

厚生科学研究費補助金(特定疾患研究対策事業)

分担研究報告書

糖原病に合併する肝腫瘍における包括的遺伝子発現に関する研究

分担研究者 梶村春彦 浜松医科大学医学部教授

研究要旨 糖原病 Ia 型は、Glucose-6-phosphatase の機能欠損による常染色体劣性の遺伝性疾患で、肝臓に糖が多量に蓄積するとともに腺腫や肝細胞がんの発生が知られている。発現プロファイルの解析により糖原病にともなう肝腫瘍の発生には、従来知られていなかった分子のかかわる可能性があることが、包括的解析で始めてわかった。

A. 研究目的

糖原病 Ia 型は、Glucose-6-phosphatase の機能欠損による常染色体劣性の遺伝性疾患で、もっとも頻度の高いこの遺伝子の変異はエクソン 5 の点突然変異であり、日本人の 200 人にひとりがキャリアであるという報告もある。またこの疾患では肝臓に糖が多量に蓄積するとともに腺腫や肝細胞がんの発生が知られている。この遺伝性代謝異常疾患における遺伝子発現を包括的に解析することにより、本疾患の病態の解明や、本疾患の重篤な合併症である腫瘍発生の早期診断などに寄与することを目的とする。

B. 研究方法

臨床的に糖原病 Ia 型と診断され、遺伝子診断（本研究計画は浜松医科大学遺伝子解析研究倫理委員会にて審議の上承認されている [12-12 号]）により確定された症例に発生した肝腫瘍 2 例で腫瘍部および非腫瘍部より RNA を抽出した。Human genomeU95A Gene chip をもちいて、そこにみられる遺伝子の発

現を包括的に解析した。非腫瘍部と腫瘍部を比較し、2.5 倍の差の増加、減少のある遺伝子を検索した。また比較のため、正常肝組織およびウイルス性肝疾患を背景とする肝腫瘍についてのデータも参考にした。

C. 研究結果

Ia 型糖原病に合併した 2 例で共通して腫瘍部で増加している遺伝子には以下のものがあった。

Oncogene Tls/CHOP

Transcription elongation factorA(SII) 2

Protoporphyrinogen oxidase

S100 calcium-binding protein P

Steroidogenic acute regulatory protein related

N-acetylglucosamine-1-phosphodiester alpha-N-acetylglucosaminidase

Collagen type XV, alpha1

Fatty acid desaturase 1

Cleavage and polyadenylation specific factor 1, 160KD subunit

FLJ23602 fis

Transducer of ERBB2, 2
 Midkine (neurite growth-promoting factor 2)
 DKFZP566D213 protein
 KIAA0186
 HMG protein 4
 Rad2
 Guanine nucleotide binding protein (G Protein), alpha z polypeptide
 さらに腫瘍部で減少していた遺伝子は以下の
 ものであった。
 Lectin P35
 Adenylate kinase 3
 Cholesterol 25-hydroxylase
 Reelin
 HMC class I antigen-like glycoprotein
 Claudin 10
 DKFZP586F1018 protein
 Toll-like receptor 2
 Nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3
 Kynureinase (L-kynurenine hydrolase)
 Soluble carrier family 6 (neurotransmitter transporter, betaine/GABA), member 12
 Stromal cell derived factor 1
 Neuregulin 1
 Schavannomin interacting protein 1
 cAMP responsive element binding protein-like 2
 Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)
 Secreted phosphoprotein 1(osteopontin, bone sialoprotein 1, early T-lymphocyte activation 1)
 Calcium binding atopy-related autoantigen 1
 Interleukin 8
 Small inducible cytokine A4
 StepII splicing factor SLU7

Regulator of G protein signaling 2
 v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog
 Dermatopontin
 KIAA0246
 Hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD)
 Src-like adaptor
 Small inducible cytokine A5 (Rantes)
 Glial growth factor 2
 Protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type I, beta
 Transmembrane 4 superfamily member 1
 Dual specificity phosphatase 5
 Parathyroid hormone receptor 1
 GRO1 oncogene (melanoma growth stimulating activity, alpha)
 Nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1

D. 考察

これらのうち特に、TIs/Chop については、脂肪肉腫といった希有な腫瘍で、転座が報告されており、比較的病因としての特異性が高いと思われる遺伝子である。このような転座が上皮性腫瘍でおこる報告は知られていない。

