

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Albertine K, Soulier M, Wang Z, Ishizaka A, Hashimoto S, Zimmerman W, Matthay M, Ware L. Fas and Fas Ligand are Upregulated in Pulmonary Edema Fluid and Lung Tissue of Patients with Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome Am J Pathol 161: 1783-1796, 2002
2. N Hasegawa, T Miura, Ishizaka A, K Yamaguchi, K Ishii. Detection of Mycobacteria from Patients with Pulmonary Tuberculosis Undergoing Chemotherapy Using MGIT and Egg-based Solid Media Culture Systems. Int J Tuberc Lung Dis 6, 447-453, 2002
3. 澤藤誠、石坂彰敏、河野光智、長谷川直樹、菊池功次、小林紘一: 虚脱後再膨張肺に生じる肺損傷-肺血管および上皮透過性の検討 臨床呼吸生理 32:101-103, 2002
4. 小谷真理子、小谷透、小竹良文、森崎浩、武田純三、黄英文、藤島清太郎、澤藤誠、石坂彰敏: 大きな一回換気量は健常肺に損傷を与えるか? 臨床呼吸生理 32:119-121, 2002
5. 渡辺真純、小林紘一、石坂彰敏: 末梢型小型肺癌に対する新しい診断アプローチ-気管支鏡下マイクロサンプリング法- 肺癌の臨床、4: 435-9, 2002.
6. 石坂彰敏: 慢性閉塞性肺疾患と栄養 Nutritional Support Journal 6, 13- 15, 2002
7. 仲村秀俊、石坂彰敏: 肺線維化におけるケモカインとケモカインレセプターの関与 分子呼吸器病学 6, 290-295, 2002
8. 山田雅子、田坂定智、石坂彰敏: ALI/ARDS 発症因子 活性酸素種、急性肺傷害(ALI)/急性呼吸促進症候群(ARDS)-病態と最新の治療 現代医療 34(増刊号), 38-43, 2002.
9. 竹下啓、石坂彰敏: Hypercapnia と急性肺損傷 (ALI) 分子呼吸器病学 2002、6、77-82
10. 石坂彰敏、渡辺真純、小林紘一、黄英文、

長谷川直樹、松田知之、橋本悟 マイクロサンプリングプローベによる肺上皮被覆液中液性因子の解析 気管支学 2002、24、632-635

学会発表

1. A. Ishizaka, M. Watanabe, M. Sawafuji, N. Hasegawa, K. Kobayashi Bronchoscopic microsampling probe for supplemental diagnosis of small peripheral lung cancer The 2002 International Conference ALA, ATS, Atlanta, 2002, 5
2. A. Ishizaka, K. Moriyama, M. Nakamura, T. Kotani, O. Kajikawa, CW. Frevert, H. Morisaki, J. Takeda, TR. Martin Large tidal volume ventilation up-regulates CD14 and Toll like receptor (TLR) 4 gene expression in rabbit lung The 2002 International Conference ALA, ATS, Atlanta, 2002, 5
3. M. Nakamura, A. Ishizaka, G. Matute-Bello, C.W. Frevert, O. Kajikawa, T.R. Martin KL-6 production from human lung epithelial cells by Fas ligation and its modulation by inflammatory mediators. The 2002 International Conference ALA, ATS, Atlanta, 2002, 5
4. K. Moriyama, A. Ishizaka, H. Koh, S. Yamamoto, J. Shigematsu, T. Kotani, Y. Kotake, H. Morisaki, J. Takeda. Large tidal volume ventilation and small amounts of intratracheal endotoxin synergistically cause acute lung injury in rabbits The 2002 International Conference ALA, ATS, Atlanta, 2002, 5
5. M. Sawafuji, A. Ishizaka, M. Kohno, H. Koh, and K. Kobayashi Contribution of Rho kinase to re-expansion lung injury in rabbits The 2002 International Conference ALA, ATS, Atlanta, 2002, 5
6. 石坂彰敏 橋本悟 マイクロサンプリング法を用いた ARDS の肺上皮被覆液中液性因子の検討 第 42 回日本呼吸器学会総会 仙台、2002、4
7. 石坂彰敏、渡辺真純、小林紘一、黄英文、長谷川直樹、松田知之、橋本悟 新しいテクノロジーによる末梢気道・肺病変の解析と将来展望: マイクロサンプリングプローベによる肺上皮被覆液中液性因子の解析 第 25 回日本気管支学会総会 札幌、2002、5
8. 石坂彰敏 急性肺障害の概念と治療戦略 第

