

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

バセドウ病眼症病変部線維芽細胞増殖における sulfate transporter
および somatostatin 受容体の役割と病変部線維芽細胞における
サイトカイン遺伝子発現

分担研究者 對馬 敏夫 東京女子医科大学第二内科 教授
共同研究者 磯崎 収、宮川めぐみ、高野加寿恵、井上 洋一*
東京女子医科大学第二内科、*オリンピア眼科病院

研究要旨

バセドウ病眼症の病変部より樹立した培養線維芽細胞（GOF）にたいして sulfate transporter (ST) の抑制剤である塩素酸ナトリウムおよび diisothiocynodisulfonic acid stilbene (DIDS; anion transporter) は高濃度 TSH による DNA 合成を抑制した。DIDS は低濃度の薬理量で作用したが細胞毒性もみとめられ、より特異的な ST 抑制方法の開発が必要とされた。また、培養 GOF は octreotide に対して親和性が高い Class 1 family の somatostatin (SS) 受容体を有しており、SS は 10% 牛胎児血清による GOF の DNA 合成を抑制したが、高濃度 TSH の作用は完全には抑制しなかった。この結果は TSH 受容体以外の情報伝達系に octreotide が作用して臨床効果を発揮する可能性を示唆し、今後の検討を必要とした。また手術時に得られた病変部組織では活動性リンパ球に特異的な telomerase 等の遺伝子発現は希であったが、多くのサイトカインの発現を認め、一部のものでは培養線維芽細胞においても認められ、TSH による発現の制御が認められた。この結果は GOF 自体が TSH 受容体抗体とサイトカインのクロストークの場であり、これを標的とした新たな治療法の可能性が示唆された。

A. 研究目的

バセドウ病眼症は希ではあるが時として急速に進行しするとともに治療に抵抗性を示し、失明にいたる症例も存在し、臨床的には大きな問題である。最近の transgenic mouse を用いた研究よりバセドウ病眼症（GO）の発症には TSH 受容体抗体が大きな役割を果たしていることが示唆されている。今回 GO の増悪機構を解明するため眼症の手術時に得られた組織より線維芽細胞（GOF）の培養を行いその増殖に対す、

sulfate transporter の抑制の影響と、somatostatin および octreotide の作用を明らかにし、これらを用いた新しい眼症治療法の確立を目的とする。また、眼症病変部におけるサイトカイン遺伝子発現における病変部線維芽細胞とその TSH 受容体の役割を明らかにし、この結果を利用した新しいバセドウ病眼症治療の開発を目標とする。

B. 研究方法

バセドウ病眼症 (GO) の手術において、病変部の切除または病変部へのアプローチのため切除された組織のうち病理検査にて不要になったものを患者および主治医の承諾のもとに使用した。一部の組織より既報の方法を用いて線維芽細胞の培養を行った。この線維芽細胞の増殖に対するTSHおよび各種試薬の影響はDNAへの³H-thymidine取り込みまたはMTTアッセイにて行った。サイトカインのmRNAの測定はtotal RNAを抽出後にRT-PCRで行い、PCR産物をImage analyzerにて定量した。

C. 研究結果

GOFは高濃度 (10mU/ml) のTSHによりDNA合成が促進され、このTSHの作用はsulfateの取り込みを抑制する10mMの塩素酸ナトリウムで抑制された。次に同様にsulfate transporterを抑制するanion transporterの阻害剤であるdiisothiocyn-disulfonic acid stilbene (DIDS) は10 μ Mという低濃度でTSHの作用を抑制し臨床的応用可能が示唆されたが、それ自体で細胞毒性を有することが判明したため、さらに毒性が少ない臨床応用可能なST阻害物質の検索が必要である。

次に眼症病変部およびGOFにおけるsomatostatin 受容体subtypeの発現をsubtypeに特異的なRT-PCRで測定した。その結果octreotideに高親和性のclass I familyのSS受容体を形成する2型, 3型, 5型のうち2,3のmRNAは病変部の組織においても培養GOFにおいてもかなり多量に発現していることが判明した。また、SSは10nMの濃度で0.2% 胎児牛血清を含む対照細胞のDNA合成には影響を与えなかったが10% FCSにて刺激したGOFのDNA合成を有意に抑制す

ることが判明した。しかし、100mU/mlのTSHにて刺激したDNA合成は抑制を認めなかった。このことはGOFにおける高濃度のTSHの刺激作用は甲状腺細胞とは異なりcAMP/IP3以外の経を介している可能性も示唆した。しかし、臨床的にはoctreotideが有効な可能性が示唆されているためoctreotideを用いた検討を行う必要がある。