一方 transcription factor A2 は、細胞周期の G1/S 移行に重要な働きをする分子であることが知られている。したがって、腫瘍で一般に高発現していることは十分に考えうることである。

protoporphyrinogen oxidase はヘム合成過程の酵素で、その欠損がポルフィリアの原因となる。また、肝癌の合併が知られている。し

かし、その腫瘍で過剰発現している意味は不明である。

S-100 calcium-binding protein は腺癌の浸潤先進部で発現したり、腫瘍が神経内分泌分化するときに発現したりするマーカーである。

Acetylglucosaminidase は血清中の腫瘍マーカーであることも知られている。

Collagen XV は肺や腎臓の発生期の間質に存在する。

Desaturase は実験肝癌での変化が報告されているが、むしろ消失についての研究報告が多い。

Cleavage and polyadenylation specific factor のヒト腫瘍化についての関連は知られていない。

Transducer ERB-B も腫瘍との関連やチロシンキナーゼ情報伝達系などのかかわりがすでに調べられている。

Midkine の肝癌での発現上昇はすでに報告されている。

HMG protein の肝癌での発現もすでに報告はある。

Rad2 は excision repair gene であるが、腫瘍での過剰発現は知られていない。

G-protein の腫瘍における過剰発現は有名である。

したがって、今回の知見のなかで、もっとも追求すべきは、奇妙な fusion protein Tls/CHOP の発現である。Chip 状の配列の情報がないので、確認をする必要があるが、今回の2例はいずれも、生殖細胞系列に G-6-Pase の exon 5 の変異を含むものであり、腫瘍は Hematoxylin-eosin レベルでも淡明で、

脂肪を含むものである。形態学的には脂肪肉腫における発現の意義と共通点があるのかどうか興味深い。

E. 結論

糖原病にともなう肝腫瘍の発生には、従来知られていなかった分子のかかわる可能性があることが、包括的解析で始めてわかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yoshiro Otsuki, Masamitsu Tanaka, Shigeto Yoshii, Nobuko Kawazoe, Kazuyasu Nakaya and Haruhiko Sugimura. Tumor metastasis suppressor nm23-H1 regulates Rac1 GTPase by interaction with Tiam1. Proceedings National Academy of Science, USA, 98(8):4385-90, 2001

2) Toshifumi Nakamura, Takachika Ozawa, Tsunchisa Kawasaki, Hiroshi Nakamura, Haruhiko Sugimura. Glucose-6-phosphatase gene mutations in 20 Japanese adult patients with glycogen storage disease type 1a with reference to hepatic tumors.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録

なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患研究対策事業）

分担研究報告書

炎症性腸疾患における発現遺伝子の包括的解析に関する研究

分担研究者 横浜市立大学医学部第三内科 中島 淳

研究要旨 我々はマウス実験腸炎モデルにおいて核内レセプターの一つ PPAR γ リガンドが腸炎に対して高い治療効果を有することを見つけ、その作用機序は種々の炎症性メディエーターの遺伝子転写抑制によることを報告してきた。今回の研究では、さらに遺伝子の発現変化を、近年急速に開発が進んでいる DNA マイクロアレイ技術を用いて PPAR γ リガンド投与により抑制される遺伝子を包括的に解析し、新たな標的遺伝子の同定を試みた結果、種々の標的遺伝子候補を同定した。その中で、面白いことに、PPAR γ 遺伝子自体が腸炎に伴い著明に減少することを発見した。我々はさらに治療法の実証実験として、腸炎マウスに PPAR γ 遺伝子を挿入したアデノウイルスを感染させ、腸炎の強力な抑制効果を確認する遺伝子治療を行った。このようにして包括的遺伝子解析から当該疾患の標的遺伝子の同定ができることを示したが、今後は今回の解析で見つかった標的遺伝子の解析を行う予定である。

A. 研究目的

炎症性腸疾患（クローン病および潰瘍性大腸炎）は若年発症の慢性疾患で、寛解と増悪を繰り返すことが多い難病である。我々はマウス実験腸炎モデルにおいて核内レセプターの一つ PPAR γ リガンドが腸炎に対して高い治療効果を有することを見つけ、その作用機序は種々の炎症性メディエーター遺伝子の転写抑制によることを報告してきた。今回の研究では、PPAR γ リガンドにより制御される遺伝子を DNA マイクロアレイを用いて包括的に解析し、新たな創薬の標的分子の同定を試みることを目的とした。米国では既に本薬剤を用いた臨床治験が始まっているが、より副作用の少なく、かつ選択性の高い治療薬の開発のためには、疾患特異的原因遺伝子の同定に基づいた創薬が望ましいと考えられる。そのため米国ではすでにヒト炎症性腸疾患における発現遺伝子の網羅的解析が行われているが、激しい炎症組織からの遺伝子解析からはなか

なか疾患特異的標的遺伝子を同定するに至っていない。我々はこのような海外での解析上の問題背景を下に、まず、動物モデルでの解析を出発点として候補遺伝子をリストアップし、最終的にヒトのデータベース中での発現を解析し、標的遺伝子を同定することを最終目的とした。

