

厚生労働科学研究研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

シングルセル発現プロファイル解析の毒性評価への応用

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 杉本 幸彦

平成15（2003）年4月

目 次

I. 総括研究報告	
シングルセル発現プロファイル解析の毒性評価への応用 杉本 幸彦	----- 1
II. 分担研究報告	
RNA 増幅法における迅速・効率化の検討 田中 智之	----- 7
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 11
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 15

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業） 総括研究報告書

シングルセル発現プロファイル解析の毒性評価への応用

主任研究者 杉本 幸彦 京都大学大学院薬学研究科助教授

研究要旨

本研究の目的は、アレイ解析を前提として、シングルセルに由来するゲノム発現情報の増幅法を実用化することである。主任研究者は、組織切片から単一細胞（cDNA）を単離して RNA 増幅・アレイ解析「シングルセル発現プロファイル解析法」を習得し、これまで解析を行ってきたプロスタノイド受容体欠損マウスにおける生殖系や中枢神経系の異常の分子メカニズムを明らかにすることを試みる。平成 14 年度は基礎知見の蓄積に主眼をおいて研究を進め、本法がシングルセルレベルの超微量組織のアレイ解析に適した方法として機能しうることを、また改善を加えてより再現性の高い方法を確立した。実際に、EP2 受容体欠損マウスにおける受精障害や、ヒスタミン欠損マウスにおけるマスト細胞分化異常を裏付ける興味深い遺伝子発現変化を同定した。

分担研究者

田中智之・京都大学薬学研究科・助手

A. 研究目的

本研究の目的は、アレイ解析を前提として、シングルセルに由来するゲノム発現情報の増幅法を実用化することである。本法により高解像度のトキシコジェノミクスが可能となり、医薬品の安全性向上に貢献するのみならず、

新しい診断法としての応用も考えられる。

ゲノム情報を活用して薬物の毒性評価を行う上で、網羅的なマイクロアレイ解析は有効なツールであるが μg オーダーの RNA を必要とし、従って臓器などヘテロな細胞集団を解析しているのが現状であり、有効な情報を得ることが困難であった。従って細胞レベルの解析を行うためには、培養細胞を用いるか、PCR や免疫組織によって特定の遺伝子発現を

解析する他はなかった。しかしながら、例えば生殖機能や中枢機能の毒性評価に関しては、卵巣や線条体といった組織単位で解析するよりも、最終的に卵や卵母細胞、あるいは脳内のドーパミン神経核といった細胞レベルでのゲノム発現情報が重要となることはいままでの間もない。

ヘテロな RNA 集団の増幅に PCR を使用すると、分子間の増幅効率にバイアスが生じる。1990 年にペンシルベニア大の Eberwine らは、T7-RNA ポリメラーゼを用いて低バイアスのまま RNA を増幅する方法を開発した。主任研究者は、Eberwine との共同研究により、予め逆転写反応を行った切片から単一細胞 (cDNA) を単離する「シングルセル RNA 増幅法」を習得した。切片からの回収に特化した本法を用いる点が本課題の最大の特徴であり、本法を使用してアレイ解析を行った報告は Eberwine 以外に未だ国内・外に見られず、独創的な点である。しかし、現時点で本法は技術と時間、労力において検討の余地があり、実用化のために迅速・効率化が望まれる。

主任研究者はこれまで、プロスタノイドによる生体調節の解析を行ってきたが、8 種類存在するプロスタノイド受容体のうち、特定の受容体欠損が生殖・発生・免疫・中枢の各機能に障害を与えることを見出した。そこで本申請課題では、その解析の場として、アドバンテージを有するプロスタノイド受容体欠

損マウスを用い、受容体欠損による各機能障害の本態を、高解像度の発現プロファイル解析により捕捉を試みる。中でも、生殖 (EP2、EP4、FP 欠損)、中枢 (EP3、EP1 欠損) の機能異常は、卵巣あるいは中枢の特定の標的細胞で発現解析を行うことで、その本態を捉えることが可能である。また受容体遮断薬による毒性評価の実践、病態モデル系でのシングルセル発現解析を行い、疾患の解析や診断応用への道を探ることが可能である (以上担当杉本)。方法全般については、切片調製、単離、RNA 増幅の高速化、アレイデータの評価まで個々に検討を加え、最適化を図った (担当田中)。

