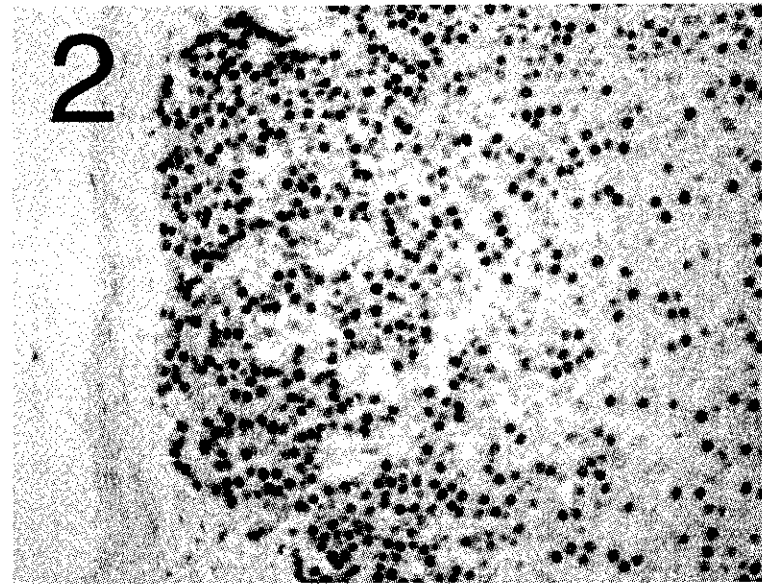
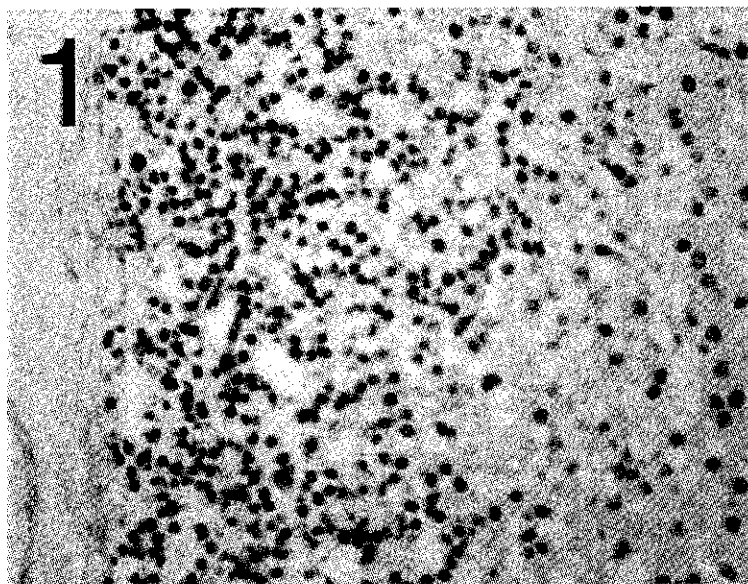


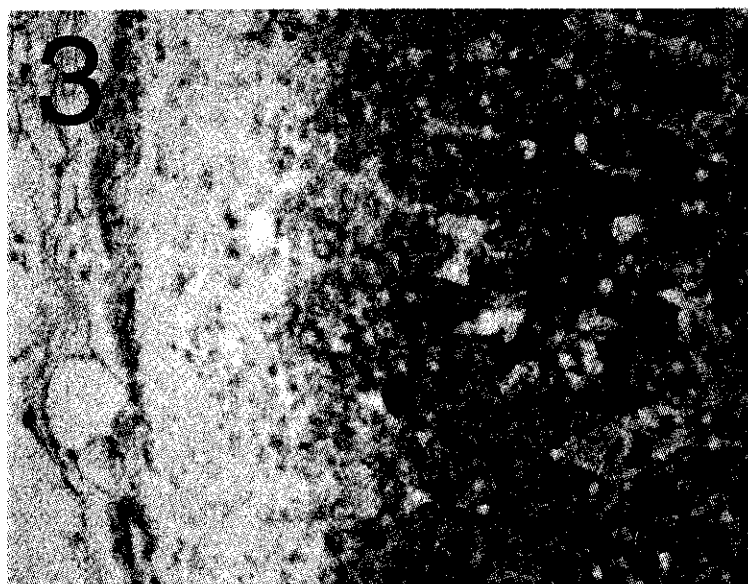
表 1: ステロイド産生酵素の免疫組織化学染色結果

age (weeks)	sex	Ad4BP			StAR			P450scc			3 $\beta$ -HSD			P450c21			P450c17			DHEA-ST			P450 OR			b5		
		F	T	D	F	T	D	F	T	D	F	T	D	F	T	D	F	T	D	F	T	D	F	T	D	F	T	D
14	m	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
16	m	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
17	f	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
17	m	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
18	m	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
19	f	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
19	m	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
20	f	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
21	f	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
22	f	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
23	f	+	+	+	+	+	+-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+-	+	+	+-		
24	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+-	-	+-	+-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	
25	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
27	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
28	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
29	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
30	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
32	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
32	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
33	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
35	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
36	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
36	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
37	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
38	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
38	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
39	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
39	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
39	f	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
40	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
40	m	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	

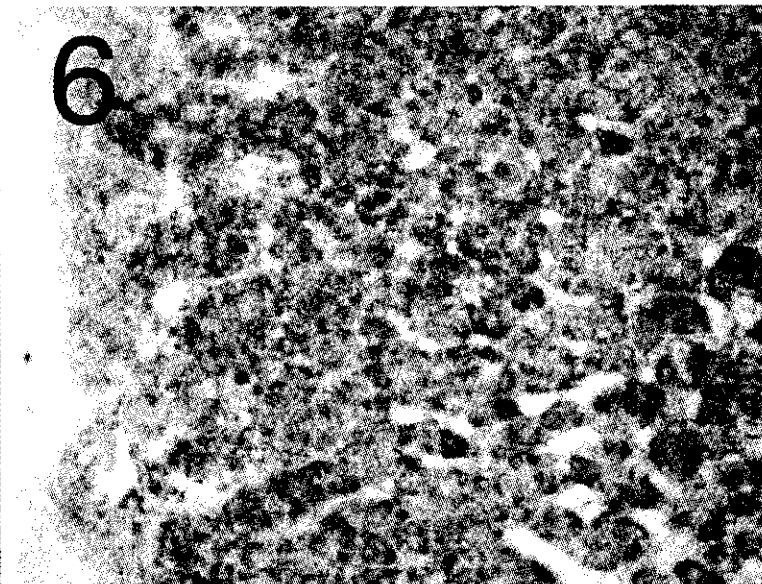
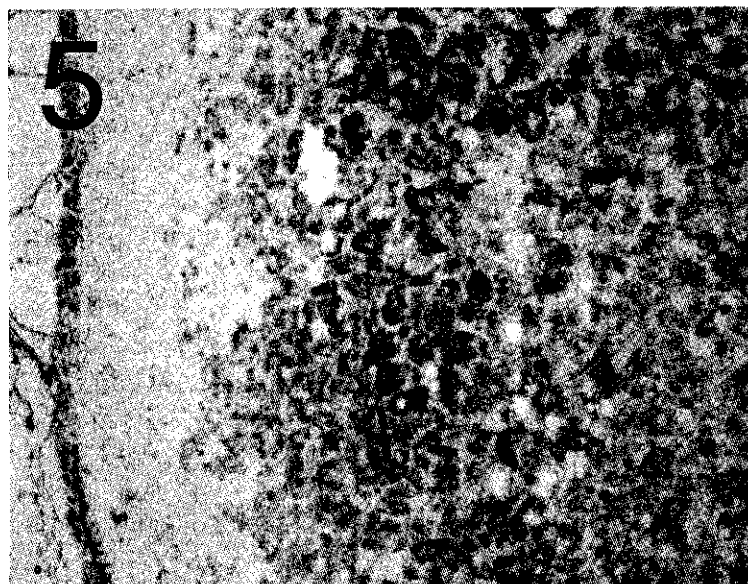
F: 胎児層, T: 移行層, D: 成人層  
P450 OR; P450 oxidoreductase, b5; cytochrome b5  
+: 強陽性, ++: 弱陽性, -: 陰性