B. 研究方法

マウス実験腸炎モデルは、最もよく解析されている硫酸デキストラン（DSS）誘発腸炎モデルを用いた。2.5%DSS 投与により誘発したマウス腸炎モデルに PPAR γ リガンドである Rosiglitazone(BRL)を 30mg/kg 経口投与し、各々腸管から RNA を抽出し、Affymetrix 社のオリゴヌクレオチド DNA アレイ (GeneChip)により、発現遺伝子のプロファイリングを行った。GeneChip は U74 アレイをもちいた。腸炎誘導から RNA 採取の時期を検討するためと、GeneChip の解析から得た

遺伝子の変化を確認する目的には、ABI 社の Real time PCR machine (TaqMan)を用いた。遺伝子治療用のアデノウイルスベクターは大阪大学との研究協力で作成し、マウスに投与した。

(倫理面への配慮)

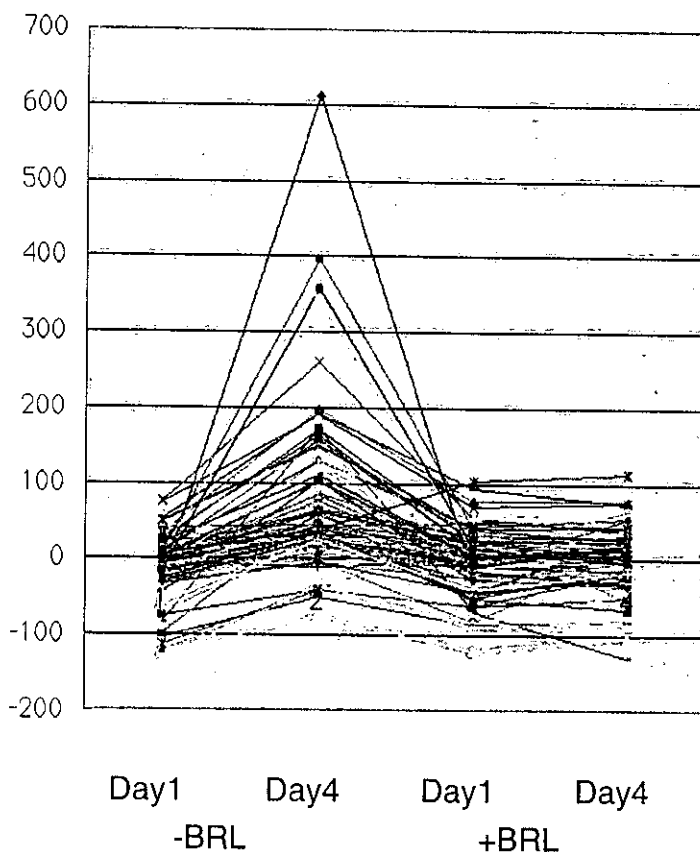
今回の研究では人の組織は扱っていない。マウスはできるだけ愛護的に扱い苦痛は最小限にするよう努力した。

C. 研究結果と考察

(1) DSS 誘発実験腸炎マウスにおける PPAR γ リガンド投与・非投与下での遺伝子発現の網羅的解析

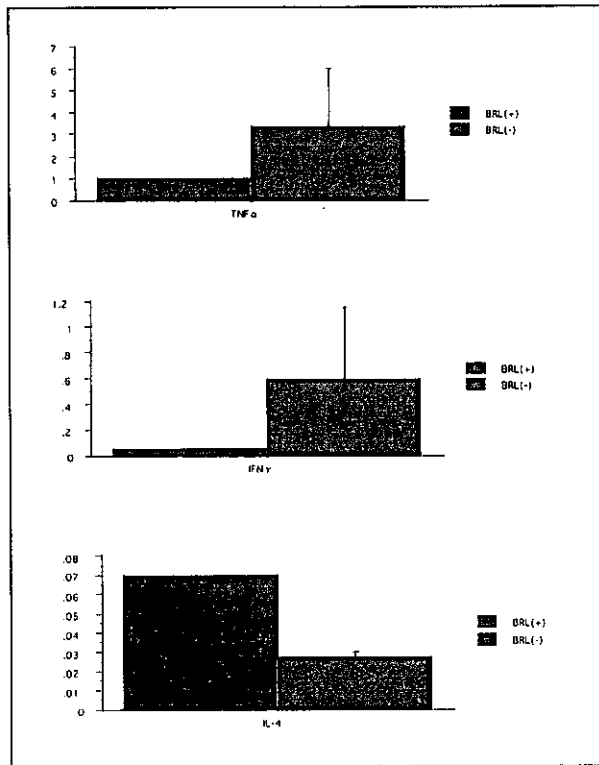
DSS 投与後 1 日目、4 日目における BRL 投与・非投与別の遺伝子発現のプロファイリングを図 1 に示す。このプロファイリングでは DSS 投与により腸炎を誘発し Day1 から Day4 にかけて発現が亢進し、かつ PPAR γ リガンドの BRL49653 投与で発現が抑制される遺伝子群を選択してある。図 2 には具体的に図 1 に示したような変化をする遺伝子を BRL 投与で大きく変化する順に遺伝子名でリストアップ (抜粋) してある。