- 30 回日本集中治療学会 札幌、2003、2
9. 石坂彰敏、松田知之、黄英文、山本信一、森山潔、小竹良文、森崎浩、武田純三、橋本悟 多臓器不全の病態解明 ” マイクロサンプリング法を用いた多臓器不全症例における急性肺損傷病態の検討” 第 30 回日本集中治療学会 札幌、2003、2
 10. 石坂彰敏、黄英文 急性肺障害に対する血管増殖因子の抑制効果 第 43 回日本呼吸器学会総会、福岡、2003、3
 11. 石坂彰敏 急性肺障害に対するエンドトキシンカラムの効果 第 43 回日本呼吸器学会総会、福岡、2003、3

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

近郊系マウスを用いたシステイニルロイコトリエン反応性遺伝子の解析に関する研究

分担研究者 石井 聡

東京大学大学院 医学系研究科 生化学分子生物学講座 細胞情報部門 助手

研究要旨

システイニルロイコトリエン（ロイコトリエン C₄ とロイコトリエン D₄）への反応性が違う二種類の近郊系マウス C57BL/6J（低反応性）と 129（高反応性）から CysLT₁ と CysLT₂ 受容体 DNA のクローニングを行った。両受容体のアミノ酸配列の違いは二つのマウス間でほとんど認められなかったが、129 マウスでは C57BL/6 マウスよりも CysLT₂ 受容体の mRNA の発現量が顕著に低下していた。CysLT₂ 受容体遺伝子周辺の構造を二つのマウスで比較したところ、129 マウスの遺伝子でのみ全長約 7.2kbp レトロトランスポゾン L1 がオープンリーディングフレームの 5'末端から直ぐ上流のイントロン内に挿入していることが判明した。この挿入によって CysLT₂ 受容体遺伝子の構造は大きく乱され、129 マウスにおいて mRNA の発現の低下に至ったと考えられた。一方、CysLT₁ 受容体を発現した CHO 細胞は LTD₄ に対して化学走性を示し、CysLT₂ 受容体を発現した CHO 細胞の運動は LTC₄ と LTD₄ の両方によって濃度依存的に抑制された。この結果は、CysLT₂ 受容体の細胞内シグナル伝達機構が、起炎症性の CysLT₁ 受容体のもとは異なり、抗炎症性に働く可能性を示唆した。したがって 129 マウスにおける CysLT₂ 受容体の mRNA の発現量の低下が、システイニルロイコトリエンに対する反応の過敏性をもたらしているのかもしれない。

A. 研究目的

ロイコトリエン（LT）は細胞膜の構成成分であるアラキドン酸から生合成される強力な生理活性脂質である。中でも LTC₄ とその派生物である LTD₄、LTE₄ は脂質にもかかわらず、分子内にシステインを含んだユニークな化学構造を持つ。それ故、これらはシステイニル LT と総称されている。LTC₄ と LTD₄ は、「アナフィラキシーの遅反応性物質（SRS-A）」として古くから気道平滑筋を収縮させる物質として知られ、ともに二種類の G タンパク質共役型受容体（CysLT₁ と CysLT₂）を介して細胞に作用を及ぼす。ヒト CysLT₁ 受容体は近年開発されたブランルカスト等の抗喘息薬によって拮抗されることが示され、CysLT₁ 受容体を介した LT の喘息への関与が明らかとなっている。しかし CysLT₂ 受容体に関しては、特異的に拮抗する薬剤は未だ開発されておらず、生体内での機能は未だ明らかになっていない。一方、LTC₄ やアラキドン酸の投与によってマウスの皮膚や腹腔内に炎症を惹起すると、二種類の近郊系マウスのうち 129 マウスの方が C57BL/6 マウスよりも有意に重い症状を呈する

ことが報告されている（Goulet ら、*J. Immunol.* 2000）。本研究では、この近郊系マウスの反応性の違いをもたらす機構の解明を CysLT₁ と CysLT₂ 受容体に注目して行った。

B. 研究方法

1) DNA クローニングと安定発現株樹立

ヒト CysLT₁ 受容体遺伝子 DNA（オープンリーディングフレーム（ORF）内の 581bp）をプローブとして、129 マウスのゲノムライブラリーについてブランクハイブリダイゼーションを行い、マウスの CysLT₁ 遺伝子 DNA をクローニングした。この DNA を発現用プラスミド pcDNA4HisMax または pCXN2.1 に組み込んで、それぞれ HEK293 細胞または CHO 細胞の安定発現株を得た。一方、EST データベースに登録されていたヒト CysLT₁ 受容体遺伝子と高い相同性を持つ C57BL/6 マウスのクローンを購入し、ORF の塩基配列を決定した。