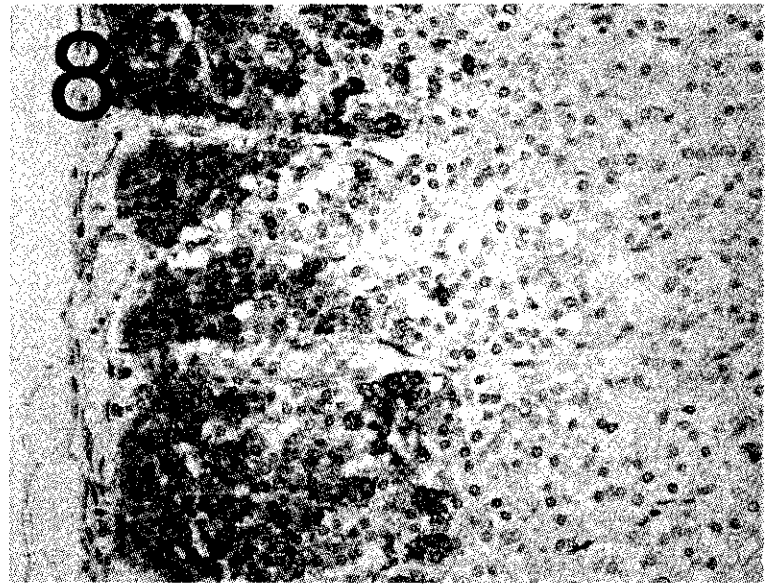
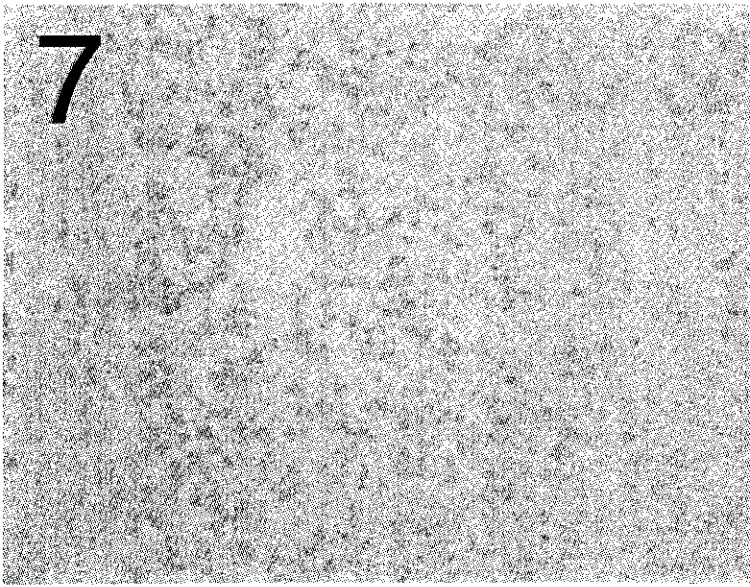
妊娠19週（図1）および35週（図2）におけるAd4BPの免疫染色．副腎皮質3層すべてにおいて核に陽性像を認めた．



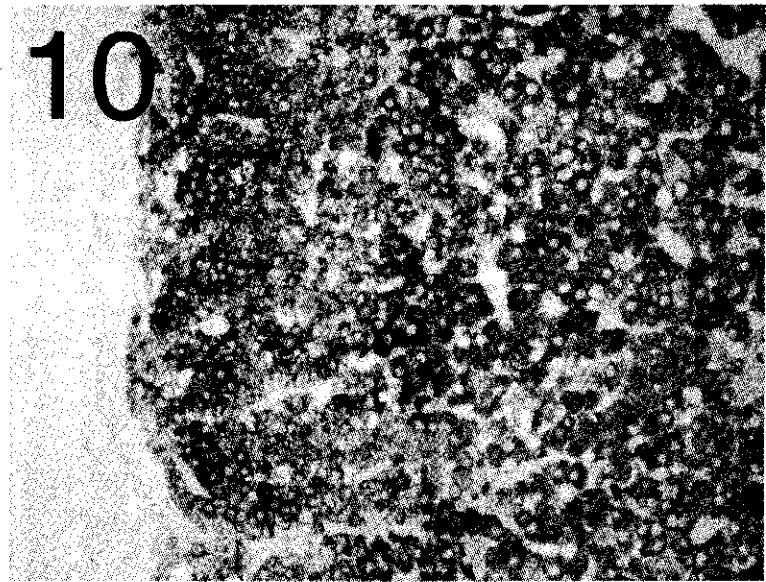
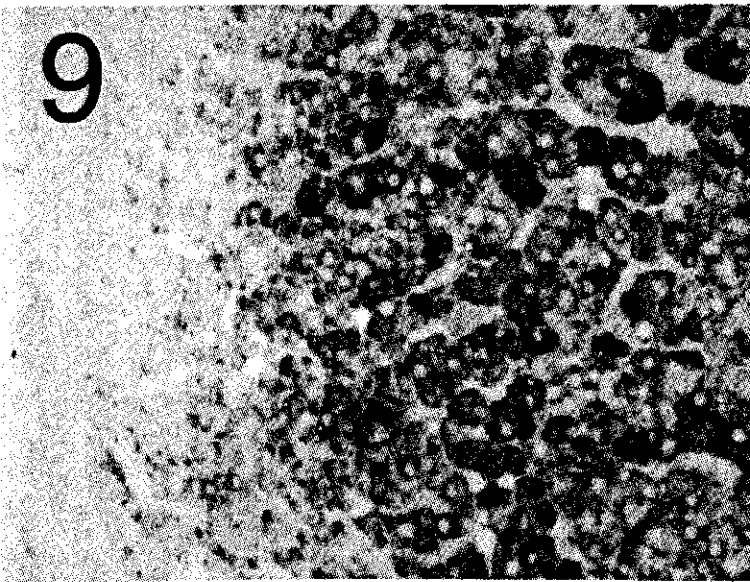
StARの免疫染色．妊娠18週（図3）では胎児層，移行層の細胞質に陽性像を認め，妊娠36週（図4）では全層に陽性像を認めた．



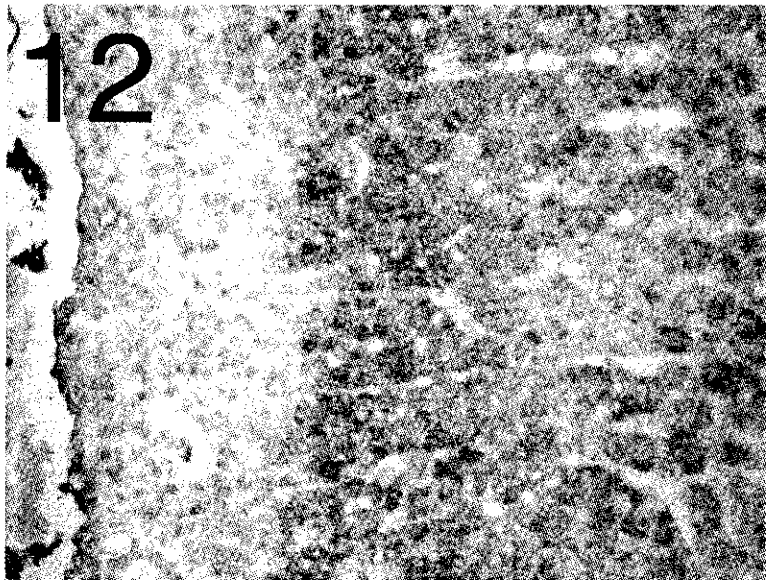
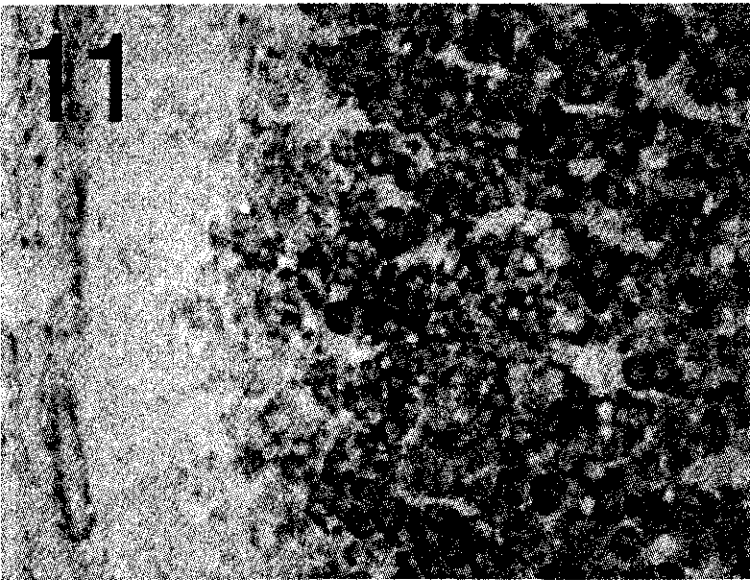
P450sc $\alpha$ の免疫染色．妊娠18週（図5）では胎児層，移行層の細胞質に陽性像を認め，妊娠35週（図6）では全層に陽性像を認めた．



