能の低下に伴うゲノムの不安定性が重要であると考えられる。本研究では、DNA 傷害に反応したチェックポイント機構を制御する Chk1 および Cds1 の 2 つのプロテインキナーゼ遺伝子のノックアウトマウスを作製し、これらの生理機能および老化、癌化との関連について解析した。

A. 研究目的

真核細胞は、紫外線あるいは放射線等により染色体 DNA に傷害を受けると、細胞周期を停止して効率的に傷害 DNA を修復する機構を持っている。一方、細胞は DNA 複製が完了するまで決して細胞分裂を起こさない。これらの機構は DNA 複製あるいは傷害チェックポイントと呼ばれ、染色体 DNA を安定に維持する分子機構の 1 つである。近年、老化時計として働くと考えられるテロメア長の短縮が、DNA 傷害チェックポイントと機能的に重複する分子機構により細胞周期停止を引き起こすことが明らかになってきたが、その詳細については未だ不明な点が多い。我々は、チェックポイント機構が酵母からヒトに至るまでよく保存されていると予想して、分裂酵母において DNA 傷害チェックポイントを制御すると考えられる Chk1 および Cds1 プロテインキナーゼのヒト相同分子を PCR 法により同定した。本研究ではこれらのキナーゼの哺乳動物細胞における役割を明らかにする目的で、ノックアウトマウスを作製し、チェックポイント制御と染色体不安定性、および老化とテロメア構造の維持の観点から解析を行った。

B. 研究方法

- (1) Chk1 ノックアウトマウスは定法に従い作製した。*Chk1*<sup>-/-</sup>胚におけるチェックポイント異常は、*Chk1*<sup>-/-</sup>胚を X 線や紫外線、あるいは DNA 複製阻害剤であるアフィディコリンで処理をした後に、分裂期の細胞指数(mitotic index: MI)を測定した。
- (2) Cds1(Chk2)ノックアウトマウスは定法に従い作製した。チェックポイント異常については、ノックアウトマウス由来の MEF を用いて、X 線や紫外線、あるいは DNA 複製阻害剤であるアフィディコリンで処理をした後に、FACS により解析を行った。

(倫理面への配慮)

ノックアウトマウス作製にあたり、大学の承認を受け、大学規定の動物実験指針に従った。

C. 研究結果

(1) Chk1 ノックアウトマウスの作製と解析

*Chk1* ヘテロ (*Chk1*<sup>+/-</sup>) マウスは見かけ上明らかな異常を認めなかったが、*Chk1*<sup>-/-</sup>マウスは胎生 7.5 日 (E7.5) 以前に致死であることがわかった。E3.5 の桑実胚の解析から、胚内部の増殖の盛んな細胞に凝集して断片化した多数の微小核を認

めた。また、E3.5 の *Chk1*<sup>-/-</sup>胚において TUNEL 陽性細胞を多数認めることから、*Chk1*<sup>-/-</sup>胚における細胞死の少なくとも一部はアポトーシスによるものであると思われた。さらに *Chk1*<sup>-/-</sup>胚におけるチェックポイント異常を調べるために、*Chk1*<sup>-/-</sup>胚を X 線や紫外線、あるいは DNA 複製阻害剤であるアフィディコリンで処理をした後に、分裂期の細胞指数 (mitotic index: MI) を測定した。*Chk1*<sup>+/+</sup>あるいは *Chk1*<sup>-/-</sup>胚においてはこれらの処理により MI 値が大きく減少した。しかしながら、*Chk1*<sup>-/-</sup>胚では上述の処理に反応せず、MI 値は未処理のものと同程度であった。これらの知見は、*Chk1*<sup>-/-</sup>胚においては、DNA 傷害や複製阻害に反応した G2 期での細胞周期停止機構が完全に損なわれており、*Chk1* が G2 チェックポイント制御に必須な遺伝子であることを示していると考えられた。

#### (2) Cds1(Chk2)ノックアウトマウスの作製と解析

Cds1(Chk2)ノックアウトマウスの出生率はメンデルの法則に従い、胎生期での死亡は認められず、見かけ上明らかな異常を認めなかった。さらに、MEF 細胞の解析から Cds1(Chk2)<sup>-/-</sup>細胞は DNA 傷害あるいは複製阻害に反応した G2 期停止にほとんど異常を認めなかった。しかしながら、ノックアウトマウスの胸腺細胞を用いた解析から、DNA 傷害に反応した p53 タンパク質の安定化と、それにとまなうアポトーシス誘導が損なわれていた。Cds1(Chk2)は試験管内において p53 分子のセリン 20 をリン酸化する事が報告されているので、細胞内において p53 を介してアポトーシスを制御するキナーゼであると考えられた。

