

20000396

厚生科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

「ゲノミクス技術を用いた不応性貧血の病態解明」に関する研究

平成12年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 間野博行

平成13(2001)年3月

厚生科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

「ゲノミクス技術を用いた不応性貧血の病態解明」に関する研究

平成 12 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 間野 博行

平成 13 (2001) 年 3 月

目次

総括研究報告書概要	-----	1
総括研究報告書	-----	4
「ゲノミクス技術を用いた不応性貧血の病態解明」に関する研究		
間野 博行		
分担研究報告書		
溝口 秀昭	-----	7
石坂 幸人	-----	8
研究成果の刊行に関する一覧表	-----	9
研究成果の刊行物・別刷	-----	16

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
総括研究報告書
「ゲノミクス技術を用いた不応性貧血の病態解明」に関する研究

主任研究者： 間野 博行 自治医科大学医学部ゲノム機能研究部・助教授

研究要旨：不応性貧血とは骨髄が正常～過形成であるにも拘わらず末梢血の血球成分が減少する慢性疾患であり、造血幹細胞の異常に基づく「無効造血」が病態の本質であると考えられている。本疾患の発症率は高齢化と共に急速に増大するが現在のところ有効な治療法は無く、診断自体も未だ不明確な点が多い。我々は本研究計画において不応性貧血の分子診断法の開発、病態解明、及び新しい治療法の開発を目指して以下のようなゲノミクス・プロテオミクス研究計画を遂行した。まず不応性貧血の本態が異常造血幹細胞クローンであることに着目し、各種特発性造血障害患者骨髄より広く造血幹細胞分画のみを純化し保存する「Blast Bank」を設置した。本細胞を用いて DNA チップ解析を行うことにより、各患者の骨髄中の構成細胞の違いなどに影響されない、偽陽性の少ないゲノミクス解析が可能になると期待された。実際不応性貧血の新たな分子診断マーカーの同定を目指して、不応性貧血と急性骨髄性白血病患者の献体を DNA チップにて解析したところ前者においてのみ Delta-Notch ファミリーに属する Dlk 遺伝子が高発現していることが明らかになった。現在抗 Dlk 抗体を用いた不応性貧血のフローサイトメトリーによる診断法の開発を目指すと共に、不応性貧血の発症機序および進展機構の解析も続行している。さらに Dlk 結合蛋白を利用した新たな不応性貧血の治療法の開発も試みている。

分担研究者

溝口秀昭 東京女子医科大学医学部血液内科・教授
石坂幸人 国立国際医療センター研究所難治性疾患研究部・部長

A 研究目的

不応性貧血は赤血球を含む各種血球の慢性減少を特徴とする疾患であり、白血球減少に伴う感染症に対する治療や、赤血球・血小板の減少に対する成分輸血をしばしば必要とする。本症は末梢血中の血球減少にもかかわらず患者骨髄中の造血細胞数はむしろ正常～増加することが多く、「無効造血」と呼ばれる特徴的な病態を呈する。不応性貧血は造血幹細胞のクローン性異常に起因すると考えられているが、その具体的な分子メカニズムは未だ全く不明のままである。本疾患の年間発症率は人口 10 万人あたり 60 歳台で約 10 人、80 歳台で約 100 人と高齢化に伴い急速に上昇し、本邦における高齢者の主要な血液疾患の一つとなっている。治療法も他家骨髄移植以外に有効な方法が無く、発症時の年齢から骨髄移植の適応外であることが殆どである。さらに本疾患の一部は急性白血病へと移行する事が知られており、不応性貧血から移行した白血病の多くは薬剤耐性である。したがって今後の本邦人口のさらなる高齢化を考慮すると、不応性貧血の病態解明、診断及び治療法の開発は血液内科学に限らず今日の医学研究の急務の一つであるといえる。

ヒトゲノムプロジェクトの結果得られた遺伝子情報を元に DNA チップなどを用いた疾患解析が可能となってきた。しかし単純に患者骨髄細胞を用いて DNA チップによる比較を行った場合、各個人間の骨髄構成細胞のポピュレーション