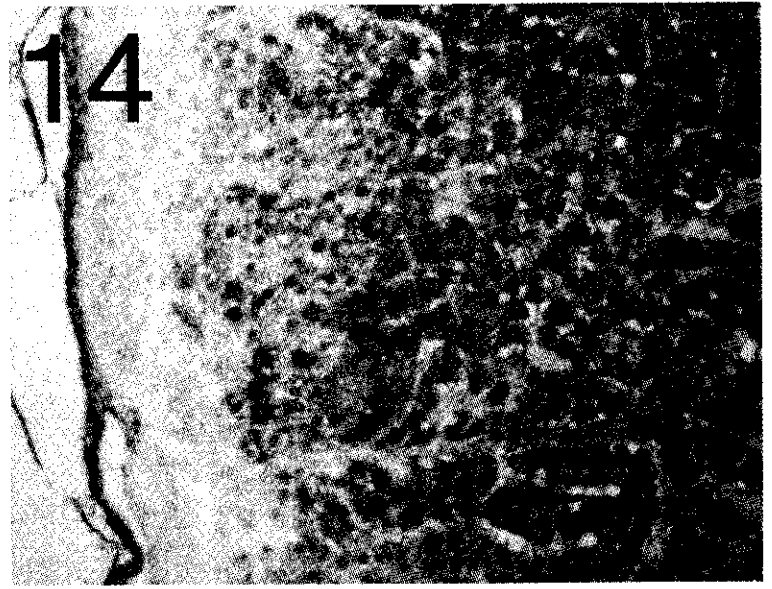
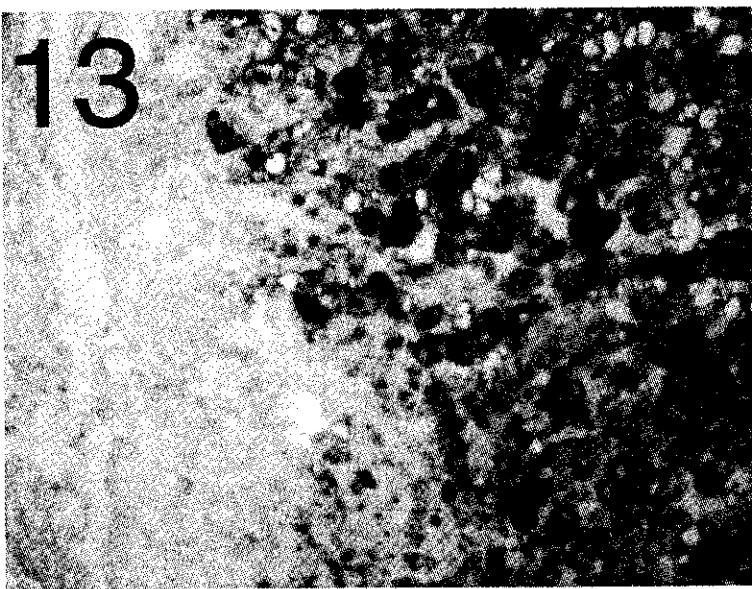
3 $\beta$ -HSDの免疫染色。妊娠18週（図7）では全層で陽性像を認めず，妊娠25週（図8）では移行層，成人層において細胞質に陽性像を認めた。



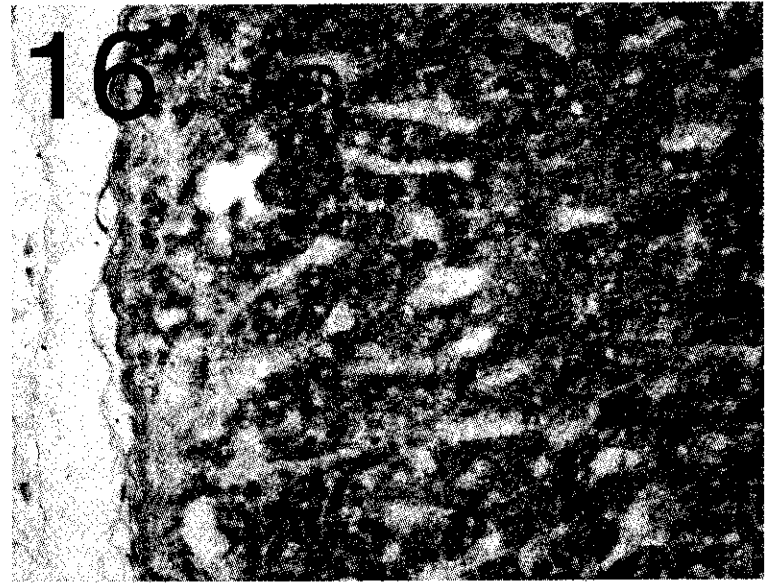
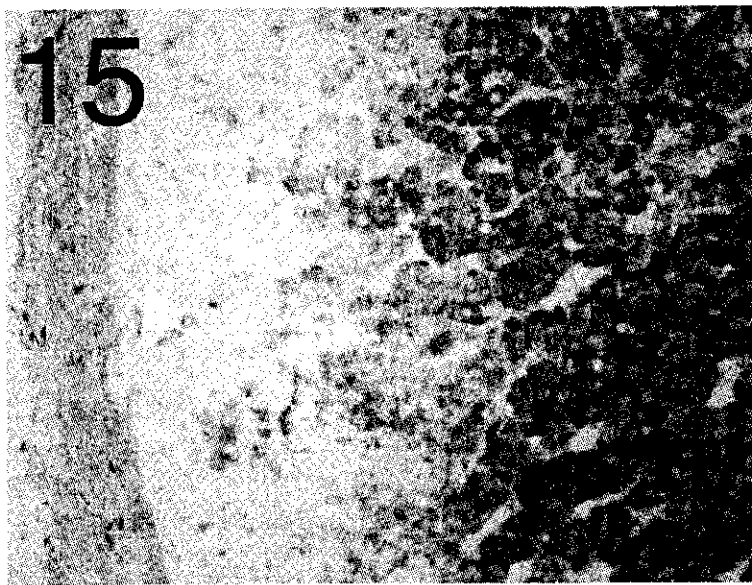
P450c21の免疫染色。妊娠18週（図9）では胎児層，移行層の細胞質に陽性像を認め，妊娠35週（図10）では全層で陽性像を認めた。



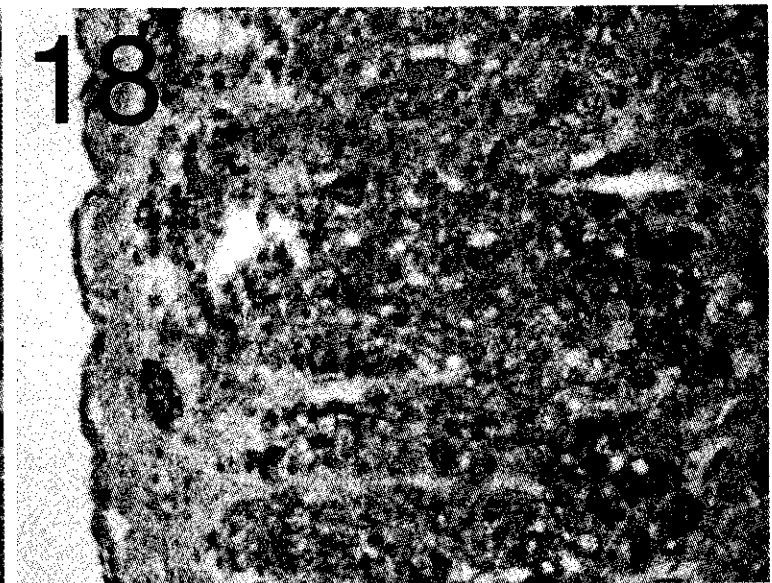
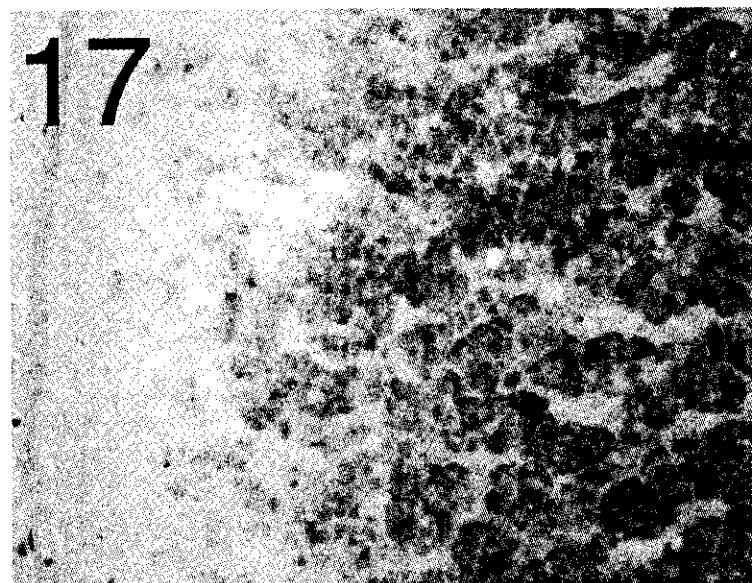
妊娠18週（図11）および35週（図12）におけるP450c17の免疫染色。胎児層，移行層の細胞質において陽性像を認め，成人層ではともに陽性像を認めなかった。