BRL で転写抑制される遺伝子のなかには、
 (1) 炎症性メディエーター関連遺伝子、
 (2) 腸管での水・電解質代謝に関係する遺伝子、
 (3) 薬物代謝遺伝子、
 (4) 癌遺伝子関連などが認められた。特にサイトカイン関連遺伝子では TNF α や IFN- γ の低下 IL-4 と IL-10 の増加が Realtime PCR にて示された (図 3)。



X13080	voltage-dependent anion channel 3	~37.7
X03505	serum amyloid A 3	~31.1
A1595772	cytochrome P450 CYP2D22	~22.0
M64086	serine protease inhibitor 2-2	~16.9
D44464	uridine phosphorylase	~15.9
X80980	thymidine kinase 1	~15.7
X86473	matrix metalloproteinase 13	~14.5
X58602	interferon-stimulated protein	~11.2
X81584	IGFBP6	~10.8
D44456	proteasome subunit, beta type 9	10.2
U89839	hemopexin	~9.5
U49739	myosin VI	~9.3
U19597	cyclin-dependent kinase inhibitor 2D	~8.8
A1876446	gamma-fibrinogen	~8.4
J04596	GRO1 oncogene	~8.4
X00945	serine protease inhibitor 1-6	~8.4
M69109	indole 2,3-dioxygenase	~8.0
M75721	serine protease inhibitor 1-1	~7.8
D37837	plastin 2, L	~7.3
M19881	small inducible cytokine A2	~7.1

図 3



(2) 網羅的解析よりリストアップした候補遺伝子のモデル動物での発現確認と、標的遺伝子絞り込み。

網羅的解析よりリストアップした約 120 の遺伝子を定量的 PCR 法により確認解析を行った。確認作業により、既知のものも含め、約 35% が、有意に変化する遺伝子であった。この解析から驚いたことに PPAR γ (レセプター) が炎症により著明に減少することを発見した。このため研究計画を急遽変更し、PPAR γ 遺伝子を挿入したアデノウイルスベクターを作成し、実験腸炎マウスに投与する遺伝子治療を試みた。

(3) アデノウイルスベクターによる PPAR γ 遺伝子の導入

我々はマウス実験腸炎モデルにおいて核内レセプターの一つ PPAR γ リガンドの前投与が腸炎に対して高い治療効果を有することを見つけたが後投与はあまり治療効果はなかった。これは腸炎の進展に伴い病変局所での PPAR γ レセプターの減少によりリガンド効果が減少

したと考えるとチップのデータと矛盾しないと考えられる。PPAR γ 遺伝子を挿入したアデノウイルスベクターを実験腸炎マウスに腸炎が最も激しい時期に投与した遺伝子治療を行った。炎症が最も激しい時期にアデノウイルスベクターとリガンドを投与したグループは肉眼的にも著明な治療効果を認め (図 4)、また死亡率でも肉眼的所見と同様の有意な差異を認めた (図 5)。

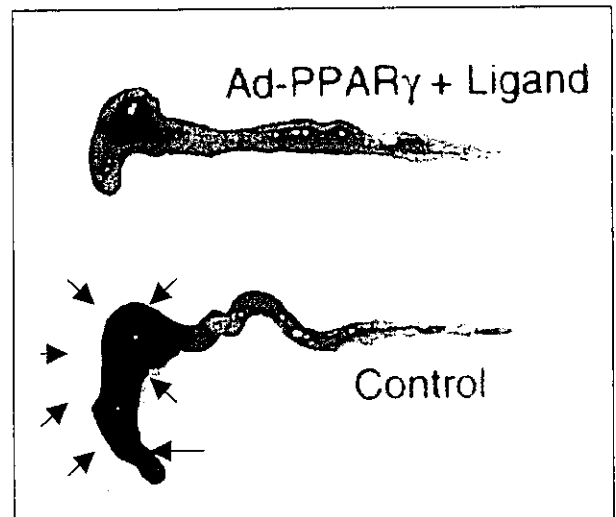


図 4 腸炎の激しい 5 日目に PPAR γ 遺伝子を挿入したアデノウイルスベクターとリガンドを投与した腸管の 8 日目のマクロ写真 (上段) とそのコントロール (下段)。矢印は腸炎が激しく発赤し浮腫になっている盲腸近傍を示している。