の違いが大きいため「偽陽性」な結果を得ることが殆どである。そこで真に不応性貧血の臨床にフィードバック可能な情報を得るため、我々は本研究計画において不応性貧血を含めた各種血液疾患患者より、疾患の種類によらず分化レベルがほぼ均一である造血幹細胞分画のみを大規模に収集する造血幹細胞バンク「Blast Bank」を設立する。これら純化した造血幹細胞間で DNA チップ解析及びプロテオミクス解析を行うことによって、偽陽性の極めて少ない効率的なゲノミクス解析が可能になり、世界に先駆けた病態解明が行われると期待される。本研究計画の具体的な目標として、不応性貧血の(1)分子診断、(2)発症機構の解明、(3)薬剤耐性獲得機構の解析、及び(4)新たなアプローチによる治療法の開発を目指す。

B 研究方法

1) 造血幹細胞特異的マーカーである CD133 に対するアフィニティカラムを用いて、不応性貧血を含む各種特発性血液疾患患者骨髄より造血幹細胞分画を純化保存し、これを Blast Bank と名付けた。平成 13 年 2 月現在で 220 例を越える細胞の保存に成功している。また実際の実験に用いる DNA チップとして、将来的にフローサイトメトリーを用いる簡便な診断法を開発することを目指してヒト細胞膜蛋白をコードする遺伝子をスポットしたカスタム DNA チップを作製した。本チップとヒト転写因子をコードする遺伝子をスポットした DNA チップの 2 者、計約 2400 個の遺伝子に関して発現解析を行った。
2) Blast Bank の細胞よりトータル RNA を抽出し、これを T7 RNA ポリメラーゼを用いてまず *in vitro* にて増幅した。さらにこれをもとに二本鎖 cDNA を合成し、ビオチン UTP の存在下で再び

T7 RNA ポリメラーゼと反応させることで、ビオチン標識化した complementary RNA (cRNA) を作製した。このビオチン-cRNA を DNA チップとハイブリダイズさせ、洗浄後、抗ビオチン-ラビット抗体と反応させた。さらに Cy3 結合抗ラビットグロブリン抗体と反応させることで DNA チップ上の cRNA 結合スポットを蛍光標識した。

DNA チップは GMS 社の蛍光スキャナーで励起させ、各スポットの蛍光強度を測定した後統計処理を GeneSpring 3.2 (Silicon Genetics 社)にて行った。

3) ランダムペプチドを細胞表面に発現する大腸菌ライブラリーを用いてリコンビナント Dlk 蛋白に結合する蛋白質のスクリーニングを行った。

C 研究成果

1) まず、不応性貧血と de novo 急性骨髄性白血病 (AML) との鑑別診断を目指した。不応性貧血はしばしば AML 用への病態へと変化し、抗癌剤に抵抗性であるが、一般の AML は化学療法に反応性が良好である。したがって高齢者の白血病を診た場合、その患者が de novo の AML なのか不応性貧血由来なのかを判別することは治療法の選択の上からも極めて重要である。しかしながら現段階では両者の鑑別は細胞の形態異常に頼っており、しばしば困難である。そこで我々は白血化した不応性貧血と de novo AML とを鑑別する新たな分子マーカーの同定を試みた。Blast Bank に属する進行期の不応性貧血患者 5 例と de novo AML 5 例のサンプルを我々の DNA チップを用いて比較したところ、Delta/Notch ファミリーに属する Dlk 遺伝子が前者に特異的に高発現することが明らかになった。Dlk はこれまで血球での発現は知られておらず、むしろ骨髄間質細胞表面において発現し造血幹細胞の自己複製と分化抑制に必須であるとされてきた。したがって Dlk が不応性貧血患者血球で高発現する事実は、Dlk が単に診断のマーカーとなるだけでなく、不応性貧血の最大の特徴である「無効造血」の成因に関与する可能性を示唆する。まず Dlk の疾患特異的発現を確認するため Blast Bank に属する不応性貧血患者 22 例、AML 31 例のサンプルを用いて定量的 real-time PCR 法を行った。その結果、前者で 12 例に、また後者で 3 例に Dlk の高発現が確認された。また後者の 3 例の内、2 例においては不応性貧血の特徴である細胞の形態異常が著明であり、恐らく不応性貧血が白血化した症例であると予想された。以上より Dlk は世界で初めての不応性貧血特異的分子マーカーの候補となると考え