平成 14 年度においては、まず薬物毒性の評価の点でも重要な生殖障害に標的を絞り、(1) 生殖機能に影響するゲノム発現情報を同定すること、方法論の検討項目として (2) 切片調製法と単離法を最適化することを目標とし、本法の実用化のための (3) 基礎知見の蓄積に主眼をおいて研究を進めた。

B. 研究方法

今年度は、まず生殖に異常を来す EP2 受容体欠損マウス、ならびに脳神経系の発熱中枢における異常を来す EP3 受容体欠損マウス、さらに分担研究者の田中らが作成し、マスト細胞形態に異常を示すヒスタミン合成酵素 (HDC) 欠損マウスを用いて、解析系の確立を

目指した。

①EP2 欠損マウスにおける生殖細胞解析

野生型ならびに EP2 欠損の 3 週齢雌マウスに妊馬血清ゴナドトロピン処理を行い、48 時間後にヒト絨毛性ゴナドトロピンを投与して、その 14 時間後に卵管から卵と卵丘細胞複合体を回収した。これを卵と卵丘細胞を個々にシングルセル発現解析に用いた。

②視床下部 EP3 発現ニューロンにおける PGE₂ 投与によるプロフィール変化の解析

現在マウス EP3 に対する特異抗体が存在しないため、野生型マウスにおける EP3 発現ニューロンの同定が困難であると判断し、ラット EP3 発現ニューロンでの PGE₂ 刺激の有無における発現変化を解析することとした。ラット脳室内に生理食塩水あるいは PGE₂ を投与して（1 時間後）、4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定、4 時間後固定の後に 10 μm の視床下部切片を作成し、抗ラット EP3 抗体を用いて EP3 発現ニューロンを同定後、シングルセル発現解析を行った。この際、同時に直腸温を測定し、PGE₂ 脳室内投与による発熱の有無を確認して実験を行った。

③ヒスタミン欠損マウスにおけるマスト細胞解析

野生型ならびに HDC 欠損マウスの腹腔から組織結合型のマスト細胞を回収し、トルイジンブルー染色にて確認の後、シングルセル発現解析を行った。

(倫理面への配慮)

本申請課題は、基本的に動物実験のみを対象としており、平成 14 年度実施予定のマウスを用いた実験においては、動物愛護上問題となるような苦悶を与える実験や虐待行為等を含まず、試料の採取は麻酔下及び安楽死後を前提とする等の配慮が十分になされていることから、倫理面での問題は特にないものと考えられる。また、平成 14 年度京都大学薬学研究科の動物実験委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

①EP2 欠損マウスにおける生殖細胞解析

EP2 欠損マウスの卵丘細胞では、野生型に比べて細胞間相互作用に関連する因子群の発現亢進を認めた。これらの中には、補体の構成成分-1 やケモカインのリガンド・受容体が含まれた。また野生型と EP2 欠損マウスそれぞれの卵細胞においても、発現レベルの異なる遺伝子群が得られている。

②視床下部 EP3 発現ニューロンにおける PGE₂ 投与によるプロフィール変化の解析

発熱中枢として知られる視床下部の視索前野に存在する EP3 ニューロンでは、PGE₂ 処理により多くの遺伝子発現が低下すること、中でも GABA-A 受容体の発現が顕著に低下した。また発現低下した遺伝子群には、低分子量 G タンパクなどの細胞内情報伝達因子が含まれた。

③ヒスタミン欠損マウスにおけるマスト細胞解析

野生型に比べて、HDC 欠損マウスのマスト細胞では、組織結合型マスト細胞の成熟に依存したマーカー遺伝子群の発現レベルが極端に低く、マスト細胞前駆細胞様の発現様式を示すことが判明した。