Mortality of DSS-induced colitis mice at Day 8

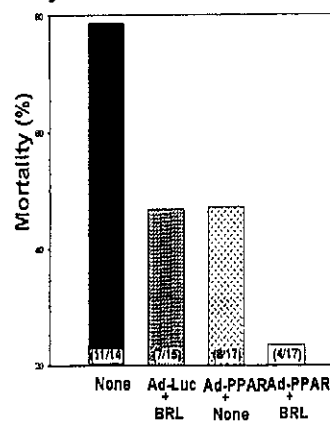


図 5 腸炎誘発 5 日 8 日目時点での死亡率、コントロール (一番左) と比べ、アデノウイルスベクターとリガンド投与群は死亡率の有意な減少を認めた (一番右)

D. 考察

GeneChip のデータにおいては、DSS マウス実験腸炎ですでに人の炎症性腸疾患で変化することがわかっているサイトカインや matrix metalloproteinase, GRO1 oncogene などの異常が確認された。これは今回用いた遺伝子発現の網羅的解析手法ですでに報告されている遺伝子発現異常を確認できたということであり、本法が正しいアプローチであることを示していると考えられる。一方、今回の網羅的解析で同定された、新規遺伝子群について、非特異的に変化しているだけか、創薬の標的となる遺伝子かを今後吟味する必要があると考えられる。

Realtime PCR によるサイトカインの定量解析から TNF- α や IFN- γ の低下 IL-4 と IL-10 の増加が示されたことは、BRL 投与によりヘルパー T 細胞のサブセット Th1 から Th2 へサイトカインパターンが変異していると考えられる。

新規の炎症性腸疾患治療薬 BRL49653 の作用機序として Th1 から Th2 への Biological Response Modifier(BRM)作用が今回の解析結果より考えられた。

今回の網羅的解析結果より図らずも PPAR γ 自身が炎症に伴って著減し、それを遺伝子治療の手法を使って補充すると治療効果があることがわかった。以上の知見より今後の炎症性腸炎の治療を考えていく上で、PPAR γ を増加させる薬物の検索が重要であること、実際の治療においては予防的再燃防止に重点を置いた使用が望ましいことが示唆された。

1) 達成度について

人の組織を用いた解析までには至らなかったが、今後人組織を解析する際に大変参考になる標的遺伝子候補を同定した。海外でもあまりうまくいっていない点を考えるとこのようなアプローチの方が優れていると思われる。

また、PPAR γ について、将来人に対する治療的試みに際して大変参考になるデータが得られた点は大きい。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

今回の成果は、国内の当該学会からもシンポジウムなどで大きく評価され、また、英文総説の依頼も受けた点など考慮すると当該分野での進歩は国内外で評価されたものと考えられる。また、今回は PPAR γ 遺伝子一つのみの解析であったが、得られた結果は実際の炎症性腸炎の治療に際したいへん有益であると考えられる。実際本薬剤の炎症性腸炎に対する知見が先行している米国では、我々の結果を参考にして、後投与から緩解維持療法の治験へと戦略の変更を行っている。また、発現遺伝子の網羅的解析結果から、標的遺伝子を同定し、治療効果を確認する実証実験を行った意義は大きいと思われた。

3) 今後の展望

データベースでの標的遺伝子の治療法の実証実験の系を作成したが、今回は PPAR γ 遺伝子一つのみであったが、今後多くの遺伝子を解析することにより、炎症性腸疾患の新規治療法につながる法的遺伝子を同定できる可能性があると思われる。また、実際の人に対する治療戦略においては、研究結果を生かす敏速な治験システムが必要と思われる。

E. 結論

- ・マウス実験腸炎モデルにおいて遺伝子発現のプロファイリングを行った。
- ・近年新規治療薬として候補に上っている PPAR γ リガンド (BRL49653) の作用機序を解明した。
- ・遺伝子発現のプロファイリングから新規治療薬の候補遺伝子をリストアップした。
- ・リストアップした遺伝子の中で PPAR γ レセ

プターの減少を見出したのでアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療を行い極めて劇的な治療効果があることを確認できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 国内

論文発表

中島 淳・和田孝一郎

炎症性腸疾患における PPAR γ の関与と治療

Pharma Medica. 2001;19:67-70

中島 淳

PPAR γ と大腸癌

医学のあゆみ 2001;198(11):763-764

学会発表

第 43 回日本消化器病学会大会 ワークショップ 12

IBD のバイオセラピーと Biological response modifier (BRM)

炎症性腸疾患における BRM としての PPAR γ の作用機序と網羅的遺伝子解析によるバイオセラピーの新たな標的分子の検索 中島 淳
平成 13 年 10 月

2) 海外

論文発表

Nakajima A, Iijima H, Neurath MF, Nagaishi T, Nieuwenhuis EE, Raychowdhury R, Glickman J, Blau DM, Russell S, Holmes KV, Blumberg RS.

Activation-induced expression of carcinoembryonic antigen-cell adhesion molecule 1 regulates mouse T lymphocyte function. *J Immunol.*, 168:1028-1035, 2002

Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Kadowaki T, Blumberg RS, Nagai R, Matsushashi N. Endogenous PPAR γ mediates anti-inflammatory activity in a model of ischemia-reperfusion injury.