ヒト CysLT₂ 受容体遺伝子 DNA（ORF の全長）をプローブとして、129 マウスのゲノムライブラリーについてブランクハイブリダイゼーション

を行い、マウスの CysLT₂ 受容体遺伝子 DNA をクローニングした。この DNA を発現用プラスミド pcDNA3.1 または pCXN2.1 に組み込んで、CHO 細胞の安定発現株を得た。さらにこのマウス CysLT₂ 受容体遺伝子 DNA の配列を基に、ORF を増幅する PCR プライマーを作製し、C57BL/6 マウスのゲノム DNA を鋳型にして PCR を行った。得られた PCR 断片をクローニングし、塩基配列を決定した。

129 マウス由来の CysLT₂ 受容体遺伝子については ORF 周辺領域の制限酵素マッピングを行い、Genbank のデータベースに登録されていた C57BL/6 マウスの制限酵素マップと比較した。

2) ノーザンハイブリダイゼーション

129 マウスと C57BL/6 マウスの種々の組織由来ポリ(A)付加 RNA を 3 μg ずつホルマリン変性条件下でアガロース電気泳動して、ナイロンメンブレンへのプロットングを行った。マウス CysLT₁ と CysLT₂ 受容体 DNA をプローブとしてノーザンハイブリダイゼーションを行った。

3) 定量的 RT-PCR

129 マウスと C57BL/6 マウスの副腎、腹腔マクロファージ、脾臓の総 RNA を逆転写酵素を用いて cDNA に変換した。ロッシュ社のライトサイクラーを用いた定量的 PCR によってマウス CysLT₁ と CysLT₂ 受容体 DNA の増幅を行い、129 マウスの脾臓に含まれていた mRNA 量に対する比として各組織に含まれていた mRNA 量を表した。

4) *in situ* ハイブリダイゼーション

10%ホルマリンで固定した 129 マウスの皮膚組織をパラフィン包埋し、4 μm 厚の切片を作製した。ジゴキシゲニンで標識したマウス CysLT₁

と CysLT₂ 受容体のセンス RNA プローブまたはアンチセンス RNA プローブ (全て ORF 内の配列を含む長さ約 200 base のもの) を皮膚切片とハイブリダイズさせた。対比染色としてメチルグリーン処理を施した。

5) 細胞内シグナル伝達機構の解析

・カルシウム反応

受容体を安定発現した培養動物細胞をディッシュから剥がした後にカルシウムインディケーターである Fura-2AM を取り込ませ、システイニル LT 刺激を加えたときの細胞内カルシウム濃度の経時変化を CAF-100 (日本光電社製) によって測定した。

・化学走性反応

孔径 8 μm のポリカーボネート製のフィルターをフィブロネクチンでコートし、予めシステイニル LT 溶液を満たした化学走性反応測定用 96 穴チャンバーに乗せた。さらにフィルターの上部に受容体を安定発現した培養動物細胞の懸濁液を注ぎ、37°C で 4 時間静置した。この間にシステイニル LT へ向かってフィルターを通り抜けた細胞数の程度を、ディフクイックで青色に染色したフィルターの 595nm における比色によって定量した。

C. 研究結果

マウス CysLT₁ と CysLT₂ 受容体 DNA を 129 マウスと C57BL/6 マウスでクローニングした。CysLT₁ と CysLT₂ 受容体のアミノ酸配列の相同性は 38.5% であった (図 1)。CysLT₁ 受容体のアミノ酸配列は 129 マウスと C57BL/6 マウス間で完全に一致し、339 アミノ酸残基のタンパク質をコードしていた。一方、CysLT₂ 受容体では 129