D. 考察

①EP2 欠損マウスにおける生殖細胞解析

卵丘細胞 (cumulus cells) は、ゴナドトロピンの刺激 (LH surge) によって排卵の刺激を受けると、ヒアルロン酸などの細胞外基質を分泌して、細胞間隙を拡大し、cumulus expansion と呼ばれる応答を示す。これは、卵胞内の内圧を高め、排卵効率に寄与すると考えられている。従来の検討により、EP2 受容体は、LH 刺激により卵丘細胞に発現誘導されることから、expansion 等の卵丘細胞機能を促進することが示されていたが、具体的な排卵・受精障害の分子機作は不明であった。今回、EP2 欠損マウス卵丘細胞において亢進した遺伝子群から、卵丘細胞間、あるいは卵丘細胞-卵間の過剰な相互作用が受精を障害している可能性が示唆された。また、卵細胞における発現プロファイル変化も得られているが、その多くが機能道遺伝子群であり、これらは分化初期段階における卵細胞解析の基礎データとして有用であるものと考えられる。

②視床下部 EP3 発現ニューロンにおける PGE₂ 投与によるプロファイル変化の解析

PGE₂ により多くの遺伝子発現レベルが低下したこと、ならびに GABA-A 受容体発現が低下したことは、最近、共同研究者の中村らの報告と照らして考えると興味深い。中村らは、PGE₂ の視床下部への局所投与による発熱応答が、GABA-A 受容体のアゴニストであるムシモールを投与すると抑制されることを見出している。これらの結果を考え合わせると、EP3 ニューロンは、通常は GABA による抑制性のシグナル支配を受けており、静的な状態にあるが、PGE₂-EP3 シグナルの活性化により、GABA-A 受容体発現低下によって抑制性シグナルが解除されることで下行性に活動が伝達される可能性が考えられる。

③ヒスタミン欠損マウスにおけるマスト細胞解析

我々の従来の研究結果では、HDC 欠損マウスは、野生型野生型に比べて、組織中マスト細胞の数が減少していること、ならびに顆粒染色性が低く電子顕微鏡解析では顆粒内の内容物密度が低いことから、顆粒形成の異常という現象が観察されていた。今回のシングルセル解析によって、HDC 欠損マウスのマスト細胞では、組織結合型マスト細胞の成熟に依存したマーカー遺伝子群の発現レベルが極端に低く、マスト細胞前駆細胞様の発現様式を示したことは、HDC 欠損マウスのマスト細胞

が未成熟であることを遺伝子発現レベルで裏付けるものであり、既に推察していたように、ヒスタミンがその分化成熟に関与する可能性を強く支持するものであった。

E. 結論

上記の①～③の実験系に見られるように、シングルセル発現プロフィール解析系は、着実にその表現型に見合う形での結果を出しており、十分に解析系として使用に耐えるものと考えられた。また分担研究者の田中の方法論の検討により、シングルセル RNA 増幅法は、シングルセルに由来する RNA でも μ g オーダーの RNA にまで十分に増幅する系へと改善することができた。一方、本増幅法の迅速化とハイスループット化に関しては、卵丘細胞や卵細胞など、細胞（集団）によっては、レーザーキャプチャーマイクロダイセクションによる回収が利用可能であるが、マスト細胞や中枢の特定神経核に関しては、レーザーの解像度がシングルセルレベルに達していないこともあり、さらなる条件検討の必要があるものと考えられた。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Sugimoto, Y. Gene expression profile analysis of single cell. *GENOME NEWS* 2, 26-27, 2002

Yoshida, K., Oida, H., Kobayashi, T., Maruyama, T., Tanaka, M., Katayama, T., Yamaguchi, K., Segi, E., Tsuboyama, T., Matsushita, M., Ito, K., Ito, Y., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ohuchida, S., Kondo, K., Nakamura, T., and Narumiya, S. Stimulation of bone formation and prevention of bone loss by prostaglandin E EP4 receptor activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 4580-4585. 2002