Gastroenterology 2001;120:460-469

Matsushashi N, Nakajima A, Watanabe K, Komono Y, Suzuki A, Ohnishi S, Omata M, Kondo K, Usui Y, Iwadare J, Watanabe T, Nagawa H, Muto T. Tacrolimus in corticosteroid-resistant ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 2000;35:635-640.

Wada K, Nakajima A. PPAR γ and inflammatory bowel disease: a new therapeutic target for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Trends in Mol. Med.* 2001;7(8): 329-331 (総説)

学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患研究対策事業）

分担研究報告書

低酸素下低比重リポ蛋白質負荷による冠動脈平滑筋の脂質蓄積

分担研究者 和田 洋一郎 東京大学駒場オープンラボラトリー 助手
児玉 龍彦 東京大学先端科学技術研究センター 教授

研究要旨 冠動脈や大動脈などにおける動脈硬化現象においては平滑筋細胞の増生とマクロファージ細胞の血管壁内遊走を認める。この現象を *in vitro* において観察し、経時的にその機序を明らかにするためにウサギ大動脈平滑筋と内皮細胞を用いて血管壁モデル培養系を構築し、種々の刺激を加えたところ、低酸素下においてのみ LDL 負荷による平滑筋細胞への脂質蓄積が生じたことを見いだした。また、細胞の脂質合成や放出アッセイを行ったところ、この泡沫化には合成と放出効率の変化が関与していないことを示した。さらに oligonucleotide array によって網羅的遺伝子発現解析を行い、脂質蓄積時に発現が増加または抑制されている遺伝子群を同定し、Northern blot によってその変化を確認したところ、脂肪細胞で特徴的とされる adipophilin の発現を認めた。

A. 研究目的

血管壁を構成する細胞に、動脈硬化病変環境を模した刺激を加えて遺伝子発現パターンを検討し、病変形成過程を細胞の状態から明らかにする。今回、冠動脈平滑筋に加わる、低酸素刺激と LDL 負荷を行い、遺伝子発現を網羅的に解析した。

B. 研究方法

冠動脈平滑筋 (Caucasoid, 38 F) を EGM-2 培地 (Clonetics, Co. Ltd.) にて培養後、2% から 20% までの種々の酸素分圧下で培養した。低比重リポ蛋白質 (LDL) 負荷群には終濃度 3mg/ml にて LDL を添加した。72 時間後に PBS

にて洗浄し、細胞の脂肪染色、脂質組成分析を行った。同時に total RNA を調製し、うち 5 μ g を用いて cDNA さらに cRNA を合成し、oligonucleotide chip (GeneChip HuFL, Affymetrix, CA) にて 6500 遺伝子の発現量を比較した。顕著に発現量が変動する遺伝子群は、クラスタ解析によって抽出した。

(倫理面への配慮)

ヒト単球細胞の収集にあたっては、各施設の倫理規定に基づき、正規の基準に則って採血が行われている。病理解析に使用されるヒト検体については、各施設の倫理規定に基づき、本人または家族の同意のもとに提供を受けている。実験に供される動物は、使用にあたって

pentobarbital sodium による十分な麻酔を施され、絶えず痛覚が消失していることが確認されている。

C. 研究結果

冠状動脈において低酸素下で LDL を負荷すると、脂質染色にて陽性細胞数が増加し、cholesteryl ester の蓄積が増加した。その原因は LDL 由来の脂質取り込み増加によるものであり、生合成や、放出抑制によらないことがわかった。遺伝子発現検討により、NiemannPick C disease protein 等細胞内脂質輸送蛋白の遺伝子は、脂質負荷によってその mRNA レベルが2倍以上に増加した。一方、SREBP や、これによって転写調節を受ける LDL 受容体、caveolin、さらにコレステロール合成経路の各酵素について転写レベルの抑制が認められた。クラスタ分析の結果、leptin, adipophilin, CL-100 などが誘導されることがわかり、さらにこれらはヒト病変での発現が確認された。特に leptin については転写開始点近傍の C/EBP beta が重要であることが示唆された。

D. 考察

泡沫細胞モデルの樹立およびその遺伝子発現解析が実施された。誘導が顕著な遺伝子群が同定され、その発現は病変でも確認された。現在その転写調節解析が進行しており、本研究の目的はほぼ達成されたと考えられる。

動脈硬化に対する治療薬開発は、疾患に深く関与する遺伝子をターゲットにすることができると考えられる。したがって、本研究によって培養系において重要な遺伝子群を抽出することが可能になれば治療薬開発の有効な手法になる。

平滑筋細胞での脂質蓄積が解析可能となったことにより、ヒト動脈硬化進展の機序を詳細に観察することが可能となる。今後脂質の解析と、細胞の遺伝子発現パターンの両面から検討する予定である。また、内皮細胞やマクロファージと混合培養することによって、より生理的な疾患モデルを作成することが可能になると考えられる。