#### (3) p53 による Cds1(Chk2)の転写制御

p53 と Cds1(Chk2)との相互作用を明らかにする目的で、Tet on による p53 発現誘導細胞 (Saos2) を作製した。Dox 存在下で p53 の発現が誘導さ

れるのと同時に、mRNA およびタンパク質レベルで Cds1(Chk2)の発現が急速に低下し、p53 により Cds1(Chk2)の発現が負に制御されていることが明らかとなった。さらに Cds1(Chk2)遺伝子をクローニングし、その転写調節領域をレポーターアッセイを用いて解析したところ、Cds1(Chk2)転写開始点の約 200bp 上流に p53 に反応する領域を同定した。

#### D. 考察

近年、チェックポイントの分子機構を解明するにあたり、実験の容易さと遺伝学の応用性から酵母を用いた研究が進んできている。酵母での結果はヒトゲノムプロジェクトの進展とあいまって哺乳動物細胞の相同分子の発見につながり、多大な成果をもたらした。しかし、Chk1 あるいは Cds1 における遺伝子破壊の表現型、大量発現系での表現型、またそれぞれのタンパク質のチェックポイント機構における修飾には酵母とヒトでは確かな違いが存在する。このことは、真核細胞が単細胞から多細胞生物に進化する過程で、これらチェックポイント機構も多様性をもって変化していることを意味しているのかもしれない。今後、Chk1, Cds1(Chk2)の生理機能を中心に哺乳動物細胞におけるチェックポイント機構の全貌を明らかにし、老化時計であるテロメア長の短縮に伴う細胞周期停止に果たす役割を明らかにすることで、老化等の染色体不安定性に起因する病態の解明を目指したい。

#### E. 結論

哺乳動物細胞において、Chk1 は DNA 傷害および複製チェックポイントを、Cds1 は DNA 傷害に反応したアポトーシスを制御していると考えられた。今後、これらの因子の細胞老化への関与を明らかにする予定である。

## F. 健康危険情報

特に問題はない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Tojima, Y., Fujimoto, A., Delhase, M., Chen, Y., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Kaneko, Y., Nimura, Y., Motoyama, N., Ikeda, K., Karin, M., Nakanishi, M. NAK is an I $\kappa$ B kinase-activating kinase. *Nature* 404, 778-782 (2000)
2. Takai, H., Tominaga, K., Motoyama, N., Minamishima, Y., Nagahama, H., Tsukiyama, T., Ikeda, K., Nakayama, K., Nakanishi, M., Nakayama, K. Aberrant Cell Cycle Checkpoint Function and Early Embryonic Death in Chk1<sup>-/-</sup> Mice. *Genes & Dev.* 14, 1439-1447 (2000)
3. Yamamoto, A., Hashimoto, Y., Kohri, K., Ogata, E., Kato, S., Ikeda, K., Nakanishi, M. Cyclin E as a coactivator of the androgen receptor. *J. Cell Biol.* 150, 873-879 (2000)
4. Nagasawa, K., Kitamura, K., Yasui, A., Nimura, Y., Ikeda, K., Hirai, M., Matsukage, A., Nakanishi, M. Identification and characterization of human DNA polymerase  $\beta$ 2, a DNA polymerase  $\beta$ -related enzyme. *J. Biol. Chem.* 275, 31233-31238 (2000)
5. Nakanishi, M., Ando, H., Watanabe, N., Kitamura, K., Ito, K., Okayama, H., Miyamoto, T., Agui, T., Sasaki, M. Identification and characterization of human Wee1B, a new member of the Wee1 family of Cdk-inhibitory kinases. *Genes to Cells* 5, 839-847 (2000)
6. Satoh, T., Furuta, K., Tomokiyo, K., Nakatsuka, D., Tanikawa, M., Nakanishi, M., Miura, M., Tanaka, S., Koike, T., Hatanaka, H., Ikuta, K., Suzuki, M., Watanabe, Y. Facilitatory roles of novel compounds designed from cyclopentenone prostaglandins on neurite outgrowth-promoting activities of nerve growth factor. *J. Neurochem.* 75, 1092-1102 (2000)
7. Akita, H., Iizuka, A., Hashimoto, Y., Kohri, K., Ikeda, K., Nakanishi, M. Induction of KAI-1 Expression in Metastatic Cancer Cells by Phorbol Esters. *Cancer letters* 153, 79-83 (2000)
8. Fuse, T., Tanikawa, M., Nakanishi, M., Ikeda, K., Tada, T., Inagaki, H., Asai, K., Kato, T., Yamada, K. p27<sup>Kip1</sup> expression by contact inhibition as a prognostic index of human glioma. *J. Neurochem.* 74, 1393-1399 (2000)
9. Takahashi, H., Menjo, M., Kaneko, Y., Ikeda, K., Matsushime, H., Nakanishi, M. Cdk4 activation is dependent on the subunit rearrangement in the complexes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 267, 388-393 (2000)
10. Ogawa, K., Kimoto, N., Asamoto, M., Nakanishi, M., Satoru Takahashi, Tomoyuki Shirai. Aberrant expression of p27<sup>Kip1</sup> is associated with malignant transformation of the rat urinary bladder epithelium. *Carcinogenesis* 21, 117-121 (2000)