Kabashima, K., Saji, T., Murata, T., Nagamachi, M., Matsuoka, T., Segi, E., Tsuboi, K., Sugimoto, Y., Kobayashi, T., Miyachi, Y., Ichikawa, A., and Narumiya, S. The prostaglandin E receptor EP4 suppresses colitis, mucosal damage and CD4 cell activation in the gut. *J. Clin. Invest.* 109, 883-893. 2002

杉本幸彦、坪井一人、成宮 周、市川 厚「プロスタノイドの生殖生理機能：受容体欠損マウスを用いた解析」*日本農芸化学会誌*、76、1082-1085、2002

杉本幸彦「発熱とプロスタグランジン」*脳* 2 1、5: 301-308, 2002

2. 学会発表

杉本幸彦、中村和弘、岡 孝和、Clifford B

Saper、James H Eberwine、市川 厚

「シングルセル発現プロファイル解析による視床下部プロスタグランジン受容体 EP3 ニューロンの特性解析」シンポジウム：生化学における単一細胞解析技術

第75回日本生化学会大会2002年京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業） 分担研究報告書

RNA 増幅法における迅速・効率化の検討

分担研究者 田中 智之 京都大学大学院薬学研究科助手

研究要旨

本研究の目的は、アレイ解析を前提として、シングルセルに由来するゲノム発現情報の増幅法を実用化することである。分担研究者は、主任研究者が確立した「シングルセル発現プロファイル解析法」を基盤に、これを汎用性、再現性の点で改善し、高収量、高処理能力のある方法へと最適化を行うことを担当した。平成14年度はこのような基礎知見の蓄積に主眼をおいて研究を進め、本法がシングルセルレベルの超微量組織のアレイ解析に適した方法として機能しうること、また改善を加えてより再現性の高い方法を確立した。併せて、分担研究者が作成・解析してきたヒスタミン欠損マウスのマスト細胞の解析を行った。その結果、本変異マウスではマスト細胞に分化の異常を裏付ける興味深い遺伝子発現変化を同定した。

A. 研究目的

本研究の目的は、アレイ解析を前提として、シングルセルに由来する pg オーダーの RNA を μ g オーダーにまで安定かつ迅速に、しかも大量のサンプルを同時に増幅できる方法を確立することである。

主任研究者の杉本が、Eberwine との共同研究により本邦で確立した「シングルセル RNA 増幅法」は、独創的ではあるものの、技術と時間、労力において検討の余地があり、実用

化のために迅速・効率化が望まれた。そこで方法全般に関して、検討を加えるとともに、分担研究者の作成したヒスタミン合成酵素（HDC）欠損マウスにおけるマスト細胞を本シングルセル解析法を用いて発現解析を行った。

B. 研究方法

①方法の検討・・切片調製、単離、RNA 増幅の高速化、アレイデータの評価まで個々に検

討を加え、最適化を図った。本解析法の基盤となるシングルセル RNA 増幅法について、以下の点に関して検討を行った。(i)T7-RNA-polymerase による増幅時間と基質 NTP 濃度の設定、(ii)cDNA あるいは cRNA の濃縮法と回収法の効率化、(iii)種々の組織切片から得られる増幅 RNA の算定と固定法の影響、(iv)各種染色法による RNA 増幅に対する影響、(v)レーザーあるいはマニュアルマイクロダイセクション法の検討

②ヒスタミン欠損マウスにおけるマスト細胞の解析

野生型ならびに HDC 欠損マウスの腹腔から組織結合型のマスト細胞を回収し、トルイジンブルー染色にて確認の後、シングルセル発現解析を行った。

(倫理面への配慮)

本申請課題は、基本的に動物実験のみを対象としており、平成 14 年度実施予定のマウスを用いた実験においては、動物愛護上問題となるような苦悶を与える実験や虐待行為等を含まず、試料の採取は麻酔下及び安楽死後を前提とする等の配慮が十分になされていることから、倫理面での問題は特にないものと考えられる。また、平成 14 年度京都大学薬学研究所の動物実験委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