られた。

現在我々は一回膜貫通型蛋白である Dlk の細胞外領域を認識する抗体を作成し、フローサイトメトリー (FACS) による不応性貧血診断法の開発を目指している。FACS による診断が可能となれば Dlk の臨床的意義は極めて重要なものになるといえよう。

2) Dlk が不応性貧血患者の造血幹細胞で高発現することは同疾患の発症機構への関与の面からも興味深い。現在不応性貧血の成因としての Dlk の意義を in vivo において検証するために、Dlk 発現レトロウイルスを感染させた骨髄細胞による造血再構築マウスを作成中である。また Dlk 発現トランスジェニックマウスも作成し、不応性貧血の疾患モデルマウスの樹立を目指す。

Dlk の「分化抑制能」を考えると、Dlk 機能をブロックすることで不応性貧血患者骨髄細胞を正常の分化へと誘導できると期待される。そこで

3) Dlk の細胞外領域に結合しその機能を抑制するペプチドを同定中である。具体的にはまず、細胞表面にランダムな 12 アミノ酸を発現している大腸菌のプールよりパンニング法にてリコンビナント Dlk 蛋白質に結合する大腸菌を同定し、さらにそれらクローンが発現するペプチド配列を同定する。これらペプチドの中で高親和性に Dlk に結合し、しかもその機能を抑制するものを不応性貧血患者骨髄細胞を用いたコロニーアッセイ法などにより同定している。

4) 次に我々は、不応性貧血の病初期と進行期の Blast Bank サンプルを比較することで病期進行メカニズムの解明を目指した。不応性貧血 32 例および健常人 2 例のバンク細胞をカスタム DNA チップを用いて比較した結果、細胞増殖抑制に働く蛋白をコードする遺伝子および核蛋白をコードする遺伝子が健常人および不応性貧血初期において高発現しており、疾患の悪性化と共に発現が低下することが明らかになった。一方 c-fos を含む複数の遺伝子が疾患の悪性化に伴って発現誘導されることが示された。またこれら病期固有遺伝子の代表的なものについては real-time PCR 法によって発現変化を検証した。

D 結論および考察

本年度の研究結果より、Blast Bank 細胞を用いることで臨床医学に直接フィードバック可能な遺伝子情報が効率よく得られることが確認された。次年度は不応性貧血の他のテーマでの解析を行うと共に、Affymetrix 社の GeneChip システムを用いて解析遺伝子数を増大させ、スクリーニング範囲の更なる拡大を目指す。

E 研究発表

1. Miyazato A, Ueno S, Nakamura Y, Yoshida K, Kaneko T, Ohya K, Omine K, Mori M, Kirito K, Toshima M, Yamanaka T, Ikeda U, Shimada K, Saito K, Kano Y, Hatake K, Furusawa S, Ozawa K, Mano H. Identification of myelodysplastic syndrome-specific genes by DNA microarray analysis with purified hematopoietic stem cell fraction. Blood, in press.
2. Bony C, Roche S, Ueno S, Sasaki T, Crackower MA, Penninger J, Mano H, Puceat M. A specific role of phosphatidylinositol 3-kinase γ : a regulation of autonomic Ca²⁺ oscillation in cardiac cells. J. Cell. Biol. in press.
3. Yoshida K, Yamashita Y, Miyazato A, Ohya K, Kitanaka A, Ikeda U, Shimada K, Yamanaka T, Ozawa K, Mano H. Mediation by the protein-tyrosine kinase Tec of signaling between the B cell antigen receptor and Dok-1. J. Biol. Chem. 2000;275:24945-24952
4. van Dijk TB, van Den Akker E, Amelsvoort MP, Mano H, Lowenberg B, vonLindern M. Stem cell factor induces phosphatidylinositol 3'-kinase-dependent Lyn/Tec/Dok-1 complex formation in hematopoietic cells. Blood. 2000;96:3406-3413
5. Ellmeier W, Jung S, Sunshine MJ, Hatam F, Xu Y, Baltimore D, Mano H, Littman DR. Severe B Cell Deficiency in Mice Lacking the Tec Kinase Family Members Tec and Btk. J. Exp. Med. 2000;192:1611-1624
6. Maeda Y, Ikeda U, Ohya K, Shimpo M, Ueno S, Okada K, Saito T, Mano H, Ozawa K, Shimada K. Endogenously generated nitric oxide by nitric-oxide synthase gene transfer inhibits cellular proliferation. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2000;292:387-393
7. Ogasawara Y, Hanazono Y, Kodaira H, Urabe M, Mano H, Kakizuka A, Kume A, Ozawa K. Potential application of dominant negative retinoic acid receptor genes for ex vivo expansion of hematopoietic stem cells. Gene Ther. Mol. Biol. 2000;3:293-300
8. Matsuda KM, Madoiwa S, Hasumi Y, Kanazawa T, Saga Y, Kume A, Mano H, Ozawa K, Matsuda M. A novel strategy for the tumor angiogenesis-targeted gene therapy: generation of angiostatin from endogenous plasminogen by protease gene transfer. Cancer Gene Ther. 2000;7:589-596