バセドウ病眼症の病変部組織におけるサイトカインの発現は諸家より報告されており、その産生部位は組織に浸潤する活性化リンパ球が想定されている。今回眼症組織および培養GOFにおけるtelomeraseの発現をtelomerase reverse transcriptase (hTERT) のmRNAを測定することにより検討した。バセドウ病甲状腺組織や正常甲状腺組織においてはかなりの頻度でその発現を認めたが、眼症病変部組織においては10例中1例のみであった。このことは眼症手術前に行われたステロイドおよび放射線療法により活性化されたリンパ球は排除された可能性が存在する。IL-4の発現は同様に1例の組織において認められた。しかし、INF-gamma, IP-10, IL-6, TNF-alpha, HLA-DR, CD40Lの発現は大多数の組織で認められ、眼症病変部においては一度活性化された自己免疫反応がリンパ球以外のeffector細胞を介して持続している可能性が示唆された。病変部より確立されたGOFにおいてはIL-6、RANTESの発現は未処理の細胞でも認められたがHLA-DRおよびIP-10はTSHおよびTNF-alpha処理により発現が誘導されること、IL-6の発現量がTSHにより増加することが判明し、眼症病変部においてはGOF自体が甲状腺刺激抗体とサイトカインの刺激をうけて新たにサイトカインを発現するとい自己免疫反応の増幅機構として作用している可能性が

示唆された。

D. 考 察

バセドウ病眼症病変部におけるsulfationの阻害は細胞外マトリックスを形成するGAGsの細胞増殖因子の低親和性受容体としての機能を抑制し病変部線維芽細胞の増殖を阻止するばかりでなく病変部のGAGsの親水性を低下させ局所の浮腫を組織の腫脹を軽減させ、有望な治療法と考えられたが、今回用いたDIDSは低濃度でsulfate transporterを阻害し効果を発現したが細胞毒性を有することより、新たな化合物もしくはantisense DNA等を用いた新たな方法を開発することが必要と考えられた。

近年諸外国でバセドウ病眼症の治療に用いられているoctreotideに関してはその理論的裏付けが必要とされていたが、今回の検討では眼症病変部の組織および病変部線維芽細胞においてsomatostatinのclass I familyの受容体subtypeが発現しておりsomatostatinは10%FCSによるGOFの細胞増殖を抑制することよりその作用機構は細胞増殖の抑制を含むことが判明したが、さらにどの様な機構を介して細胞増殖を抑制するか明らかにする必要がある。

バセドウ病眼症の手術時に得られた組織においては予想に反して活動性のリンパ球の浸潤は少ないことがtelomeraseの遺伝子発現の検討より判明した。しかし、多くのサイトカイン遺伝子の発現は認められたが、そのサイトカイン遺伝子発現の場としての線維芽細胞の可能性が示唆された。これらの結果は線維芽細胞が眼症発症に重要な役割を果たしている刺激型の甲状腺刺激ホルモン受容体抗体とサイトカインのクロストーク場所であることを示唆するとともに、これらの反応に関与する転写因子とその活性化

機構を抑制することにより新たな治療法の開発が可能と考えられた。

E. 結 論

バセドウ病眼症の新しい治療法としてのsulfate transporterの抑制は局所で増生している線維芽細胞の増殖を抑制する事が判明し、臨床応用可能な手段の開発が望まれる。また、somatostatin受容体も眼症線維が細胞に存在し、成長促進物質の作用を抑制することが判明し、眼症への応用への論理的根拠が得られた。また眼症病変部にはリンパ球浸潤が著明でない場合も存在するが線維芽細胞自体がサイトカインを産生し、病態の持続に関与していることが判明した。よって甲状腺刺激抗体とサイトカインのクロストークを抑制する線維芽細胞自体をtargetとした治療法の可能性が示唆され、今後の検討課題である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

A. 論文発表

Matsuda, T Tsushima, T Yamamoto, T Fujita, Y Taketani, M Fukayama, S Kimura, Y Yazaki, R Nagai, T Kadowaki. Constitutive tyrosine phosphorylation of ErbB-2 via jak2 by autocrine secretion of prolactin in human breast cancer. T Yamauchi, N Yamauchi, K Ueki, T Sugiyama, H Waki, H Miki, K Tobe, S J Biol Chem. 275(43): 33937-44., 2000.

T Tsushima, Y Katoh, Y Miyachi, K Chihara, A Teramoto, M Irie, Y Hashimoto Study Group of 20K hGH. Serum concentrations of 20K

human growth hormone in normal adults and patients with various endocrine disorders. *Endocr J.* 47 Suppl: S17-21. 2000.