①方法の検討

(i)T7-RNA-polymerase による増幅時間と基質 NTP 濃度の設定

T7-RNA-polymerase に関しては、Epicentre Technology 社の高濃度 (1,000 units/ul) 品を用いた場合が最も高い転写効率が得られた。また、反応時間については、4 時間、12 時間を検討し、12 時間の方が多くの転写産物が得られたが、低分子産物の収量が多くなる傾向が認められた。一方、基質である NTP 濃度に関しては、原法 (0.25 mM) に比べて高濃度条件 (7.5 mM) により 5-6 倍の収量が得られた。

(ii)cDNA あるいは cRNA の濃縮法と回収法の効率化

Eberwine の原法では、cDNA あるいは cRNA 産物の濃縮の際、E. coli-tRNA をキャリアとして添加していたが、これがバックグラウンドの原因となっていたため、glycogen を用いることでバックグラウンド化できた。また、基質の持込が問題とならない場合には、カラム精製、遠心濃縮も有効であった。

(iii)種々の組織切片から得られる増幅 RNA の算定と固定法の影響

パラフィン切片ならびにホルマリン切片にてシングルセルを回収して収量を比較したところ、ホルマリン切片の場合に安定して μg オーダーの RNA が得られた。一方、パラフィン包埋切片の場合でも少なくとも 50 ng 以上の収量は得られており、増幅を追加すること

で十分に対応できることが判った。またアルコールによる固定法もホルマリンの場合と同様の収量を示すことが判った。

(iv) 各種染色法による RNA 増幅に対する影響

抗体染色法そのものは、RNA 収量に直接影響しなかったが、切片作成後にリン酸緩衝液などに浸した場合に若干の低下が見られた。

またほとんどの一般染色法が RNA 収量に影響しなかったものの、in situ 逆転写の際に脱色されてしまうケースが見られた。この場合、逆転写反応前に、染色画像を保存することで対応が可能であった。

(v) レーザーあるいはマニュアルマイクロダイセクション法の検討

Eberwine の原法では、パッチクランプ用のガラス電極を針として用いてマニピュレータによってシングルセルを回収したが、ハイスループットには適さない。レーザーキャプチャーマイクロダイセクション法は、レーザー照射面のみの組織片を回収することができ、多くの検体を処理することが可能であった。しかしながら、現在のところレーザー径 (5~7.5um) がシングルセルのみを単離するには困難であるものの、卵細胞など大型の細胞や密集した細胞集団の解析には有効であった。

②ヒスタミン欠損マウスにおけるマスト細胞解析

野生型に比べて、HDC 欠損マウスのマスト

細胞では、組織結合型マスト細胞の成熟に依存したマーカー遺伝子群の発現レベルが極端に低く、マスト細胞前駆細胞様の発現様式を示した。

D. 考察

①方法論の検討

今年度の方法論の検討・改善によって、ほぼ全てのシングルセルに対応できる RNA 増幅法を確立することができた。今後の課題は、ハイスループット化であると考えている。

②ヒスタミン欠損マウスにおけるマスト細胞の解析

我々の従来の研究結果では、HDC 欠損マウスは、野生型野生型に比べ、組織マスト細胞数の減少と顆粒染色性の低下が観察されていた。今回の解析で、HDC 欠損マウスのマスト細胞では、その分化・成熟に依存した遺伝子群の発現レベルが低く、マスト細胞前駆細胞様の発現様式に近い。この結果は、HDC 欠損マウスのマスト細胞が未成熟であることを遺伝子発現レベルで裏付け、ヒスタミンがその分化成熟に関与する可能性を強く支持するものである。

E. 結論

以上の検討により、Eberwine らの開発したシングルセル RNA 増幅法の原法に比べて、収量において 5-6 倍、安定性においては飛躍的

に向上が見られ、さらに種々の調製による切片に対応できる基礎知見が集積した。これらの基礎データは、平成 15 年度以降の本トキシコゲノミクス研究分野プロジェクトの展開に有用な知見となることが期待される。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka, S., Takasu, Y., Mikura, S., Satoh, N. and