F 知的所有権の取得状況

Dlk 発現を利用した不応性貧血の診断法について現在既に国内特許出願を済ませている。

ゲノミクス技術を用いた不応性貧血の病態解明

分担研究者 溝口秀昭 東京女子医科大学血液内科教授

研究要旨 不応性貧血にみられる血球減少症の原因の1つとして、免疫学的機序の関与が推測される。我々は、本症の病態における細胞性免疫の関与の有無を明らかにするために、患者骨髄および末梢血の T 細胞レセプターβ鎖のレバトア解析を行った。その結果、本症の患者では、特定の T 細胞クローンが、特に骨髄において増加していることが明らかになった。この結果を踏まえ、患者の造血幹細胞に特異的に反応する T 細胞の同定を試みるとともに、免疫抑制療法を施行した患者の造血幹細胞の DNA チップ解析を行うことにより、自己反応性 T 細胞のエピトープ解析、対応抗原の同定、免疫抑制療法の有効性と造血幹細胞の遺伝子発現との関連について解析を進める予定である。

A. 研究目的

不応性貧血の病態、特に免疫学的機序の関与について解析し、造血幹細胞に対する自己反応性 T 細胞および、その対応抗原を同定し、解析することを目的とした。

B. 研究方法

不応性貧血患者および正常人の末梢血、骨髄液からリンパ球分画を採取し、RT-PCR・SSCP法にて T 細胞レセプター (TCR) β 鎖 complementarity determining region 3 (CDR3) 領域のレバトアの解析を行う。その結果、クローナルな増殖が強く示唆されるサブファミリーについては CDR3 領域の塩基配列を解析する。また、不応性貧血患者および正常人の末梢血、骨髄液から AC133 陽性細胞を純化し、これを用いて DNA チップ解析を行う。

(倫理面への配慮)

検体の採取にあたっては、予め患者に研究目的を文書にて説明し、文書にて同意を得る。

C. 研究結果

不応性貧血患者の骨髄および末梢血では、種々の Vβ サブファミリーにおいて、オリゴクローナルな T 細胞の存在を示唆する明瞭なバンドが認められた。一部の症例について、CDR3 領域の塩基配列を解析したところ、クローナルな T 細胞の存在が確認された。また、同一症例で末梢血と骨髄の T 細胞レバト

アを比較すると、骨髄においてのみ、特定の T 細胞クローンの集積を認める症例が存在した。

D. 考察

不応性貧血患者の末梢血あるいは骨髄において、特定の T 細胞クローンの増加が認められることから、本症の病因に関わる自己反応性 T 細胞の存在が示唆される。今後、実際に免疫抑制療法が有効であった患者の造血幹細胞について、DNA チップ解析を進めることにより、対応抗原の候補が明らかになると考えられる。

E. 結論

不応性貧血患者の末梢血、骨髄には、特定の T 細胞クローンが増加しており、本症の病因に関与するという可能性がある。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願。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