O Isozaki, T Tsushima, Y Nozoe, M Miyakawa and K Takano. Expression of functional leptin receptor in the thyroid: identification of long form of receptor mRNA and inhibition of iodide uptake and cell proliferation in rat FRTL-5 cells. Submitted to *J Endocrinology*.

O Isozaki, T Tsushima, M Miyakawa, Y Nozoe, K Takan and Y Inoue. Possible involvement of hypoxia in Graves' ophthalmopathy: its regulation on vascular permeability/endothelial growth factor gene expression. Submitted to *Thyroid*.

B. 学会発表

O. Isozaki, T. Tsuhima, M. Miyakawa, Y. Nozoe, K. Kato, M. Nishimaki, T. Takano, Y. Inoue. Expression of reverse transcriptase (hTERT) mRNA in orbital tissues from patients with Graves' Ophthalmopathy: comparison to cytokine mRNA expressions. *Progress in thyroid associated ophthalmopathy 2000年10月21日 Program and Abstract Book p81, 2000.*

O. Isozaki, T. Tsushima, M. Miyakawa, Y. Nozoe, K.Kato, M. Nishimaki, T. Takano , Y. Inoue. Sulfate transporters and sulfotransferase in Graves' ophthalmopathy: regulation in gene expression and functional roles in affected fibroblasts. *12th International Thyroid Congress 2000年10月24日 Endocrine J 47 (Suppl.) 152, 2000.*

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

Na⁺/I⁻ symporter (NIS) 遺伝子を利用した甲状腺癌の治療の試み

分担研究者 女屋 敏正 山梨医科大学第三内科 教授

研究協力者 志村 浩己、遠藤登代志

研究要旨

バセドウ病や分化型甲状腺癌においては、ヨード取り込みと有機化能を利用した放射性ヨード治療が広く行われているが、未分化甲状腺癌においては、これらの甲状腺特異的遺伝子の発現が消失しており、放射性ヨード治療の効果は期待できず、未だ有効な治療法がない。今回我々は、NIS遺伝子導入による¹³¹I治療法の開発を試みた。ヨード取り込み能を持たない甲状腺細胞にNIS遺伝子を導入した結果、in vitroおよびin vivoにおいて放射性ヨードの取り込みが認められ、画像診断に応用が可能であると考えられた。NIS遺伝子の導入による実験的¹³¹I治療の結果、腫瘍増殖抑制効果がみられたが十分ではなく、ヨード有機化能の欠損による腫瘍内における放射性ヨードの短い有効半減期が問題となると考えられた。そこで、未分化甲状腺癌細胞にTTF-1遺伝子を導入した結果、TG, TPO, NIS遺伝子の発現が誘導され、有機化能の誘導を伴った¹³¹I治療の可能性が示唆された。

A. 研究目的

正常甲状腺細胞では、Sodium iodide symporter (NIS) がヨードを取り込み、これをthyroperoxidase (TPO) が濾胞内にあるthyroglobulin (Tg) に結合させ、これをもとにして甲状腺ホルモンの分泌を行っている。バセドウ病や分化型甲状腺癌においては、このヨードの取り込みと有機化能を利用した放射性ヨード治療が広く行われている。しかし、未分化甲状腺癌においては、これらの甲状腺特異的遺伝子の発現が消失しており、放射性ヨード治療の効果は期待できない。

これらの甲状腺特異的遺伝子のプロモーター領域にはいくつかの甲状腺特異的転写因子が結合し、甲状腺特異的な発現を誘導しているが、

これらのうちthyroid transcription factor-1 (TTF-1) は、Tg, TPO, NIS遺伝子いずれにも作用し、転写を促進することが明らかになっている。しかし、未分化甲状腺癌においては、TTF-1をはじめとする甲状腺特異的転写因子の発現が消失しており、これがTg, TPO, NIS遺伝子などの発現消失の原因と考えられている。

そこで今回我々は、ヨード取り込み能を失った甲状腺未分化癌細胞へのNIS遺伝子導入による実験的¹³¹I治療を試みるとともに、甲状腺未分化癌細胞へのTTF-1遺伝子導入によるTg, TPO, NIS遺伝子の再発現誘導を検討した。

B. 研究方法

1. NIS遺伝子の導入

我々が以前ラット甲状腺細胞より樹立したFRTL-Tc細胞は、Tg, TPO, NIS遺伝子の発現が認められず、Fischerラット内において腫瘍形成能を持つ細胞である。このFRTL-Tc細胞にneo遺伝子を含むNIS遺伝子発現プラスミドを導入し、G418存在下で培養し、NIS遺伝子発現細胞株(Tc-rNIS細胞)を得た。