Ichikawa, A. Antigen-independent induction of histamine synthesis by immunoglobulin E in mouse bone marrow-derived mast cells. **J. Exp. Med.**, 196, 229-235. (2002)

Tanaka, S., Hamada, K., Yamada, N., Sugita, Y.,

Tonai, S., Hunyady, B., Palkovits, M., Falus, A., Watanabe, T., Okabe, S., Ohtsu, H., Ichikawa, A. and Nagy, A. Gastric acid secretion in L-histidine decarboxylase-deficient mice. **Gastroenterology**, 122, 145-155. (2002)

2. 学会発表

田中智之

「ヒスタミン生合成を介して発現する生理機能に関する研究」(奨励賞受賞講演)

日本薬学会第 123 年会 2003 年 長崎

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

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	出版社名	出版地	出版年	ページ
杉本幸彦	プロスタノイド受容体による痛覚修飾	赤池紀扶、東英穂、阿部康二、久保千春	脳機能の解明 －生命科学の主潮流－	ガイア出版会	福岡	2002	541-548

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
Kabashima K, Saji T, Murata T, Nagamachi M, Matsuoka T, Segi E, Tsuboi K, Sugimoto Y, Kobayashi T, Miyachi Y, Ichikawa A, Narumiya S.	The prostaglandin E receptor EP4 suppresses colitis, mucosal damage and CD4 cell activation in the gut.	J. Clin. Invest.	109	883-893.	2002
Yoshida K, Oida H, Kobayashi T, Maruyama T, Tanaka M, Katayama T, Yamaguchi K, Segi E, Tsuboyama T, Matsushita M, Ito K, Ito Y, Sugimoto Y, Ushikubi F, Ohuchida S, Kondo K, Nakamura T, Narumiya S.	Stimulation of bone formation and prevention of bone loss by prostaglandin E EP4 receptor activation.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA	99	4580-4585	2002
Tanaka, S., Takasu, Y., Mikura, S., Satoh, N. and Ichikawa, A.	Antigen-independent induction of histamine synthesis by immunoglobulin E in mouse bone marrow-derived mast cells.	J. Exp. Med.,	196	229-235	2002

Safina, F., Tanaka, S., Inagaki, M., Tsuboi, K., Sugimoto, Y., and Ichikawa, A.	Expression of L-histidine decarboxylase in mouse male germ cells.	J. Biol. Chem.	277	14211-14215	2002
Tanaka, S., Hamada, K., Yamada, N., Sugita, Y., Tonai, S., Hunyady, B., Palkovits, M., Falus, A., Watanabe, T., Okabe, S., Ohtsu, H., Ichikawa, A. and Nagy, A.	Gastric acid secretion in L-histidine decarboxylase-deficient mice.	Gastroenterology	122	145-155	2002
Mutoh M, Watanabe K, Kitamura T, Shoji Y, Takahashi M, Kawamori T, Tani K, Kobayashi M, Maruyama T, Kobayashi K, Ouchida S, Sugimoto Y, Narumiya S, Sugimura T, Wakabayashi K.	Involvement of prostaglandin E receptor subtype EP(4) in colon carcinogenesis.	Cancer Res.	62	28-32	2002
Fennekohl A, Sugimoto Y, Segi E, Maruyama T, Ichikawa A, Puschel GP.	Contribution of the two Gs-coupled PGE(2)-receptors EP2-receptor and EP4-receptor to the inhibition by PGE(2) of the LPS-induced TNFalpha-formation in Kupffer cells from EP2-or EP4-receptor-deficient mice. Pivotal role for the EP4-receptor in wild type Kupffer cells.	J. Hepatol.	36	328-334	2002
Ohtsu, H., Kuramasu, A., Tanaka, S., Terui, T., Hirasawa, N., Hara, M., Makabe-Kobayashi, Y.	Plasma extravasation induced by dietary supplemented histamine in histamine-free mice.	Eur. J. Immunol.	32	1698-1708	2002