### 2. 学会発表

多数につき略

## H. 知的所有権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

「細胞周期調節因子」(特願平 10-192467 号)

「抗アンドロゲン剤のスクリーニング方法」

(特願 2000-38151 号)

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

老化細胞における転写調節機構の解析に関する研究

分担研究者 吉栖 正生 東京大学医学部老年病 講師

抗酸化物質の老化制御作用を検討する過程で見いだした、食品中の抗酸化物質 Red Wine Polyphenol (RWP) による血管平滑筋細胞の遊走抑制作用について、その機序を検討した結果、PI3-kinase 系と p38MAPK 系の両者のシグナル伝達の抑制が重要であることが示された。

A. 研究目的

血管内腔を単層で被っている血管内皮細胞は、その生理的機能（血管拡張調節機能や抗血栓形成能など）によって、血管壁の恒常性の維持に大きな役割を果たしている。血管内皮細胞の老化は、その細胞分裂能力を低下させるだけではなく、生理機能の低下を招き、動脈硬化などの血管壁の異常を生じる一因となると考えられる。

我々は、天然の抗酸化物質が血管内皮細胞機能を改善し、ひいては老化制御に応用できる可能性を検討するため、抗酸化物質 Red Wine Polyphenol (RWP) の生物学的作用を検討している。その過程において、コントロールとして用いた血管平滑筋細胞の増殖を抑制すること、そしてその増殖抑制がサイクリン A 遺伝子発現の転写レベルでの抑制と関連していること、それに血管平滑筋細胞の遊走を抑制することを見いだした。近藤らにより、抗酸化物質 RWP の抗動脈硬化作用の機序の一つとして、RWPによる LDL（低比重リポ蛋白）の抗酸化作用が提唱されているが、この平滑筋細胞の遊走と増殖に対する抑制作用も、抗動脈硬化作用の一翼を担っている可能性がある。

今回、その RWP のもつ血管平滑筋細胞の遊走抑制作用の機序を細胞内シグナル伝達の観点か

ら解析した。

血管内皮細胞に関しては、老化による細胞分裂能力の低下と細胞機能の低下の機序を検討するために、DNA tip による遺伝子発現パターンの加齢による変化の解析を始めており、また今後、RWP による内皮細胞の生理的機能の回復も検討する予定である。

B. 研究方法

血管平滑筋細胞の遊走の実験は、既報のごとく、老化していないラット大動脈血管平滑筋細胞 rat aortic smooth muscle cells (RASMC) または、ヒト大動脈平滑筋細胞 human aortic smooth muscle cells (HASMC) を用いて、Boyden-chamber 法により、PDGF-BB (10 ng/ml)6 時間の刺激による RASMC の遊走を定量した。RW-PF は adsorption chromatography により精製し（Suntory 基礎研究所）、細胞培養液中に添加し、その RASMC 遊走に対する影響を検討した。また、同じ Boyden-chamber 法を用いて、細胞内シグナル伝達に関わる、諸阻害剤の効果を検討した。