ゲノミクス技術を用いた不応性貧血の病態解明

分担研究者 石坂幸人 国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部長

研究要旨；不応性貧血の病態における dlk 遺伝子の役割を明らかにする目的で、本遺伝子産物に対する単クローン抗体の作成と、dlk に結合し、その機能を阻害するペプチドの同定を試みる。本年度は、dlk 細胞外ドメインとして約 35kDa の蛋白質を酵母発現システムで発現させることに成功した。一方、ランダムペプチドディスプレイライブラリー(RPDL)を用いたパイロット実験を行い、RPDL により目的の遺伝子産物に結合する新規蛋白質の同定が可能になることを明らかにした。平成 13 年度では、dlk 遺伝子産物を精製し、RPDL を用いた dlk 結合ペプチドの同定を行う。

A. 研究目的

DNA チップを用いたマイクロアレイ解析により、高齢者不応性貧血と dlk 遺伝子の高発現との密接な関連性が見出されている。dlk 遺伝子は細胞分化を阻害することが知られており、dlk 遺伝子の過剰発現による骨髓細胞の正常分化からの逸脱が、不応性貧血の中心的な病態であると想像される。この点を明らかにするため本分担研究では、①dlk 遺伝子産物に対する単クローン抗体を用いた免疫組織化学的解析法の開発、②ランダムペプチドディスプレイライブラリー(RPDL)からの dlk 遺伝子産物に結合するペプチドの同定、③さらにこのペプチドを用いた病態解析の試みを行う。本年度は、dlk リコンビナント蛋白質の発現と RPDL を用いたパイロット実験を行った。

B. 研究方法

a. dlk リコンビナント蛋白質の発現

ヒト dlk 遺伝子の細胞外ドメインをコードする約 810bp を PCR でクローニング後、酵母発現ベクターである pICZa に組み込んだ。酵母細胞である 1168 にエレクトロポレーションにて導入し、ゼオシン耐性コロニーを得た。蛋白質発現誘導は、メタノールを用いて 30 度で一晩培養した。発現蛋白質の解析は、抗ヒト dlk 抗体を用いたウエスタン法による。

b. RPDL からのペプチドの同定

RPDL は、Invitrogen 社製 Flitrx を用いた。これは、菌体外に 1 2 個のアミノ酸がランダムに並んだペプチドを 1 種類発現するバクテリアのプールからなっている。ライブラリーの力価は約 10^{10} であった。今年度はパイロット実験として、HIV/Vpr 遺伝子産物に結合するペプチドの同定を試みた。Vpr リコンビナント蛋白質を 6 cm プレートにコートし、パニング法にて目的の蛋白質に親和性を示すバクテリアを精製し、プラスミドを回収後、ペプチドをコードする領域の塩基配列を決定した。予測されるペプチドを合成し、その後の実験に供した。

C. 研究成果

a. dlk 蛋白質の発現；ウエスタン解析上、抗体に反応する約 35kDa の蛋白質を検出した。

b. Vpr に結合するペプチドと新規 Vpr 結合蛋白質の解析；①Vpr に結合するペプチド (VAP-1 ;Vpr-associating peptide) を同定した。VAP-1 には、D-box (RXXLG)が含まれていた。D-box は細胞周期制御因子の分解調節において重要な役割を担うことが知られており、サイクリン B やセクリンに認められている。②D-box を有する代表的な蛋白質としてサイクリン B 及びセクリンと Vpr が直接結合することを明らかにした。③Vpr が D-box を介して結合することによりユビキチン化による蛋白質分解機構が破綻し、M-期遅延と染色体分離異常が誘発されることを明らかにした。

D. 考察

PPDL を用いて、Vpr に結合する新規結合蛋白質を同定した。これまでにレセプター型チロシンキナーゼ RET に結合するペプチドも明らかにしており、RPDL は新規結合蛋白質を同定する新しい切り口を提供する有力な実験システムであることが確信された。dlk 遺伝子は、膜蛋白質として細胞分化の制御に関与していることが知られている。その際、蛋白質間相互作用が重要であることが予測されるが、dlk に結合するリガンドの有無及びその分子については全く明らかになっていない。本研究で同定を試みるペプチドにより、dlk のリガンドが明らかになる可能性が考えられる。また、dlk のシグナルを遮断するようなペプチドを得ることにより、不応性貧血の病態改善を可能にする研究の発展も期待される。