妊娠16週（図13）および35週（図14）におけるDHEA-STの免疫染色．胎児層，移行層の細胞質において陽性像を認め，成人層ではともに陽性像を認めなかった．



P450 oxidoreductaseの免疫染色．妊娠18週（図15）では胎児層，移行層の細胞質に陽性像を認め，妊娠36週（図16）では全層で陽性像を認めた．



cytochrome b5の免疫染色．妊娠18週（図17）では胎児層，移行層の細胞質に陽性像を認め，妊娠36週（図18）では全層で陽性像を認めた．

## 塩誘導性キナーゼ SIK によるステロイドジェネシスの調節機構

岡本 光弘

大阪大学大学院医学系研究科生化学・分子生物学講座

研究要旨：高塩食投与で副腎皮質に特異的に誘導されるタンパク質リン酸化酵素 SIK (塩誘導性キナーゼ)の発現誘導機構およびリン酸化活性の変動をマウス副腎皮質由来細胞 Y-1 を利用して解析した。SIK mRNA の発現は ACTH/cAMP/PKA 系の情報伝達を介して起こり、SIK が持つリン酸化活性も mRNA 量の増加に相関して増加する。SIK を恒常的に強制発現させた Y-1 細胞では CYP11A や StAR タンパク質遺伝子の ACTH を介した転写誘導が阻害される。CYP11A 遺伝子のプロモーター領域をレポーター遺伝子に連結したプラスミッドを利用した解析の結果、SIK はプロモーター領域に存在する cAMP responsive element (CRE)を介した遺伝子の転写調節装置に作用することが明らかとなった。これらの結果は SIK が副腎皮質において ACTH による PKA/CRE 情報伝達系を修飾することによりステロイド生合成活性を調節することを示唆している。

### A. 研究目的

副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)は下垂体から分泌され血液循環を介して副腎皮質細胞に到達し、細胞を活性化する。細胞を ACTH で刺激すると、cAMP を主な2次メッセンジャーとした情報伝達系が働きステロイドの分泌、ステロイド生合成酵素の誘導、細胞増殖等が起こる。これらの刺激応答現象のそれぞれの消長は、ACTH 刺激の条件 (ACTH 濃度や時間経過) によって様々に異なる。近年これらの応答現象に cAMP 以外の2次メッセンジャーが関与することや、あるいは cAMP 依存性の未同定因子が cAMP 情報伝達系を修飾する可能性が示唆されているが、その分子機構の詳細は不明である。我々は最近、高ナトリウム食あるいは高カリウム食で飼育したラ

ットの副腎皮質において特異的に誘導される新規のプロテインキナーゼ SIK (salt inducible kinase)をクローニングした (1)。SIK は N-末端に SNF1/AMPK ファミリー・キナーゼと相同性の高いキナーゼ領域を持つセリン・トレオニンキナーゼである。その後の研究の結果、SIK は副腎皮質由来の Y-1 細胞株を副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)で刺激すると誘導されることが明らかになった。本研究においては、SIK のタンパク質リン酸化活性の測定系を確立し、ACTH で刺激した副腎皮質細胞内で SIK 活性が変動するか否かを検討し、さらに SIK 活性の上昇がどのような機構でステロイド合成酵素の発現誘導を制御するかを解明する。

## B. 研究方法

タンパク質リン酸化酵素の基質として一般に使用される Syntide2 のアミノ酸配列 (PLARTLSVAGLPGKK) をグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) の C 末端に結合させた融合タンパク質を大腸菌を用いて発現・精製し SIK の基質として用いた。酵素タンパク質標品としては SIK の N 末端側 1/2 に存在するキナーゼ領域を GST との融合タンパク質として大腸菌で発現させたもの (GST-SIK(N)) と SIK の全長ペプチドを COS 細胞で発現させたものを用いた。Y-1 細胞を ACTH (1 $\mu$ M) とインキュベートした後、抗 SIK 抗体で SIK タンパク質を免疫沈降させ、SIK のタンパク質量を測定すると共に GST-Syntide2 を基質とするリン酸化活性を測定した。

CYP11A 遺伝子のプロモーター活性に及ぼす SIK の影響は、pGL3 に CYP11A 遺伝子のプロモーター (-2.3 kbp) を結合させたもの、TATA box のみを持つベクター (pTAL) に 3 個の CYP11A 遠位エンハンサー配列、4 個の Ad4 配列、3 個の CRE をそれぞれ結合させたレポーターを SIK の発現ベクターと共に Y-1 細胞に導入して検定した。細胞内の PKA を活性化するためには Forskolin (50 $\mu$ M) 処理を行った。CYP11A のプロモーターベクター、4xAd4、3xCYP1A エンハンサーは諸橋憲一郎教授 (基礎生物学研究所) から供与されたものである。

## C. 研究結果

SIK の酵素活性測定系を確立するため、

GST-SIK(N)融合タンパク質および SIK のリジン残基 56 をメチオニン残基に変異させ ATP 結合領域を破壊した変異 SIK (K56M) を大腸菌で発現し精製した (図 1)。精製酵素を [<sup>32</sup>P]ATP および GST-Syntide2 とインキュベートして酵素活性を検定した。野生型 SIK は自己リン酸化活性および GST-Syntide2 をリン酸化する活性を持つのにに対し、K56M-SIK はリン酸化活性を持たなかった。また COS 細胞に SIK 発現ベクターを導入した後、細胞破碎液から抗 SIK 抗体を用いて精製した全長 SIK タンパク質も自己リン酸化活性および GST-Syntide2 リン酸化活性を示した (図 2)。このことから GST-Syntide2 を SIK 活性測定の基質として利用できることが明らかとなった。次に Y-1 細胞を ACTH とインキュベートし、細胞内の SIK のタンパク質レベルと酵素活性の変動の時間経過を検討した (図 3)。ACTH は SIK のタンパク質量を早期に有意に上昇させ、その含量は 2 時間で最大レベルに到達し約 6-8 時間後まで高レベルを維持していた。一方 SIK のリン酸化活性は 2 時間で最大値に達し、その後徐々に減少した。

ACTH はステロイドホルモン生合成反応の第 1 段階であるコレステロールの側鎖切断反応を触媒する CYP11A や細胞内でコレステロールをミトコンドリアに輸送する StAR タンパク質の mRNA も誘導することは以前から報告されている (2)。しかしこれらの mRNA の誘導は、細胞を ACTH とインキュベートして 6-8 時間経過して初めて有意に観察できる。SIK タンパク質および酵素活性が ACTH とインキュベート後直ちに誘導されること、

そして SIK の細胞内レベルは CYP11A や StAR の mRNA 誘導が起こる以前に減衰することを考え合わせて、SIK の働きは CYP11A や StAR が早期に誘導されるのを抑制することにあるのではないかと考えた。このことの傍証として、昨年報告したように Y-1 細胞に SIK を持続的に高レベルで発現させると ACTH 依存性の CYP11A や StAR の mRNA 誘導が阻害される現象がある。

SIK による CYP11A 遺伝子の発現抑制の機構を、CYP11A プロモーター活性の解析を行うことにより明らかにすることを試みた。CYP11A のプロモーターベクターと SIK 発現ベクターを Y-1 細胞に導入した。図 4 に示す様に SIK 発現ベクターを共導入すると、Forskolin 刺激によって増加した CYP11A のプロモーター活性は抑制を受けた。またこの抑制の程度は SIK のキナーゼ領域のみを導入した時が最も強かった。Y-1 細胞における ACTH/PKA 情報伝達系による CYP11A プロモーターの活性化には上流約 1.8 kb に存在するエンハンサー配列が重要であることが報告されている (3)。このエンハンサーは 2 つの Ad4 と 1 つの CRE 様配列からなる。そこで SIK による CYP11A プロモーターの抑制にこれらのエレメントが関与するかどうかを検討する目的で、それぞれのエレメントを複数個連結したレポーターベクターと SIK 発現ベクターを Y-1 細胞に導入して検定した。その結果、SIK は CRE 様配列を含むレポーターの Forskolin で活性化される転写を抑制することが分かった (図 5)。以上の結果は、CYP11A 遺伝子の ACTH 依存性発現の SIK