細胞内シグナル伝達に対する RWP の影響を検討するために、RASMC または HASMC を培養し、PDGF-BB (10 ng/ml)を 10 分間作用させたのち、サンプルを回収し、PI3-kinase 活性の測定と、燐

酸化した ERK1/2, SAPK1/JNK, p38MAPK に対する抗体を用いて Western blot を行った。

#### (倫理面への配慮)

ヒト大動脈平滑筋細胞について、研究関連会社から通常の購買経路で購入したものであり問題はなく、ラットの細胞は、麻酔下で採取した組織から培養を行ったものである。

### C. 研究結果

Boyden-chamber 法による検討で、RWP は PDGF-BB 刺激による RASMC の遊走を濃度依存的に抑制した (既報) が、同様に PDGF-BB 刺激による HASMC の遊走を濃度依存的に抑制 (RWP 10, 30, 100 ug/ml においてそれぞれコントロールの 49%, 22%, 12%に抑制) した。

RWP による SMC の遊走の抑制は、遊走刺激が、一方の chamber に存在する場合 (主として chemotaxis) だけではなく、両方の chambers に存在する場合 (chemokinesis) においても著明に認められた。

PDGF-BB 刺激による SMC 遊走の細胞内シグナルとして、これまでに PI3-kinase 系を重視する報告と p38 MAP kinase 系の関与を示す報告の両方がある。我々の実験系において、それぞれの系の inhibitor (wortmannin, 100nM と SB203580, 25 uM) を用いたところ、遊走をコントロールの 39%と 45%まで抑制し、また両者の相加作用も認められた。一方、MEK1 inhibitor である PD98059 は無効であった。以上より、我々の実験系では、PI3-kinase 系と p38MAPK 系の両方が PDGF-BB 刺激による SMC の遊走に関わっていることが示唆された。

PDGF-BB 刺激による PI3-kinase の活性上昇に対する RWP の影響を検討したところ、RASMC, HASMC とともに濃度依存的に PI3-kinase 活性を

抑制した。

また、PDGF-BB (10 ng/ml) 刺激により、ERK1/2, SAPK1/JNK, p38MAPK の磷酸化が誘導される (それぞれ基礎値の 11 倍, 14 倍, 25 倍) が、これらの中で p38MAPK のみが RWP によって濃度依存的に磷酸化の抑制を受けた (RWP 10, 30, 100 ug/ml においてそれぞれコントロールの 28%, 5%, 3%に抑制)。

ERK1/2 および SAPK1/JNK の磷酸化は、RWP の最高濃度でようやく抑制されるに留まった。p38MAPK の上流の MKK3/6 の PDGF-BB による磷酸化も同様に RWP によって濃度依存的に抑制された。

これらの結果より、PDGF-BB 刺激による SMC 遊走の RWP による抑制は、PI3-kinase 系の抑制と、p38MAPK 系の両方の抑制によるものであることが示された。

### D. 考察

RWP が、特定の細胞内シグナル伝達を阻害する結果が得られたことは、この天然抗酸化物質が、選択性の高い薬理作用を持つことが示されたこととなり、その価値は大きい。

既報において、RWP が血管平滑筋細胞のサイクリン A の発現および細胞増殖を抑制することを報告した。本研究において、増殖因子による細胞増殖シグナルとして重要な ERK1/2 の系は、RWP によって抑制されないことが示されたため、RWP による血管平滑筋細胞増殖抑制作用は、別のメカニズムを介することが想定され、その検討を続けている。

一方、細胞の種類によって、RWP への反応が大きく異なることは、非常に興味深い現象である。既報において、RWP は血管内皮細胞の増殖と遊走には有意な影響を与えない。血管内皮細胞に対して RWP が何らかの作用を持つことは、

既報のごとくサイトカインによる接着因子発現の抑制作用によって明らかであるため、今後は、増殖と遊走の細胞内シグナルに関連して、細胞の種類により RWP に対する大きな反応性の違いが認められる機序の検討も必要である。

#### E. 結論

既報とあわせて、天然抗酸化物質が血管平滑筋細胞の遊走と増殖の抑制作用を持つことを示した。動脈硬化症をコントロールすることは生体レベルでの老化制御とも見なすことができ、天然抗酸化物質の持つこれらの作用は重要である。

今後、血管内皮細胞についても細胞増殖能と細胞機能の老化による低下の機序の解明とその回復の研究をすすめる、本研究の流れと融合させていく予定である。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hashimoto M, Kozaki K, Eto M, Akishita M, Ako J, Iijima K, Kim S, Toba K, Yoshizumi M, Ouchi Y: Association of coronary risk factors and endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery. *Hypertens Res* 23:233-238, 2000.
2. Nagata D, Suzuki E, Nishimatsu H, Yoshizumi M, Mano T, Walsh K, Sata M, Kakoki M, Goto A, Omata M, Hirata Y: Cyclin A downregulation and p21(cip1) upregulation correlate with GATA-6-induced growth arrest in glomerular mesangial cells. *Circ Res* 87:699-704, 2000.