Yamada, N., Yanai, K., Sakurai, E., Okada, M., Ohuchi, K., Ichikawa, A., Nagy, A. and Watanabe, T.					
Tabata, H., Tanaka, S., Sugimoto, Y., Kanki, H., Kaneko, S., Ichikawa, A.	Possible coupling of prostaglandin E receptor EP1 to TRP5 expressed in <i>X. laevis</i> oocytes.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	298	398-402	2002
Hatae, N., Sugimoto, Y., and Ichikawa, A.	Prostaglandin receptors: advances in the study of EP3 receptor signaling.	J. Biochem. (Tokyo).	131	781-784	2002
Mu J, Kanzaki T, Tomimatsu T, Fukuda H, Wasada K, Fujii E, Endoh E, Kozuki M, Murata Y, Sugimoto Y, and Ichikawa A.	Apoptosis and related proteins during parturition in prostaglandin F receptor-deficient mice.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	292	675-681	2002
Asano, T., Shoda, J., Ueda, T., Kawamoto, T., Todoroki, T., Shimonishi, M., Tanabe, T., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Mutoh, M., Tanaka, N., and Miwa, M.	Expressions of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E-receptors in carcinoma of the gallbladder: crucial role of arachidonate metabolism in tumor growth and progression.	Clin. Cancer Res.	8	1157-1167	2002
Torii E, Segi E, Sugimoto Y, Takahashi K, Kabashima K, Ikai K, Ichikawa A.	Expression of prostaglandin E(2) receptor subtypes in mouse hair follicles.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	290	696-700	2002
Tanaka, S., Konomi, A., Takahashi, K. and Ichikawa, A.	Histamine synthesis in mouse polymorphonuclear neutrophils.	Inflamm. Res.	51	S17-S18	2002
Mu J, Kanzaki T, Tomimatsu T, Fukuda H, Wasada K, Fujii E, Endoh M, Kozuki M,	Expression of apoptosis in placentae from mice lacking the prostaglandin F receptor.	Placenta.	23	215-223	2002

Murata Y, Sugimoto Y, Ichikawa A.					
Takahashi K., Tanaka, S., Furuta, K., and Ichikawa, A.	Histamine H2 receptor- mediated modulation of local cytokine expression in a mouse experimental tumor model.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	297	1205- 1210	2002
Hatae N, Yamaoka K, Sugimoto Y, Negishi M, Ichikawa A.	Augmentation of receptor- mediated adenylyl cyclase activity by Gi-coupled prostaglandin receptor subtype EP3 in a Gbetagamma subunit- independent manner.	Biochem Biophys Res Commun.	290	162-168	2002
Tsuboi, K., Sugimoto, Y., and Ichikawa, A.	Prostaglandin E2 and F2a in mouse reproduction.	International Congress Series	1233	397-404	2002
Tsuboi, K., Sugimoto, Y., and Ichikawa, A.	Prostanoid receptor subtypes.	Prostaglandins & other Lipid Mediators	68-69	535-556	2002
Tsuboi, K., Segi, E., Sugimoto, Y., and Ichikawa, A.	Role of prostanoids on female reproduction revealed by receptor- deficient mice.	Recent Res. Devel. Endocrinol.	3	119-126	2002
杉本幸彦	シングルセル発現プロフ ィール解析へ	GENOME NEWS	2	26-27	2002
田中智之	新たな抗アレルギー薬の 標的？ヒスタミンH4受 容体の発見	ファルマシア	38	64-65	2002
杉本幸彦、坪井一人、成 宮 周、市川 厚	プロスタノイドの生殖生 理機能：受容体欠損マウ スを用いた解析	日本農芸化学 会誌	76	1082- 1085	2002
杉本幸彦	発熱とプロスタグランジン	脳 2 1	5	301-308	2002

20020780

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.11- P.14の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。