E. 結論

1. dlk 遺伝子産物として 35kDa 蛋白質を発現した。
2. Vpr が結合するペプチド、VAP-1 を同定した。この中には、D-box が含まれていた。
3. D-box を含むサイクリン B 及びセクリンに Vpr が結合することを明らかにした。
4. RPDL が病態解析の新しい切り口を提供することが明らかとなった。

F. 健康危険情報 無

G. 究発表

1. Kotani, S., et al. Binding to D-box motif by Vpr, an accessory gene of human immunodeficiency virus, leading to perturbation of APC activities with delayed mitosis and precocious sister chromatid separation. Nature submitted.
2. Shimura, M. et al. Oxidative stress involved in room temperature induced apoptosis of HL-60 cells. J. Leukoc. Biol. 68, 87-96, 2000.
3. Yano, R., et al. Improved gene transfer to neuroblastoma cells by a monoclonal antibody targeting RET, a receptor tyrosine kinase. Human Gene Therapy, 11, 995-1004, 2000.
4. Okuma, E., et al. Induction of apoptosis in human hematopoietic U937 cells by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: possible existence of caspase-3 like pathway. Leukemia, 14, 612-619, 2000.

H. 知的財産権の出願登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得、出願準備中
RET 結合ペプチドを用いた癌細胞標的化
2. 実用新案登録、無
3. その他、無

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Miyazato A, et al.	Identification of myelodysplastic syndrome-specific genes by background-matched population (BAMP) screening.	Blood	in press		
Bony C, et al.	A specific role of phosphatidylinositol 3-kinase g: a regulation of autonomic Ca ²⁺ oscillation in cardiac cells.	J. Cell. Biol.	in press		
Maeda Y, et al.	Endogenously generated nitric oxide by nitric-oxide synthase gene transfer inhibits cellular proliferation.	J. Pharmacol. Exp. Ther.	292(1)	387-393	2000
Ogasawara Y, et al.	Potential application of dominant negative retinoic acid receptor genes for ex vivo expansion of hematopoietic stem cells.	Gene Ther. Mol. Biol.	3	293-300	2000
Matsuda KM, et al.	A novel strategy for the tumor angiogenesis-targeted gene therapy: generation of angiostatin from endogenous plasminogen by protease gene transfer.	Cancer Gene Ther.	7(4)	589-596	2000
Yoshida K, et al.	Mediation by the protein-tyrosine kinase Tec of signaling between the B cell antigen receptor and Dok-1.	B J. Biol. Chem.	275(32)	24945-24952	2000

雑誌

間野 博行

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Van Dijk TB, et al.	Stem cell factor induces phosphatidylinositol 3'-kinase-dependent Lyn/Tec/Dok-1 complex formation in hematopoietic cells.	Blood	96(10)	3406-3413	2000
Ellmeier W, et al.	Severe B Cell Deficiency in Mice Lacking the Tec Kinase Family Members Tec and Btk.	J. Exp. Med.	192(11)	1611-1623	2000
間野博行	DNA チップを用いた悪性リンパ腫の遺伝子解析.	免疫・Immunology Frontier	11(1)	26-29	2001
間野博行	DNA マイクロアレイによる白血病診断.	医学のあゆみ	196(6)	425	2001
間野博行	DNA チップを用いたハイリスク関連遺伝子の同定.	血液フロンティア	10(S-1)	109-115	2000
吉田浩司, 間野博行	自殺遺伝子と肝細胞癌遺伝子治療.	G. I. Research	8(6)	447-451	2000

研究成果の刊行に関する一覧表

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
間野博行	DNA マイクロアレイ.	血液・腫瘍科	41(6)	557-562	2000
間野博行	DNA microarray と白血病/リンパ腫.	分子細胞治療	1(5)	483-489	2000
間野博行	SNP.	分子細胞治療	1(2)	211-212	2000