3. Sudoh N, Toba K, Akishita M, Ako J, Hashimoto M, Iijima K, Kim S, Liang YQ, Ohike Y, Watanabe T, Yamazaki I, Yoshizumi M, Eto M, Ouchi Y: Estrogen prevents oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats. *Circulation* 103:724-729, 2001.

##### 2. 学会発表

多数につき略

#### H. 知的所有権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
(石川冬木)					
Takahashi, Y., M. Kuro-o and E. Ishikawa.	Aging mechanisms.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA	97	12407 - 12408	2000
Yamaguchi, T., R. Yamada, A. Tomikawa, K. Shudo, M. Saito, E. Ishikawa and M. Saneyoshi.	Recognition of 2'-deoxy-L-ribonucleoside 5'-triphosphates by human telomerase.	Biochem. Biophys. Res. Commun	279	475 - 481	2000
Kawakami, Y., M. Kitamoto, T. Nakanishi, W. Yasui, E. Tahara, J. Nakayama, E. Ishikawa, H. Tahara, T. Ide and G. Kajiyama.	Immuno-histochemical detection of human telomerase reverse transcriptase in human liver tissues.	Oncogene	19	3888 - 3893	2000
Ishikawa, E.	Aging clock, the watchmaker's masterpiece.	Cell. Mol. Life Sci.	57	698 - 704	2000
Tatematsu, K., T. Yamazaki and E. Ishikawa.	MBD2-MBD3 complex binds to hemi-methylated DNA and forms a complex containing DNMT1 at the replication foci in late S phase.	Genes to Cells	5	677 - 688	2000
Hoque, T., and E. Ishikawa.	Human chromatid cohesin component hRad21 is phosphorylated in M phase and associated with metaphase centromeres.	J. Biol. Chem.	276	5059 - 5067	2001
(井出利憲)					
Takaishi, H., Kitamoto, M., Takahashi, S., Aikata, H., Kawakami, Y., Nakashio, R., Nakanishi, T., Nakamura, Y., Shimamoto, F., Asahara, K., Kajiyama, G., and Ide, T.	Precancerous hepatic nodules had significant levels of telomerase activity by sensitive quantitation using hybridization protection assay.	Cancer	88	312 - 317	2000
Aikata, H., Takaishi, H., Kawakami, Y., Takahashi, S., Kitamoto, M., Nakanishi, T., Nakamura, Y., Shimamoto, F., Kajiyama, G., and Ide, T.	Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation.	Exp. Cell Res.	256	578 - 582	2000
Kawakami, Y., Kitamoto, M., Nakanishi, T., Yasui, W., Tahara, E., Nakayama, J.-I., Ishikawa, F., Tahara, H., Ide, T., and Kajiyama, G.	Immuno-histochemical detection of human telomerase reverse transcriptase in human liver tissues.	Oncogene	19	3888 - 3893	2000
Ohsugi, I., Tokutake, Y., Suzuki, N., Ide, T., Sugimoto, M., and Furuichi, Y.	Telomere repeat DNA form a large non-covalent complex with unique cohesive properties dissociated by Werner syndrome DNA helicase in the presence of replication protein A.	Nuc. Acid Res.	28	3642 - 3648	2000