E. 結論

動脈硬化を特徴づける泡沫細胞のモデルが作成され、その脂質取り込みの機序と遺伝子発現プロファイルが同定された。脂質負荷による脂質代謝関連遺伝子の発現量は、大気中と同程度の酸素分圧下の培養において予想通りの挙動を示した。これら遺伝子群と同様の挙動を示す遺伝子には、植物でコレステロール合成に関わる酵素と類似した未知の遺伝子も含まれていた。一方、肥厚した中膜平滑筋が晒されると想定される低酸素環境では、その発現レベルと、脂質による抑制効果が異なっており、実際脂質染色や、脂質組成分析で認められた cholesteryl ester の蓄積増加の一因と考えられた。平滑筋を低酸素下、脂質負荷することによって、ケモカインや、angiogenic inducer, 脂質代謝関連遺伝子群と同時に未知の遺伝子が著明に増加しており、生体内で動脈硬化病変が進展するにあたって重要な役割をはたしていると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tomokiyo R, Jinnouchi K, Honda M, Wada Y, Hanada N, Hiraoka T, Suzuki H, Kodama T, Takahashi K, Takeya M. Production, characterization, and interspecies reactivities of monoclonal antibodies against human class A macrophage scavenger receptors. *Atherosclerosis*. 161(1):123-32. 2002
2. Mine S, Tabata T, Wada Y, Fujisaki T, Iida T, Noguchi N, Niki E, Kodama T, Tanaka Y. Oxidized low density lipoprotein-induced LFA-1-dependent adhesion and transendothelial migration of monocytes via the protein kinase C pathway. *Atherosclerosis*. 160(2):281-8. 2002
3. Nakamura T, Hinagata J, Tanaka T, Imanishi T, Wada Y, Kodama T, Doi T. HSP90, HSP70, and GAPDH directly interact with the cytoplasmic domain of macrophage scavenger receptors. *Biochem Biophys Res Commun*. 290(2):858-64. 2002
4. Mashiba S, Wada Y, Takeya M, Sugiyama A, Hamakubo T, Nakamura A, Noguchi N, Niki E, Izumi A, Kobayashi M, Uchida K, Kodama T. In vivo complex formation of oxidized alpha(1)-antitrypsin and LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 21(11):1801-8. 2001
5. Saiura A, Mataka C, Murakami T, Umetani M, Wada Y, Kohro T, Aburatani H, Harihara Y, Hamakubo T, Yamaguchi T, Hasegawa G, Naito M, Makuuchi M, Kodama T. A comparison of gene expression in murine cardiac allografts and isografts by means DNA microarray analysis.

Transplantation. 72(2):320-9. 2001

6. Hashimoto K, Wada H, Wada Y, Kobayashi M, Izumi A, Sugiyama A, Kohro T, Hamakubo T, and Kodama T. Extensive oligonucleotide microarray transcriptome analysis of the rat cerebral artery and arachnoid tissue. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis in press* 2002

2. 学会発表

(海外)

Gordon conference, June, 2001, Kimball Union Academy, Meriden, NH.

"Lipid accumulation of coronary artery smooth muscle cell under hypoxic condition"

SFRR, Dec, 2001, Sydney.

"Lipid accumulation of coronary artery smooth muscle cell under hypoxic condition."

(国内)

1. 日本動脈硬化学会, 2001年6月, 東京.

低酸素下低比重リポ蛋白質負荷による冠動脈平滑筋における遺伝子発現.

2. 第74回日本生化学会大会, 2001年10月, 京都.

シンポジウム: スカベンジャーレセプターの新しい機能と病気.

3. 分子生物学会, 2001年12月, 横浜.

低酸素下低比重リポ蛋白質負荷による冠動脈平滑筋の脂質蓄積.