2. In vitro, in vivoにおけるヨード取り込みの測定

細胞培養下におけるヨード取り込みの測定は、 $1\mu\text{M NaI} + \text{Na}^{125}\text{I}$ 存在下にて20分培養後、細胞内に取り込まれた ^{125}I による放射活性を測定した。in vivoにおけるヨード取り込みは、Tc-rNIS細胞およびFRTL Tc細胞を移植し腫瘍を形成したFischerラットに $5\mu\text{Ci}$ の Na^{125}I を腹腔内に投与し、2時間後腫瘍および血清を採取し、放射活性を測定した。 ^{125}I を腹腔内投与したラットのシンチグラムは、BAS 2000 image analyzerによって解析し、甲状腺および腫瘍内の放射活性の変化を測定した。

3. 実験的 ^{131}I 治療

FRTL-TcおよびTc-rNIS細胞を移植後、2週及び3週の時点でそれぞれ $500\mu\text{Ci}$ 、計 1mCi Na^{131}I を腹腔内に投与し、移植4週後の腫瘍体積を計測した。

4. アデノウイルスベクターの作製と感染

E1領域を欠損した5型アデノウイルス遺伝子にrat TTF-1遺伝子とCMVプロモーターを挿入したAdTTF-1と、コントロール用としてLacZ遺伝子を挿入したAdLacZを作製し

た。これらのアデノウイルスベクターをヒト甲状腺乳頭癌より樹立された細胞株BHP18-21vに各MOIで感染させ、24時間後RNAを回収しNorthern blotあるいはRT-PCRによってTg, TPO, NIS遺伝子発現を検討した。

C. 研究結果

1. NIS遺伝子導入細胞のin vitroにおけるヨード取り込みと放出

^{125}I のuptakeは、FRTL-Tc細胞においては全く認められなかったのに対し、Tc-rNIS細胞においては非常に高いuptake活性が認められ、mediumと比べ約60倍のヨードの濃縮がみられた。正常の機能を保持したFRTL細胞では30倍の濃縮がみられた。一方、 ^{125}I の放出は、FRTL細胞において非常に速やかなヨードの放出 ($t_{1/2} < 2$ 分) がみられるのと対照的に、Tc-rNIS細胞においては、比較的ゆっくりとした放出 ($t_{1/2} = 16$ 分) が認められた。

2. in vivoにおけるヨード取り込み

Tc-rNIS細胞とFRTL-Tc細胞をFischerラットに移植後、 ^{125}I を腹腔内に投与し、2時間後腫瘍および血清を採取したところ、形成した腫瘍内には、最大、投与した ^{125}I の27.5%がuptakeされ、血清中の27.3倍の濃縮が認められた。一方、FRTL-Tc細胞が形成した腫瘍内には、血清中よりも低いレベルの ^{125}I しか検出されなかった。

次に、腫瘍内および甲状腺における ^{125}I uptakeの時間的経過を明らかにするため、ラット中の放射活性の体外測定とそのimagingを試みた。その結果、Tc-rNIS細胞を移植したラットにおいて、非常に明瞭な腫瘍内 ^{125}I 集積像が認められた。そこで、腫瘍内および

甲状腺内における¹²⁵I uptakeのtime courseを検討したところ、腫瘍内への¹²⁵Iのuptakeは投与後90分前後に最大となり、6時間後には早くもほぼ半減した。この時間的变化は、ラット全体の放射活性の時間的变化とほぼ並行していた。一方、甲状腺へのuptakeは徐々に増加し、投与後4-8時間で最大となった。

3. 実験的¹³¹I治療

NIS遺伝子を腫瘍細胞に発現させることにより、¹³¹I治療が可能になるかどうかを検討するため、Tc-rNIS細胞を移植し腫瘍を形成したラットに計1mCi¹³¹Iを投与し、腫瘍体積の計測を行った。その結果、Tc-rNIS細胞の腫瘍では¹³¹Iの投与により腫瘍の縮小傾向、一方FRTL-Tc細胞の腫瘍では増大傾向が認められましたが、両者ともに、有意差は認められなかった。

4. TTF-1遺伝子導入による甲状腺特異的遺伝子の発現誘導

BHP18-21細胞にアデノウイルスベクターを感染させ24時間後のサイログロブリン遺伝子の発現をRT-PCRで検討した結果、AdTTF-1を感染させたときのみ、感染ウイルス量に比例したサイログロブリン遺伝子の発現が認められた。TPO遺伝子の発現はNorthern blotにより検討したが、同じくAdTTF-1を感染させたときのみTPO mRNAの出現が認められた。NIS遺伝子についても同様にNorthern blotを行ったところ、やはりAdTTF-1のみで感染ウイルス量に比例したmRNA発現誘導が認められたが、ラット甲状腺細胞であるFRTL-5細胞に比べやや小さいサイズのmRNAが検出された。