Kawabe, T., Tsuyama, N., Kitao, S., Nishikawa, K., Shimamoto, A., Shiratori, M., Matsumoto, T., Anno, K., Sato, T., Mitsui, Y., Seki, M., Enomoto, T., Goto, M., Ellis, N. A., <u>Ide, T.</u> , Furuichi Y., and Sugimoto, M. (中西 真)	Differential regulation of human RecQ family helicases in cell transformation and cell cycle.	Oncogene	19	4764 - 4772	2000
Tojima, Y., Fujimoto, A., Delhase, M., Chen, Y., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Kaneko, Y., Nimura, Y., Motoyama, N., Ikeda, K., Karin, M., <u>Nakanishi, M.</u>	NAK is an IKB kinase-activating kinase.	Nature	404	778 - 782	2000
Takai, H., Tominaga, K., Motoyama, N., Minamishima, Y., Nagahama, H., Tsukiyama, T., Ikeda, K., Nakayama, K., <u>Nakanishi, M.</u> , Nakayama, K.	Aberrant Cell Cycle Checkpoint Function and Early Embryonic Death in Chk1 <sup>-/-</sup> Mice.	Genes & Dev.	14	1439 - 1447	2000
Yamamoto, A., Hashimoto, Y., Kohri, K., Ogata, E., Kato, S., Ikeda, K., <u>Nakanishi, M.</u>	Cyclin E as a coactivator of the androgen receptor.	J. Cell Biol.	150	873 - 879	2000
Nagasawa, K., Kitamura, K., Yasui, A., Nimura, Y., Ikeda, K., Hirai, M., Matsukage, A., <u>Nakanishi, M.</u>	Identification and characterization of human DNA polymerase $\beta$ 2, a DNA polymerase $\beta$ -related enzyme.	J. Biol. Chem.	275	31233 - 31238	2000
<u>Nakanishi, M.</u> , Ando, H., Watanabe, N., Kitamura, K., Ito, K., Okayama, H., Miyamoto, T., Agui, T., Sasaki, M.	Identification and characterization of human Wee1B, a new member of the Wee1 family of Cdk-inhibitory kinases.	Genes to Cells	5	839 - 847	2000
Satoh, T., Furuta, K., Tomokiyo, K., Nakatsuka, D., Tanikawa, M., <u>Nakanishi, M.</u> , Miura, M., Tanaka, S., Koike, T., Hatanaka, H., Ikuta, K., Suzuki, M., Watanabe, Y.	Facilitatory roles of novel compounds designed from cyclopentenone prostaglandins on neurite outgrowth-promoting activities of nerve growth factor.	J. Neurochem	75	1092 - 1102	2000
Akita, H., Iizuka, A., Hashimoto, Y., Kohri, K., Ikeda, K., <u>Nakanishi, M.</u>	Induction of KAI-1 Expression in Metastatic Cancer Cells by Phorbol Esters.	Cancer letters	153	79 - 83	2000
Fuse, T., Tanikawa, M., <u>Nakanishi, M.</u> , Ikeda, K., Tada, T., Inagaki, H., Asai, K., Kato, T., Yamada, K.	p27Kip1 expression by contact inhibition as a prognostic index of human glioma.	J. Neurochem	74	1393 - 1399	2000
Takahashi, H., Menjo, M., Kaneko, Y., Ikeda, K., Matsushime, H., <u>Nakanishi, M.</u>	Cdk4 activation is dependent on the subunit rearrangement in the complexes.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	267	388 - 393	2000
Ogawa, K., Kimoto, N., Asamoto, M., <u>Nakanishi, M.</u> , Satoru Takahashi, Tomoyuki Shirai. (吉栖正生)	Aberrant expression of p27Kip1 is associated with malignant transformation of the rat urinary bladder epithelium.	Carcinogenesis	21	117 - 121	2000
Hashimoto M, Kozaki K, Eto M, Akishita M, Ako J, Iijima K, Kim S, Toba K, <u>Yoshizumi M</u> , Ouchi Y:	Association of coronary risk factors and endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery.	Hypertens Res.	23	233 - 238	2000

Nagata D, Suzuki E, Nishimatsu H, <u>Yoshizumi M</u> , Mano T, Walsh K, Sata M, Kakoki M, Goto A, Omata M, Hirata Y:	Cyclin A downregulation and p21(cip1) upregulation correlate with GATA-6-induced growth arrest in glomerular mesangial cells.	Circ Res.	87	699 - 704	2000
Sudoh N, Toba K, Akishita M, Ako J, Hashimoto M, Iijima K, Kim S, Liang YQ, Ohike Y, Watanabe T, Yamazaki I, <u>Yoshizumi M</u> , Eto M, Ouchi Y:	Estrogen prevents oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats.	Circulation	103	724 - 729	2001

20000162

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので  
別紙5(研究成果の刊行に関する一覧表)をご参照ください。