による抑制にはプロモーター上の CRE 配列が関与することを示唆している。

#### D. 結論

高塩食負荷により副腎皮質に特異的に誘導されるプロテインキナーゼ遺伝子 SIK は ACTH/cAMP 情報伝達系を介して直接誘導される。SIK のリン酸化活性は細胞を ACTH で刺激すると速やかに上昇する。その後 SIK レベルは CYP11A 遺伝子や StAR タンパク質遺伝子の転写が開始する以前に減衰し始める。SIK による CYP11A の転写の阻害は、CYP11A プロモーターのうち CRE 様配列を含む転写調節領域を標的として起こる。SIK による CYP11A 遺伝子や StAR タンパク質遺伝子の転写抑制は、副腎皮質細胞の ACTH 刺激応答において遅延型応答に重要であると思われる。

#### E. 参考文献

- (1) Wang, Z., Takemori, H., Halder, S.K., Nonaka, Y. and Okamoto, M. (1999) Cloning of a novel kinase (SIK) of the SNF1/AMPK family from high salt diet-treated rat adrenal. *FEBS Lett.*, 453, 135-139.
- (2) Stocco, D.M. (2000) The role of the StAR protein in steroidogenesis: challenges for the future. *J. Endocrinol.* 164, 247-253.
- (3) Takayama, T., Morohashi, K., Honda, S., Hara, N. and Omura, T. (1994) Contribution of Ad4BP, a steroidogenic cell-specific transcription factor, to regulation of the human CYP11A and bovine CYP11B genes through their distal

promoters. *J. Biochem.*, 116, 193-203.

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Okamoto, M. and Takemori, H. (2000) Differentiation and zonation of the adrenal cortex. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes*, 7, 122-127.
2. Doi, J., Takemori, H., Ohta, M., Nonaka, Y., and Okamoto, M. (2001) Differential regulation of 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II and 17alpha-hydroxylase/lyase P450 in human adrenocortical carcinoma cells by epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor. *J. Endocrinol.* 168, 87-94.
3. Lin, X-z., Takemori, H., Doi, J., Katoh, Y., and Okamoto, M. (2000) SIK (salt-inducible kinase): Regulation of ACTH-mediated steroidogenic gene expression and nuclear/cytosol re-distribution. *Endocr. Res.* 26, 995-1002.
4. Horike, N., Takemori, H., Nonaka, Y., Sonobe, H., and Okamoto, M. (2000) Molecular cloning of NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase from silkworm eggs: Its involvement in biosynthesis of 20-hydroxycydysone during the embryonic development. *Eur. J. Biochem.*, 267, 6914-6920.
5. Takemori, H., Doi, J., Katoh, Y., Halder, S.K., Lin, X-z., Horike, N., Hatano, O., and Okamoto, M. (2001) Characterization of a proximal element in the rat Pref-1 gene promoter. *Eur. J. Biochem.*, 268, 205-217.
6. Raza, F.S., Takemori, H., Tojo, H., Okamoto, M., and Vinson, G.P. (2001) Identification of the

rat adrenal zona fasciculata/reticularis specific protein, IZAg, as the putative membrane progesterone receptor. *Eur. J. Biochem.*, in the press, 2001.

### 2. 学会プロシーディングス

1. Nonaka, Y., Makino, A., Takemori, H., and Okamoto, M. (2000): The GroEL and GroES chaperones are major catalysts in mitochondrial CYP11B1-folding in *E. coli*. *Molecular Steroidogenesis*, p. 101-102, 2000. Universal Academy Press, Okamoto, M., Ishimura, Y., and Nawata, H., ed.
2. Hatano, O., Takemori, H., Okamoto, M., and Tohno, Y. (2000) Genesis of the adrenal cortex and gonads from their common primordium. *Molecular Steroidogenesis*, p. 197-200, 2000. Universal Academy Press, Okamoto, M., Ishimura, Y., and Nawata, H., ed.
3. Takemori, H., Doi, J., Kato, Y., Hatano, O., and Okamoto, M. (2000) Characterization of proximal element in the rat Pref-1 (ZOG) gene promoter. *Molecular Steroidogenesis*, p. 209-212, 2000. Universal Academy Press, Okamoto, M., Ishimura, Y., and Nawata, H., ed.
4. Doi, J., Takemori, H., Ohta, M., Nonaka, Y., and Okamoto, M. (2000) Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor induce 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II in human adrenocortical carcinoma cells. *Molecular Steroidogenesis*, p. 277-278, 2000. Universal Academy Press, Okamoto, M., Ishimura, Y., and Nawata, H., ed.



5. Lin, X.-z., Wang, Z.-n., Takemori, H., Katoh, Y., and Okamoto, M. (2000) Induction of salt inducible kinase (SIK) by ACTH in adrenal cortex. *Molecular Steroidogenesis*, p. 279-280, 2000. Universal Academy Press, Okamoto, M., Ishimura, Y., and Nawata, H. ed.
6. Horike, N., Takemori, H., Okamoto, M., and Sonobe, H. (2000) Developmental change of ecdysone 20-hydroxylase [E20(OH)ase] and NADPH-cytochrome P450 reductase [bCPR] during embryogenesis of silkworm, *Bombyx mori*. *Molecular Steroidogenesis*, p. 331-332, 2000. Universal Academy Press, Okamoto, M., Ishimura, Y., and Nawata, H. ed.
7. Ohta, M., Takemori, H., Doi, J., Nonaka, Y., and Okamoto, M. (2000) Highly sensitive atmospheric pressure chemical ionization (APCI)-LC-MS analysis of metabolites produced by steroidogenic cytochrome P450s. *Molecular Steroidogenesis*, p.415-417, 2000. Universal Academy Press, Okamoto, M., Ishimura, Y., and Nawata, H., ed.

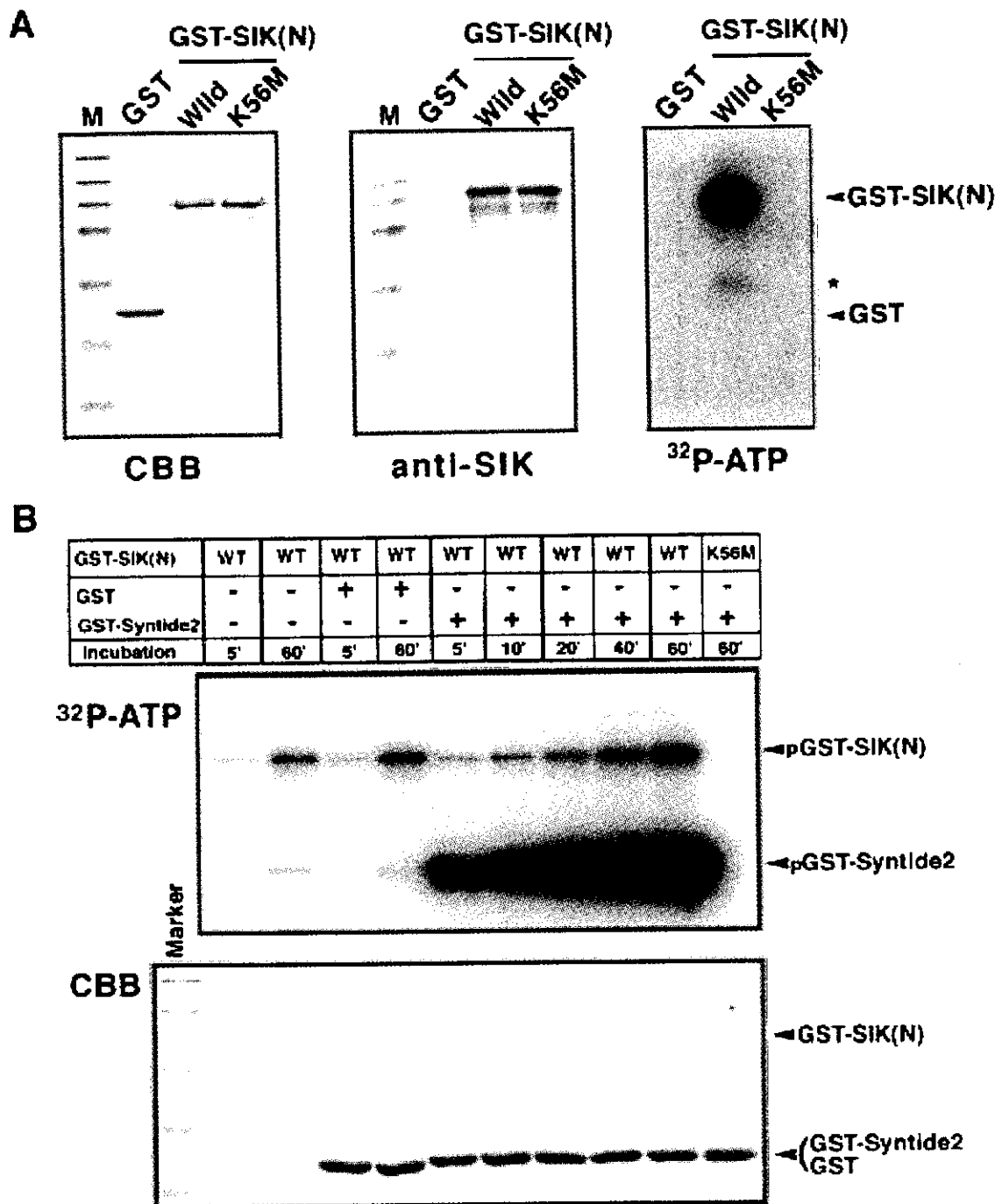


図1, 大腸菌で発現させたSIKキナーゼドメインのリン酸化活性  
 A, 野生型SIKのキナーゼドメイン (wild)は自己リン酸化活性を示すのに対し、ATP結合領域に変異を加えたSIK (K56M)は自己リン酸化活性を示さない。  
 B, 野生型SIKは時間依存的にSyntide2をリン酸化する。\* : SIKの分解産物