D. 考 察

NIS遺伝子を導入したTc-rNIS細胞において、in vitroにおいて正常機能を保持した甲状腺細胞FRTLに比べ高いヨード取り込みと緩徐な放出が認められ、in vivoにおいても高いヨード取り込みがみられた。この結果から、腫瘍特異的遺伝子のプロモーターなどを利用することにより画像診断に応用可能であると考えられた。しかし、¹³¹Iの投与を行ったところ、十分な腫瘍縮小効果が得られなかった。この理由としては、投与した¹³¹I量の不足と共に、腫瘍内放射性ヨードの有効半減期が6時間という短時間であったことが挙げられる。これは、FRTL-Tc細胞がTG、TPO遺伝子を発現しておらず、ヨード有機化能を欠損していることに起因していると考えられた。従って、治療効果を上げるためには、TgとTPOを同時に発現させる必要があると考えられた。そこで、これらの遺伝子に加えNIS遺伝子にも作用する転写因子TTF-1を遺伝子導入したところ、Tg、TPO遺伝子発現が誘導され、NIS遺伝子と同時に導入することにより効果的な¹³¹I治療が可能になることが示唆された。また、NIS遺伝子の発現誘導も認められたが、ラット甲状腺細胞FRTL-5に比べやや小さいサイズのmRNAが検出された。この差異は、TTF-1遺伝子導入が、NIS mRNAの一部が欠損したvariant NISを発現させている可能性を示唆していると考えられた。

E. 結 論

ヨード取り込み能を持たない細胞にNIS遺伝子を導入した結果、in vivoにおいても放射性ヨードの取り込みが認められ、画像診断に応用が可能であると思われた。しかし、NIS遺伝子の導入による¹³¹I治療においては、放射性ヨード

の腫瘍内における有効半減期が短いことが問題となると考えられた。そこで、甲状腺癌細胞に TTF-1 遺伝子を導入した結果、TG, TPO, NIS 遺伝子の発現が誘導され、甲状腺特異的遺伝子発現を失った甲状腺癌への効果的な¹³¹I治療の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

C.H. Kang, M. Ohmori, T. Endo, T. Onaya. Pax-8 is essential for regulation of the thyroglobulin gene by transforming growth

factor- β 1. ENDOCRINOLOGY, 142, : 267. 2000.

K. Ohta, T. Endo, T. Onaya. Ligand for peroxisome proliferator-activated receptor inhibit growth and induce apoptosis of human Papillary thyroid carcinoma cells. J EndocrInol Metab (in press).

H. Shimura, H. Suzuki, A. Miyazaki, F. Furuya, K. Ohta, K. Haraguchi, T. Endo, T. Onaya. Transcriptional activation of thyroglobulin promoter directing suicide gene expression by thyroid Transcription factor-1 in thyroid cancer cells. Cancer Res (In press).

IV. 研究成果の刊行に関する一覧

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
Journal of Epidemiology 10(1): 29-33. Prevalance of idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism in Japan.	2000		Nakamura Y, Matumoto T Tamakoshi A, Kawamura T, Seino Y, Kasuga M, Yanagawa H, and Ono Y.
Kidny International 57: 401-404. Novel mutation in the nephrin gene of a Japanese patient with congenital nephrotic syndrome of the finish type.	2000		Aya K, Tanaka H, and Seino Y.
Endocirne Journal 47(1) 29-35 The effect of calsiium-sensing receptor gene polymorthisms on serum calsiium levels: A familial hypocalsiuric hypercalcemia family without mutation in the calsiium-sensing receptor gene.	2000		Kanazawa H, Tanaka H, Kodama S, Moriwake T, Kobayashi M, Seino Y.
Journal of General Virology 81: 663-673. Suppressive effects of human herpesvirus-6 on thrombopoietin-inducible megakarocytic colony formation in vitro.	2000		Isomura H, Yoshida M, Namba H, Hujiwara N, Ohuchi R, Uno F, Oda M, Seino Y, and Yamada M.
Clin Exp Nephrol, 4: 11-17. Blunted effect of parathyroid hormone on adenosine 3',5'-cyclic monophosphate production is derived from ATP depletion in proximal convoletd tubles of hypophosphatemic mice.	2000		Shima M, Yamaoka K, Nakamura K, Simizu N, Yamamoto T, Seino Y, et al.
Endocrinology 141(4): 1317-1324. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads.	2000		Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, and Seino Y.