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

溝口 秀昭

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Akiyama M, Asai O, Mizoguchi H et al	Shortening of telomeres in recipients of both autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	Bone Marrow Transplantation	25	441- 447	2000
Wada M, Okamura T, Mizoguchi H et al	Deletion of the frequently deleted region on chromosome arm 13q in B-cell non-Hodgkin's lymphoma.	Int J Hematol	71	159- 166	2000
Inoue K, Kohno T, Mizoguchi H et al	Frequent microsatellite instability and BAX mutations T cell acute lymphoblastic leukemia cell lines.	Leukemia Res	24	255- 262	2000
Wada M, Mizoguchi H et al	Induction therapy consisting of alternating cycles of tanimustine, vincristine, melphalan, dexmethasone and interferon α (RDAD-1N) and a randomized comparison of interferon α maintenance in multiple myeloma a co-operative study in Japan.	Int J Hematol	109	805- 814	2000
Shirotsu Y Yamashita K Mizoguchi H et al	Chemoprotective effects of KF41399, a derivative of carbazole compounds, on nimustine-induced thrombocytopenia.	Blood	95 (12)	3771- 3780	2000

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Mori M Morosetti R Mizoguchi H et al	Allelic loss in the progression of myelodysplastic syndrome.	Cancer Res.	66	3039 -3042	2000
Kojima S Nakao S Mizoguchi H et al	Consensus conference on the treatment of aplastic anemia.	Int J Hematol	72	118 -123	2000
Akiyama M Yamada O Mizoguchi H et al	Ectopic expression of c-myc fails to overcome downregulation of telomerase activity induced by helbrymycin A, but ectopic hTERT expression overcomes it.	Leukemia	14	1260 -1265	2000
Motomura S Motoy T Mizoguchi H et al	Successful treatment of refractory anemia by high-dose methylprednisolone associated with an increment in CD66-positive cells in bone marrow.	Am J Hematol	66(2)	80- 84	2001

研究成果の刊行に関する一覧表

国立国際医療センター研究所、石坂幸人

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版者名	出版地	出版年	ページ
Shimura, M. and Ishizaka, Y.	Inhibition by quercetin of micronuclei formation via Vpr, an accessory gene of HIV.	Pandalai, S.G.	Recent Research Developmen ts in Cancer	Research Signpost	India	2001	In press
石坂幸人 志村まり	非ウイルス性バクターシス テムの構築		技術予測シ リーズ：2 1世紀に期 待される技 術～その展 望	日本ビジ ネスレポ ート株式 会社	東京	2000	4巻 157-165

雑誌

発表者名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
石坂幸人、 志村まり	HIV アクセサリ ー遺伝子 Vpr の 基礎と新規抗エ イズ療法	医療	5 4	110-118	2000 年
Terui, Y., Mori, M., Tomizuka, H., Takizawa, T., Miyazato, A., Uwai, M., Mishima, Y., Ueda, M., Inoue, R., Yamada, M., Ishizaka, Y., Ikeda, K., Kato, T., Ozawa, K., and Hatake, K.	A new human myelodysplastic cell line, TER-3: G-CSF specific downregulation of calmodulin- dependent kinase IV.	J Cell Phys.			in press.
Uwai M, Terui Y, Mishima Y,	A new apoptotic pathway for	J Cell Physiol.,	185	280-292	2000

Tomizuka H, Ikeda M, Itoh T, Mori M, Ueda M, Inoue R., Yamada, M., Hayasawa, H., Horiuchi, T., Nihon Y., Matsumoto, M., <u>Ishizaka, Y.</u> , Ikeda, K., Ozawa, K., and Hatake, K.	complement factor B derived fragment Bb.					
Shimura, M., Okuma, E., Yuo, A., Hatake, K., Takaku, F., <u>Ishizaka, Y.</u>	Oxidative stress involved in room temperature induced apoptosis of HL-60 cells.	J. Leukoc. Biol	68	87-96	2000	
Yano, R., Shimura, M., Taniguchi, M., Hayashi, Y., Suzuki, T., Hatake, K., Takaku, F., <u>Ishizaka, Y.</u>	Selective gene transfer to neuroblastoma cells by a monoclonal antibody targeting RET, a receptor tyrosine kinase.	Human Gene Therapy,	11	995-1004	2000	
Okuma, E., Saeki, K., Shimura, M., <u>Ishizaka, Y.</u> , Yasugi, E., and Yuo, A	Induction of apoptosis in human hematopoietic U937 cells by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: possible existence of caspase-3 like pathway.	Leukemia,	14	612-619	2000	

20000396

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
P9~P15「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください