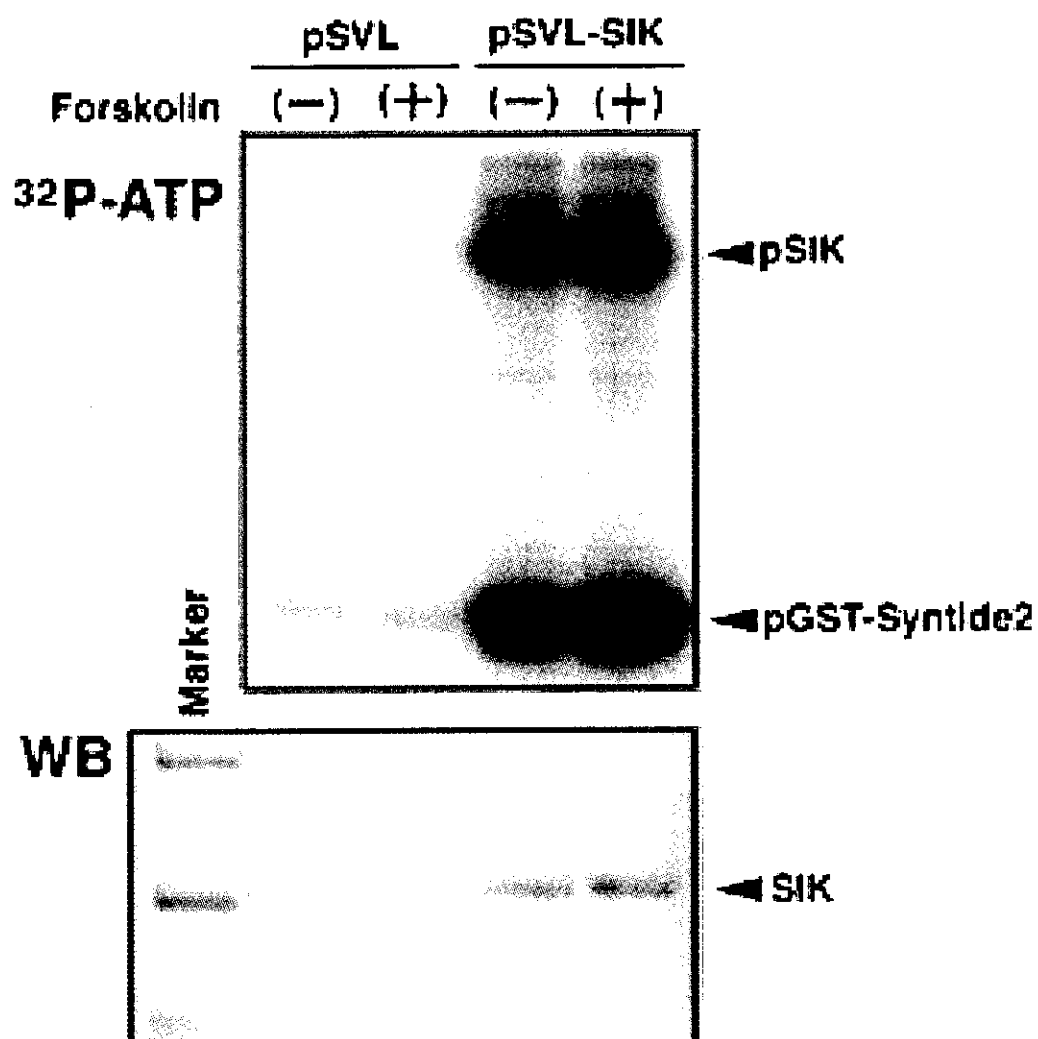


図 2, COS-7細胞で発現させた全長SIKのリン酸化活性  
 pSVL-SIKをCOS-7細胞へ導入し、免疫沈降法でSIKを精製した。  
 リン酸化活性にはGST-Syntide2を利用した。

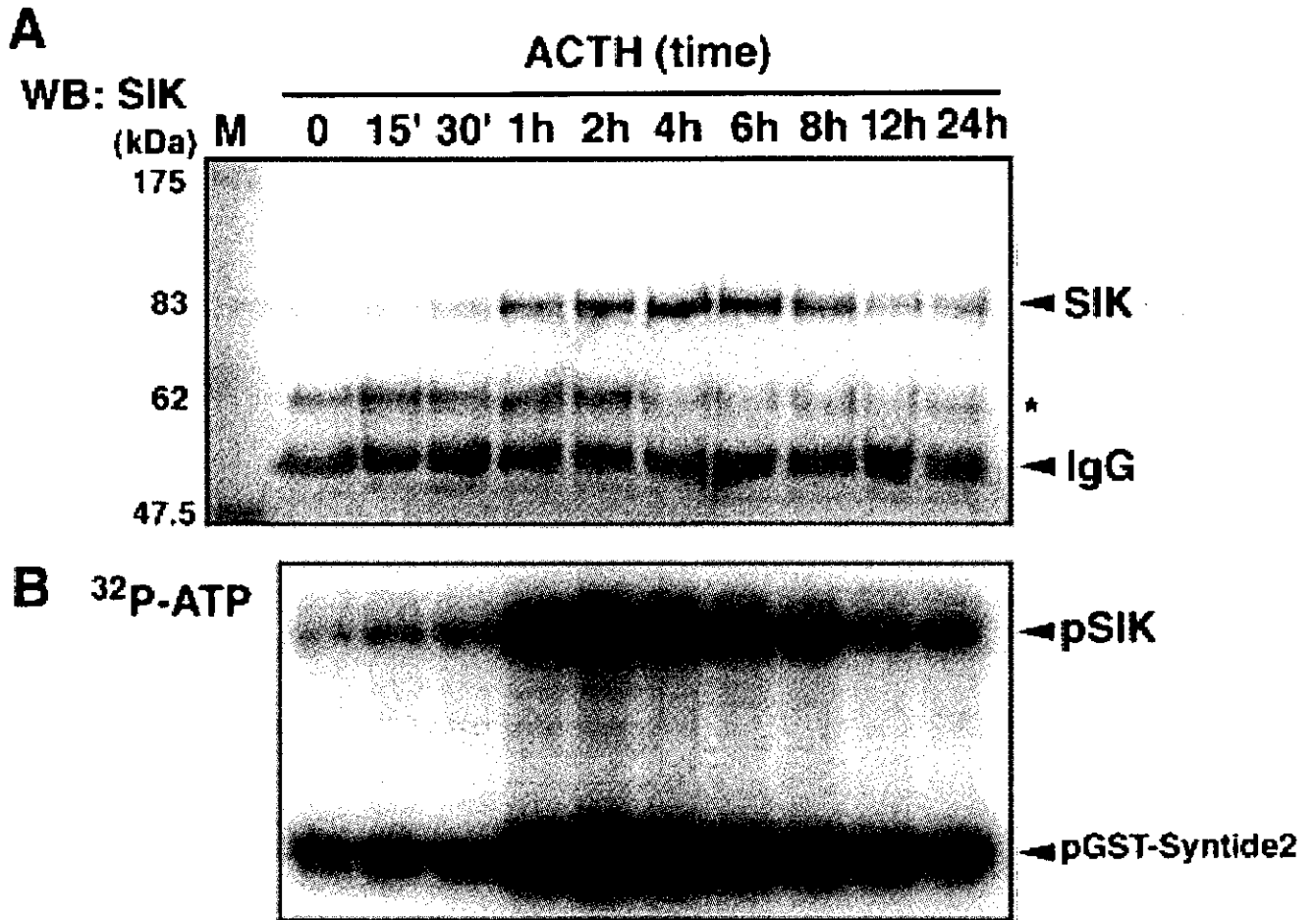


図3, ACTH刺激したY-1細胞のSIKタンパクおよびリン酸化活性の変動  
 A, Y-1細胞をACTH刺激後、抗SIK抗体を用い免疫沈降を行った。  
 B, 免疫沈降させたSIKをGST-Syntide2を用いてリン酸化活性を検討した。

## CYP11A promoter

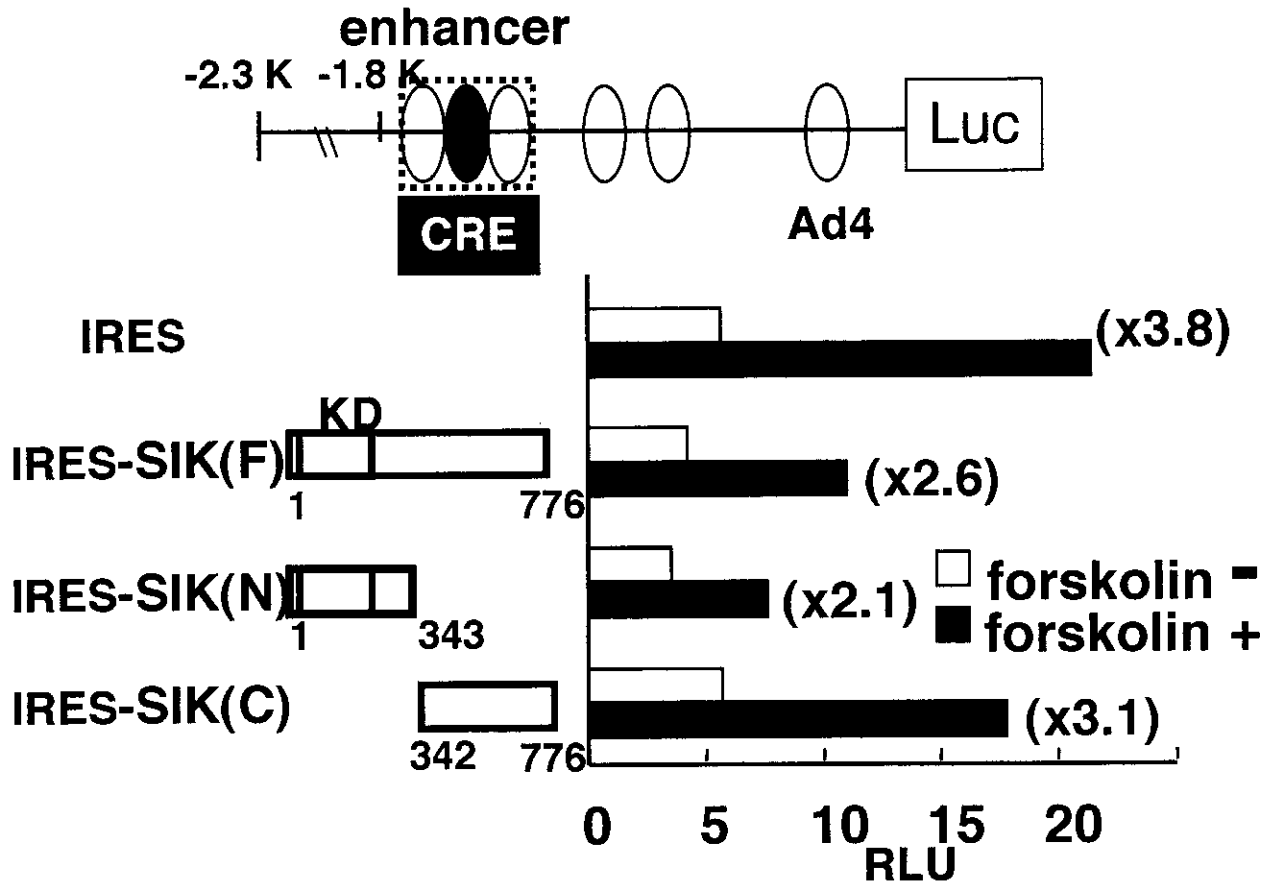


図4, SIKのヒトCYP11Aプロモター活性に及ぼす影響

Y-1細胞でのForskolinによるCYP11Aのプロモターの活性化はSIKの全長 (F) 又はキナーゼドメインを含むN-末端 (N)を同時に導入すると抑制される。

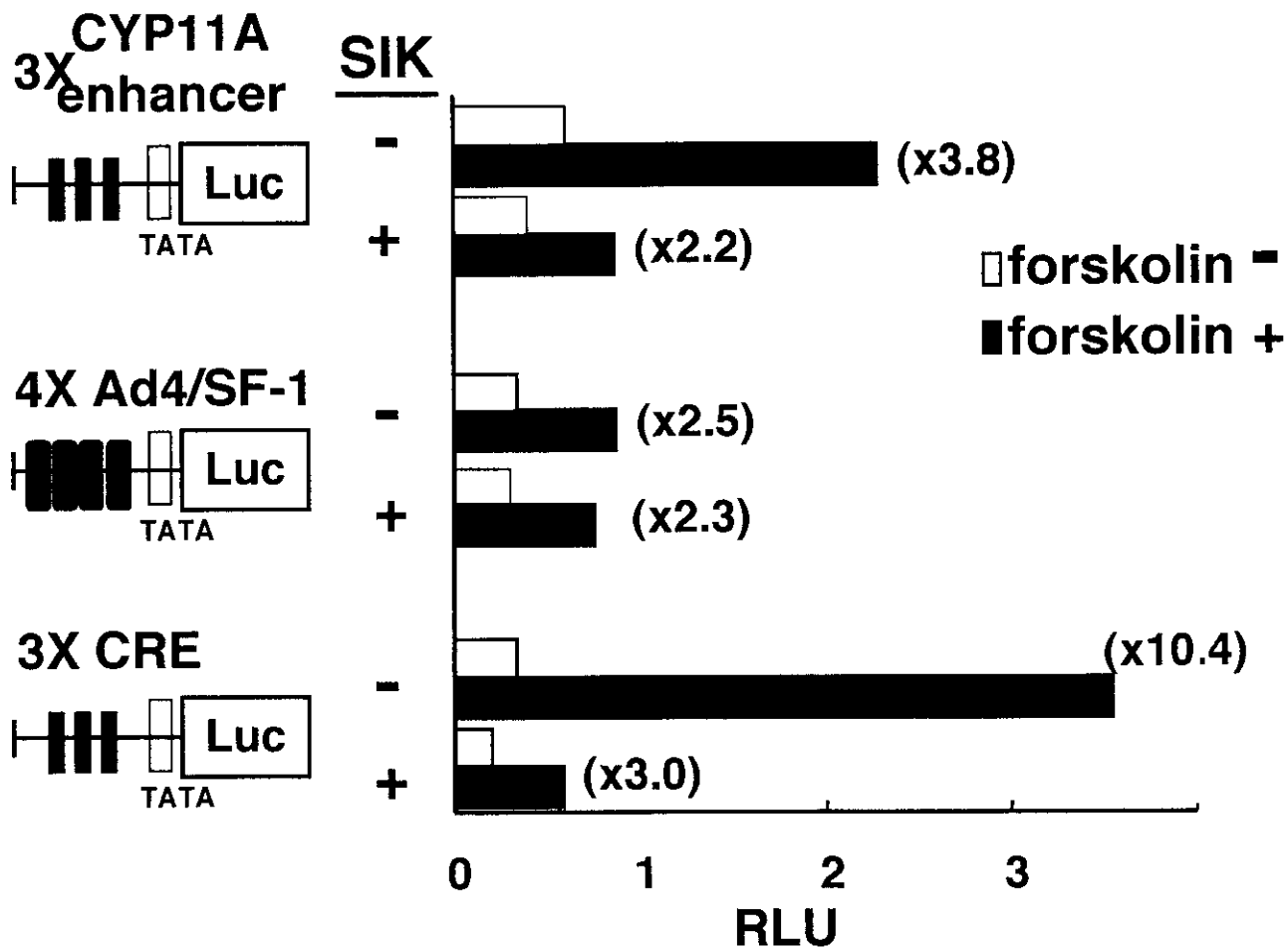


図5, SIKのターゲット配列はCREである。  
 CYP11Aのエンハンサー部分とAd4、CRE配列を複数個繋いだレポーターを  
 SIK発現ベクターと同時にY-1細胞に導入しForskolinで刺激を行った。  
 CRE配列を持つレポーターの活性はSIKで抑制された。

## 副腎偶発腫瘍全国調査（2年目）

## 副腎偶発腫瘍全国調査（2年目）

東邦大学医学部第一内科 宮地幸隆  
薬師寺史厚  
上芝 元

平成 11 年度に全国の大学病院、200 床以上の高度専門医療機関及び地域中核病院の計 1014 施設に調査票を送付し、副腎偶発腫瘍の持続的な全国調査を開始した。2576 例の報告があったが、その中で症状と一般検査より明らかに副腎偶発腫瘍と考えられない 470 例を除き、2106 例について今回分析を行った。男性 1095 例（52%）、女性 1011 例（48%）であり、年齢分布は図 1 のごとく、50 歳代で 44%を占めた。腫瘍の大きさは最大径を指標としてみたが、図 2 のごとく 1.1~2.0cm が多かった。診断としては、非機能性腺腫が 50.3%を占め最も多く、褐色細胞腫、コルチゾール産生腺腫、過形成（びまん性、結節性及び腺腫様）、骨髄脂肪腫と続いた（図 3）。非機能性腺腫の約 60%が副腎摘出術を受けており、今後疫学調査を続け長期的予後を明らかにし不必要な手術などの過剰診療を防ぎたいと考えている。癌は 34 例（1.6%）の報告があり、大きさも 1 例を除き 5cm 以上であった。悪性腫瘍の転移では、肺癌、腎癌、肝癌が多かった。発見の契機としては、無症状（ドック検査など）が 33.8%と最も多かった（図 4）。

平成 12 年度は 2 年目の全国調査として、1 年目に各施設より報告された症例で、手術未施行で、経過観察となった症例を対象として、画像診断上の腫瘍の大きさやホルモンデータに変化がないかどうか、又手術されていれば、その病理結果を報告してもらうことにした。さらにこの 1 年間での新規症例についても報告をお願いした。

全国調査にあたりご協力頂いた各病院の先生方及び、事務の方に深く感謝いたします。



【年齢分布】

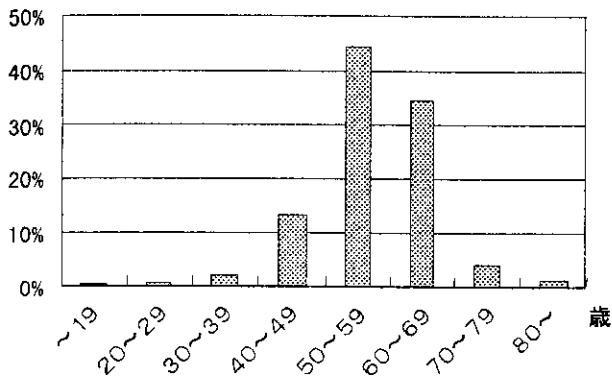


図1

【腫瘍の最大径】

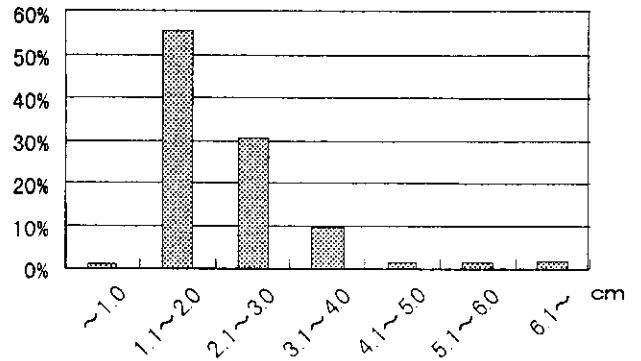


図2

【診断】

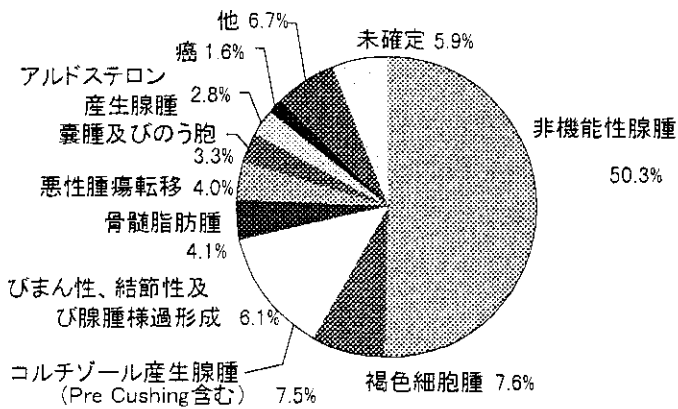


図3

【発見の契機】

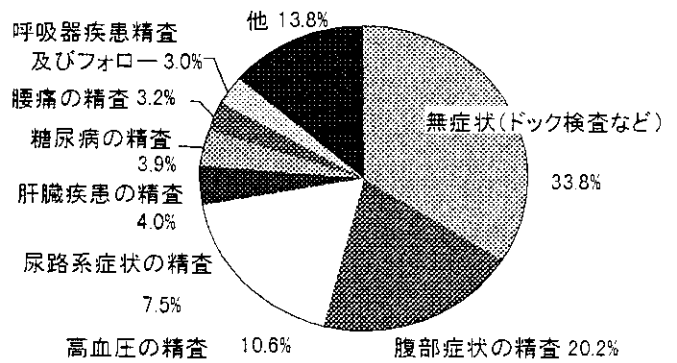


図4



## 研究成果の刊行に関する一覧表

論文名 (書名又は誌名 (巻号数))	刊行年月日	刊行書店名	執筆者氏名
Analysis of cartilage maturation using micromass cultures of primary chondrocytes. <i>Dev. Growth Differ.</i> 42: 229-236	2000		Kameda, T., Koike, C., Saitoh, K., Kuroiwa, A. and <u>Iba, H.</u>
BMP2 are necessary for stomach gland formation in the chicken embryo: A study using virally induced BMP-2 and Noggin expression. <i>Development</i> 127: 981-988	2000		Narita, T., Saitoh, K., Kameda, T., Kuroiwa, A., Mizutani, M., Koike, C., <u>Iba, H.</u> and Yasugi, S.
The concentric structure of the developing gut is regulated by Sonic hedgehog derived from endodermal epithelium. <i>Development</i> 127: 1971-1980	2000		Sukegawa, A., Narita, T., Kameda, T., Saitoh, K., Nohno, T., <u>Iba, H.</u> , Yasugi, S. and Fukuda, K.
Endogenous AP-1 levels necessary for oncogenic activity are higher than those sufficient to support normal growth. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i>	in press		Ui, M., Mizutani T., Takada, M., Arai, T., Ito T., Murakami, M., Koike, C., Watanabe, T., Yoshimatsu, K., and <u>Iba, H.</u>
Identification of SWI/SNF complex subunit BAF60a as a determinant of transactivation potential of Fos/Jun dimers. <i>J. Biol. Chem.</i>	in press		Ito, T., Yamauchi M., Nishina, M., Yamamichi, N., Mizutani, T., Ui, M., Murakami, M., and <u>Iba, H.</u>
Application of efficient and specific gene transfer system and organ culture techniques for the elucidation of mechanisms of epithelial mesenchymal interaction in the developing gut <i>Dev. Growth Differ.</i> 42 : 207-211	2000		Fukuda, K., Sakamoto, N., Narita, T., Saitoh, K., Kameda, T., <u>Iba, H.</u> and Yasugi, S
Gene transfer into chicken embryos by retrovirus vectors <i>Dev. Growth. Differ</i> 42: 213-218	2000		<u>Iba, H.</u>
Efficient production of VSV-G-pseudotyped retrovirus vectors using stable packaging cell lines. <i>In Viral vectors; Basic Science and Gene Therapy</i> Eds. A. Cid-Arregui & A. Garcia-Carranca, 401-411	2000	Eaton Publishing	<u>Iba, H.</u> , Arai, T. and Ui, M.
Redox-regulated recruitment of the transcriptional coactivators CREB-Binding protein and SRC-1 to hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ . <i>Mol. Cell. Biol.</i> 20(1): 402-415.	2000		Pilar Carrero, Kensaku Okamoto, Pascal Coumailleau, Sallyann O'Brien, Hirotohi Tanaka, and Lorenz Poellinger
Role of $\beta$ 1 integrin molecule in T-cell activation and migration. <i>Mod. Rheumatol.</i> 10(1): 8-15	2000		Chikao Morimoto, Hiroshi Kobayashi, Rikako Nishijima, Hiritoshi Tanaka, Satoshi Iwata.
Inhibitory Effects on Proinflammatory Cytokine Production and Transendothelial Migration of T Cells. <i>Arthritis Rheum.</i> 43(7): 1616-1623	2000		Yasuhiko Munakata, Satoshi Iwata, Jorg Dobers, Tomonori Ishii, Mamoru Nori, Hirotohi Tanaka, Chikao Morimoto.