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
Bone 26(3): 281-286. Altered biochemical markers of bone turnover in humans during 120 days of bed rest.	2000		Inoue M, Tanaka H, Moriwake M, Oka C, Sekiguchi C, and <u>Seino Y.</u>
Endocrine Journal 47(2): 197-201. Thyroid-stimulating antibody in a patient with euthyroid Graves' disease.	2000		Kubo T, Toki J, Kado Y, Kurihara M, Moriwake T, Kanzaki S, and <u>Seino Y.</u>
Journal of Bone and Mineral Research 15(8): 1451-1458. The effects of bone marrow transplantation on X-linked hypophosphatemic Mice.	2000		Miyamura T, Tanaka H, Inoue M, Ichinose Y, and <u>Seino Y.</u>
Clinical Pediatric Endocrinology 9(1): 7-17. Growth-promoting and psychological effects of high-dose growth hormone treatment in children with intrauterine growth retardation.	2000		Tanaka T, Matsuo N, <u>Seino Y.</u> , Fujieda K, Yokoya S, Tachibana K, and the Study Group of GH Treatment in IUGR.
Hormone Research 53(Suppl 3): 53-56. Growth hormone therapy in achondroplasia.	2000		<u>Seino Y.</u> , Yamanaka Y, Shinohara M, Ikegami S, Koike M, Miyazawa M, Inoue M, Moriwake T, Tanaka H.
Clinical Pediatrics Endocrinology 9(1): 19-24. GH Treatment in a patient with partial GH Insensitivity syndrome.	2000		Kubo T, Takaiwa M, Kawakami M, Nagata K, Nikaido K, Moriwake T, Kanzaki S, and <u>Seino Y.</u>

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
American Journal of Medical Genetics 94: 28-31. Rapid screening method to detect mutaitons in CYP21, the gene for 21-Hydroxylase.	2000		Yokoyama Y, Teraoka M, Tsuji K, Ninomiya S, Inoue C, Ymashita S, Nakahara K, and Seino Y.
Clinical Genetics 58: 224-227. A novel mutation (296 del G) of the SOX9 gene in a patient with campomelic syndrome and sex reversal.	2000		Ninomiya S, Yokoyama Y, Teraoka M, Mori R, Inoue C Yamashita S, Tamai H, Funato M and Seino Y.

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
J Clin Endocrinol Metab 85: 765-768 Expression of oncofetal fibronectin messenger ribonucleic acid in fibroblasts in the thyroid: a possible cause of false positive results in molecular-based diagnosis of thyroid carcinomas.	2000	The Endocrine Society	Takano T, Miyachi A, Matsuzuka F, Kuma K, Amino N.
J Clin Endocrinol Metab 85: 671-675 Diagnosis of thyroid malignant lymphoma by reverse transcription-polymerase chain reaction detecting monoclonality of immunoglobulin heavy chain messenger ribonucleic acid.	2000	The Endocrine Society	Takano T, Miyachi A, Matsuzuka F, Kuma K, Yoshida H, Amino N.
Am J Reprod Immunol 44: 143-147 Changes in cytokine production during and after normal pregnancy.	2000	Munksgaard, Copengagen	Shimaoka Y, Hidaka Y, Tada H, Nakamura T, Mitsuda N, Morimoto Y, Murata Y, Amino N.
Clin Chem 46: 523-528 Serum dehydroepiandrosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and pregnenolone sulfate concentrations in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism.	2000	American Association for Clinical Chemistry	Tagawa N, Tamanaka J, Fujinami A, Kobayashi Y, Takano T, Fukata S, Kuma K, Tada H, Amino N.
Clin Chem, 46: 1015-1016 Thyroid function during pregnancy.	2000	American Association for Clinical Chemistry	Amino N, Tada H. Hidaka Y, Izumi Y.
Clin Chem, 46: 112-117 Enzyme immunoassay for autoantibodies to human liver-type arginase and its clinical application.	2000	American Association for Clinical Chemistry	Kimura M, Tatsumi K, Tada H, Ikemoto M, Fukuda Y, Kaneko A, Kato M, Hidaka Y, Amino N.