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

IV. 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧表

著者名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Hippo Y, Taniguchi H, Tsutsumi S, Machida N, Chong JM, Fukayama M, Kodama T, Aburatani H.	Global gene expression analysis of gastric cancer by oligonucleotide microarrays.	Cancer Research	62(1)	233-240	2002
Mukasa A, Ueki K, Matsumoto S, Tsutsumi S, Nishikawa R, Fujimaki T, Asai A, Kirino T, Aburatani H.	Distinction in gene expression profiles of oligodendrogliomas with and without allelic loss of 1p. Oncogene	in press			2002
Takahashi M, Tsuboyama-Kasaoka N, Nakatani T, Ishii M, Tsutsumi S, Aburatani H, Ezaki O.	Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPARalpha activation and ROS production.	Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.	282(2)	G338-48	2002
Takabe W, Kodama T, Hamakubo T, Tanaka K, Suzuki T, Aburatani H, Matsukawa N, Noguchi N.	Anti-atherogenic antioxidants regulate the expression and function of proteasome-type subunits in human endothelial cells.	J. Biol. Chem.	276(44)	40497-501	2001
Akiyoshi S, Ishii M, Nemoto N, Kawabata M, Aburatani H, Miyazono K.	Targets of Transcriptional Regulation by Transforming Growth Factor-beta: Expression Profile Analysis Using Oligonucleotide Arrays.	Jpn J Cancer Res.	92(3)	257-268.	2001
Hippo Y, Yashiro M, Ishii M, Taniguchi H, Tsutsumi S, Hirakawa K, Kodama T, Aburatani H.	Differential gene expression profiles of scirrhous gastric cancer cells with highly metastatic potential to peritoneum or lymph nodes.	Cancer Research	61	889-895	2001
Huang Y, Uchiyama Y, Fujimura T, Kanamori H, Doi T, Takamizawa A, Hamakubo T, Kodama T.	A human hepatoma cell line expressing hepatitis c virus nonstructural proteins tightly regulated by tetracycline.	Biochem Biophys Res Commun	281(3)	732-40	2001
Umetani M, Mataka C, Minegishi N, Yamamoto M, Hamakubo T, Kodama T.	Function of GATA transcription factors in induction of endothelial vascular cell adhesion molecule-1 by tumor necrosis factor-alpha.	Arterioscler Thromb Vasc Biol.	21(6)	917-22.	2001
Tomokiyo R, Jinnouchi K, Honda M, Wada Y, Hanada N, Hiraoka T, Suzuki H, Kodama T, Takahashi K, Takeya M.	Production, characterization, and interspecies reactivities of monoclonal antibodies against human class A macrophage scavenger receptors.	Atherosclerosis.	161(1)	123-32	2002
Mine S, Tabata T, Wada Y, Fujisaki T, Iida T, Noguchi N, Niki E, Kodama T, Tanaka Y.	Oxidized low density lipoprotein-induced LFA-1-dependent adhesion and transendothelial migration of monocytes via the protein kinase C pathway.	Atherosclerosis.	160(2)	281-8.	2002
Nakamura T, Hinagata J, Tanaka T, Imanishi T, Wada Y, Kodama T, Doi T.	HSP90, HSP70, and GAPDH directly interact with the cytoplasmic domain of macrophage scavenger receptors.	Biochem Biophys Res Commun.	290(2)	858-64.	2002
Mashiba S, Wada Y, Takeya M, Sugiyama A, Hamakubo T, Nakamura A, Noguchi N, Niki E, Izumi A, Kobayashi M, Uchida K, Kodama T.	In vivo complex formation of oxidized alpha(1)-antitrypsin and LDL.	Arterioscler Thromb Vasc Biol.	21(11)	1801-8.	2001
Saiura A, Mataka C, Murakami T, Umetani M, Wada Y, Kohro T, Aburatani H, Harihara Y, Hamakubo T, Yamaguchi T, Hasegawa G, Naito M, Makuuchi M, Kodama T.	A comparison of gene expression in murine cardiac allografts and isografts by means DNA microarray analysis.	Transplantation.	72(2)	320-9.	2001
Hashimoto K, Wada H, Wada Y, Kobayashi M, Izumi A, Sugiyama A, Kohro T, Hamakubo T, and Kodama T	Extensive oligonucleotide microarray transcriptome analysis of the rat cerebral artery and arachnoid tissue.	Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	in press		2002
Otsuki Y, Tanaka M, Yoshii S, Kawazoe N, Nakaya K and Sugimura H.	Tumor metastasis suppressor nm23-H1 regulates Rac1 GTPase by interaction with Tiam1.	Proceedings National Academy of Science, USA	98(8)	4385-90	2001
Nakamura T, Ozawa T, Kawasaki T, Nakamura H, Sugimura H.	Glucose-6-phosphatase gene mutations in 20 Japanese adult patients with glycogen storage disease type 1a with reference to hepatic tumors.	In submission			
Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Kadowaki T, Blumberg RS, Nagai R, Matsuhashi N.	Endogenous PPAR _{alpha} mediates anti-inflammatory activity in a model of ischemia-reperfusion injury.	Gastroenterology	120	460-469	2001
Nakajima A, Iijima H, Neurath MF, Nagaishi T, Nieuwenhuis EE, Raychowdhury R, Glickman J, Blau DM, Russell S, Holmes KV, Blumberg RS	Activation-induced expression of carcinoembryonic antigen-cell adhesion molecule 1 regulates mouse T lymphocyte function.	J Immunol.	168	1028-1035	2002
Wada K, Nakajima A.	PPAR _{alpha} and inflammatory bowel disease: a new therapeutic target for ulcerative colitis and Crohn's disease.	Trends in Mol. Med.	7(8)	329-33	2001

20010851

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