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
Clin Chim Acta 296: 193-201 Heterologous enzyme immunoassay for serum androstenediol.	2000	Elsevier Science B.V.	Tagawa N, Tamanaka J, Fujinami A, Kiguchi T, Naito T, Takano T, <u>Amino N</u> , Kobayashi Y.
Thyroid 10: 471-474 A novel V59E missense mutation in the Na ⁺ /I ⁻ symporter gene in a family with iodide transport defect.	2000	Mary Ann Liebert Inc.	Fujiwara H, Tatsumi K, Tanaka A, Kimura M, Nose O, <u>Amino N</u> .
Nucleic Acids Res 28: E63 (i-vii) Loop-mediated isothermal amplification of DNA.	2000	Oxford University Press	Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, <u>Amino N</u> .
Endocr J 47: 271-275 Preoperative diagnosis of thyroid carcinomas by reverse transcription-polymerase reaction: a report of two cases.	2000	The Japan Endocrine Society	Takano T, Shiba E, Tada H, Yoshimura H, Miyamoto M, Amino N.
Clin Chim Acta 299: 179-192 Enzyme-linked immunosorbent assay for anti-tropomyosin antibodies and its clinical application to various heart diseases.	2000	Elsevier Science B.V.	Fujita A, Kuroda S, Tada H, Hidaka Y, Kimura M, Takeoka K, Nagata S, Sato H, Amino N.
Endocr J 47: 591-593 Self-examination of thyroid nodules.	2000	The Japan Endocrine Society	Takano T, Hasegawa Y, <u>Amino N</u> .

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
Eur J Endocr 143: 783-787 A novel mutation of the <i>KALI</i> gene in monogyotic twins with Kallmann syndrome.	2000	Society of European Journal of Endocrinoly	Matuo T, Okamoto A, Izumi Y, Hosokawa A, Takegawa T, Fukui H, Z. Tun, Honda K, Matoba R, Tatsumi K, <u>Amino N.</u>
Br J Cancer 83: 1495-1502 Gene expression profiles in thyroid carcinomas.	2000	Cancer Research Campaign	Takano T, Hasegawa Y, Matsuzuka F, Miyauchi A, Yoshida Y, Higashiyama T, Kuma K, <u>Amino N.</u>
Endocr J 47: 645-655 Postpartum autoimmune thyroid syndrome.	2000	The Japan Endocrine Society	<u>Amino N.</u> , Tada H, Hidaka Y, Izumi Y.

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
<p>Biochem. Biophys. Res. Commun. 277. 281-286 Detribution of aldose reductase gene (Akr1b1) causes defect in urinary concentrating ability and divarent cation homeostasis.</p>	2000		Aida K, Ikegishi Y, Chen J, Tawata M, Ito S, Maeda S, Onaya T.
<p>J. Clin. Endocrinol. Metab, 85. 2020-2027. Detection of binding and blocking autoantibodies to the human sodium-iodide symporter in patients with autoimmune thyroid deisease.</p>	2000		Aijan AR, Kemp EH, Waterman EA, Watson PF, Endo T, Onaya T, Weetman AP.
<p>Endocrinology, in press. Pax-8 is essential for regulation of the hyroglobulin gene by transforming growth factor-β 1.</p>			Kang HC, Ohmori M, Harii N, Endo T, Onaya T.

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
EMBO J., 20, No.6, pp.1-12. A subfamily of RNA binding DEAD-box proteins acts as an estrogen receptor α coactivator through the N-terminal activation domain (AF-1) with an RNA coactivator, SRA.	2001	European Molecular Biology Organization	Watanabe M, Yanagisawa J, Kitagawa H, Takeyama K, Arao Y, Suzawa M, Kobayashi Y, Ogawa S, Yano T, Yoshikawa H, Masuhiro Y, <u>Kato S.</u>
BREAST CANCER, 8: 3-9. Estrogen receptor-mediated cross-talk with growth factor signaling pathways.	2001	The Japanese Breast Cancer Society	<u>Kato S.</u>
NATURE, 407: 633-636. Skin abnormalities generated by temporally-controlled RXR α mutations in adult mouse epidermis.	2000	Nature Publishing Group	Li, M., Indra, A. K., Warot, X., Brocard, J., Messaddeq, N., <u>Kato S</u> , Metzger, D., Chambon, P.
N. ENGL. J. MED., 343: 856-862. Androgen-insensitivity syndrome as a possible coactivator disease.	2000	Massachusetts Medical Society	Adachi M, Takayanagi R, Tomura A, Imasaki K, <u>Kato S</u> , Goto K, Yanase T, Ikuyama S., Nawata H.
J. BIOL. CHEM., 275: 33201-33204. Ligand-type specific interactions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma with transcriptional coactivators.	2000	The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.	Kodera Y, Takeyama K, Murayama A, Suzawa M, Masuhiro Y, <u>Kato S.</u>
J. BIOL. CHEM., 275: 15645-15651. p300 Mediates functional synergism between AF-1 and AF-2 of estrogen receptor α and β by interacting directly with the N-terminal A/B domains.	2000	The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.	Kobayashi Y, Kitamoto T, Masuhiro Y, Watanabe M, Kase T, Metzger, D., Yanagisawa J, <u>Kato S.</u>

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
MOL. ENDOCRINOL., 14: 889-899. Characterization of transactivational property and coactivator mediation of rat mineralocorticoid receptor AF-1.	2000	The Endocrine Society	Fuse H, Kitagawa H, Kato S.
BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN., 269: 410-414. p300/CBP Acts as a coactivator of the cone-rod homeobox transcription factor.	2000	Achademic Press	Yanagi Y, Masuhiro Y, Mori M, Yanagisawa J, Kato S.
BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN., 267: 311-316. Involvement of nuclear receptor coactivator SRC-1 in estrogen-dependent cell growth of MCF-7 cells.	2000	Achademic Press	Tai H, Kubota N, Kato S.
J. CELL BIOL., 150: 873-879. Cyclin E as a coactivator of the androgen receptor.	2000	The Rockefeller University Press	Yamamoto A., Hashimoto Y., Kohri K, Ogata E, Kato S, Ikeda K, Nakanishi M.
ARCH. BIOCHEM. BIOPHYS., 380: 228-236. A nuclear matrix-associated factor, SAF-B, interacts with specific isoforms of AUF1/hnRNP D.	2000	Achademic Press	Arao, Y., Kuriyama, R., Kayama, F., Kato, S.
FEBS LETT., 481: 53-56. Defective terminal differentiation and hypoplasia of the epidermis in mice lacking the Fgf 10 gene.	2000	Federation of European Biochemical Societies	Suzuki, K., Yamanishi, K., Mori, O., Kamikawa, M., Andersen, B., Kato, S., Toyoda, T., Yamada, G.
BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN., 277: 643-649. FGF10 acts as a major ligand for FGF receptor 2 IIIb in mouse multi-organ development.	2000	Achademic Press	Ohuchi, H., Hori, Y., Yamasaki, M., Harada, H., Sekine, K., Kato, S., Itoh, N.

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
GENES TO CELLS, 5: 593-601. Molecular mechanism of a cross-talk between oestrogen and growth factor signalling pathways.	2000	Blackwell Science Limited	Kato, S., Masuhiro, Y., Watanabe, M., Kobayashi, Y., Takeyama, K., Endoh, H., Yanagisawa, J.
J. BIOCHEM., 127: 717-722. The function of vitamin D receptor in vitamin D action.	2000	The Japanese Biochemical Society	<u>Kato S.</u>
DEVELOPMENT, 127: 2471-2479. Molecular analysis of external genitalia formation: the role of <i>fibroblast growth factor (Fgf)</i> genes during genital tubercle formation.	2000	The Company of Biologists Limited	Haraguchi R, Suzuki K, Murakami R, Sakai M, Kamikawa M, Kengaku M., Sekine K, Kawano H, <u>Kato S</u> , Ueno N, Yamada G.
ENDOCRINOLOGY, 141: 1317-1324. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads.	2000	The Endocrine Society	Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, <u>Kato S</u> , Seino Y.
BIOCHEMISTRY, 39: 2123-2129. Metabolism of $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitaminD ₃ in vitamin D receptor-ablated mice in vivo.	2000	American Chemical Society	Endre, B., <u>Kato S</u> , DeLuca, H. F.
J. CLIN. ENDOCRINOL. METAB., 85:1290-1295. Identification of novel human GH-1 gene polymorphisms that are associated with growth hormone secretion and height.	2000	The Endocrine Society	Hasegawa Y, Fujii K, Yamada M, Igarashi U, Tachibana K, Tanaka T, Onigata K, Nishi Y, <u>Kato S</u> , Hasegawa T.

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名 巻頁数 論文名)	刊行 年月日	刊行書店名	執筆者氏名
ANNALS OF NUCLEAR MEDECINE, 14: 111 Brain metastasis from differentiated thyroid cancer in patients treated with radiiodine for bone and lung lesions.	2000	日本核医学会	Misaki T, Iwata M, Kasagi K, Konishi J.
Endocrine Journal, 47: 191. Hyperthyroid Grave's disease after hemithyroidectomy for papillary carcinoma: report of three cases.	2000	日本内分泌学会	Misaki T, Iwata M, Kasagi K, Iida Y, Akamizu T, Kosugi S, Konishi J.
日本医学放射線科雑誌 60: 729. 核医学による治療の進歩	2000	日本医学放射線学会	笠木寛治、岩田政広、 御前 隆、小西淳二、 阪原晴海
ENDCRINE SURKERY. 17. 141. 甲状腺外科におけるアイソトープ診断と治 療の進歩： 甲状腺癌の1-131治療につい て	2000	日本内分泌外科学会	笠木寛治、御前 隆 小西淳二