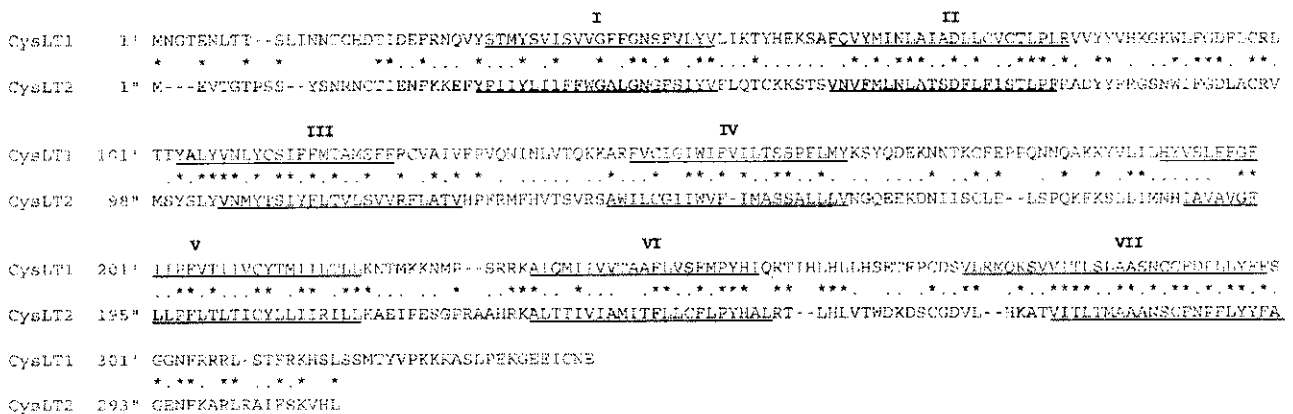


図1 マウス CysLT1 受容体とマウス CysLT2 受容体のアミノ酸配列の比較

推定した各受容体の膜貫通部位には下線を引いた。アスタリスク (*) は両受容体間で同一のアミノ酸残基を示し、ドット (·) は類似したアミノ酸残基を示す。

マウス、C57BL/6 マウスとも 309 アミノ酸残基から構成されていたが、第 2 細胞膜貫通領域内の 213 番目のアミノ酸残基においてのみ、イソロイシン (129 マウス) とバリン (C57BL/6 マウス) という構造上極めて類似したアミノ酸残基間の差異が認められた。

マウスの主な 9 組織由来の RNA についてノーザンハイブリダイゼーションを行った結果、3.0kb の CysLT₁ mRNA の比較的高い発現が皮膚、肺、小腸で、またその他の臓器でも低いながらも発現が認められた (図 2)。一方 5.5kb の CysLT₂ mRNA は脾臓、肺、小腸、皮膚、腎臓、脳、肝臓で検出された。興味深いことに、ほとんどの臓器において、129 マウスでは C57BL/6 マウスよりも両受容体の mRNA の発現量が低下していた。この傾向は特に CysLT₂ mRNA で顕著であ

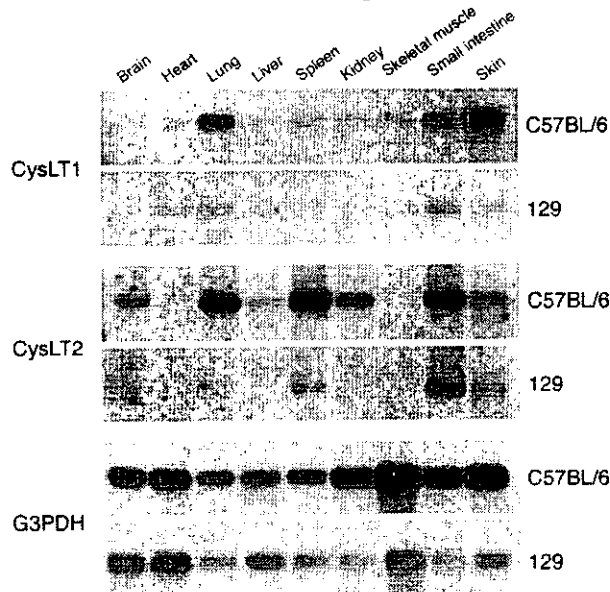


図2 種々のマウス組織におけるCysLT1、CysLT2受容体mRNAの発現レベル
3 μ gのポリ(A)付加RNAを電気泳動後、ノーザン解析を行った。

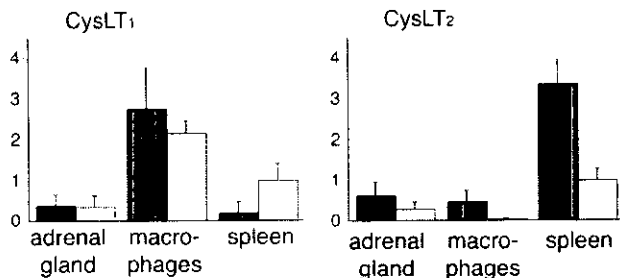


図3 定量的RT-PCRによるCysLT1、CysLT2の mRNAレベルの解析
■はC57BL/6、□は129マウスの総RNAを鋳型として得られた結果で、各受容体とも129マウスの脾臓の値に対する比で表す (平均 \pm 標準誤差、n=3)。

った。ライトサイクラーを用いた定量的 PCR 法によっても、ノーザンハイブリダイゼーションと同様の発現量の差が CysLT₂ 受容体の mRNA で示された (図 3)。

129 マウスの皮膚組織における *in situ* ハイブリダイゼーションによって、CysLT₁ と CysLT₂ 受容体の mRNA を発現する細胞は線維芽細胞であることが示された (データ略)。

C57BL/6 マウスと 129 マウスからクローニングした CysLT₂ 受容体遺伝子周辺の非翻訳領域について制限酵素マッピングを行ったところ、5'側に制限酵素サイトの違いが認められた。そこで 129 マウスについて、この違いがある領域の一部の塩基配列を決定したところ、レトロトランスポゾン L1 の存在が判明した。改めて制限酵素マッピングを行い、129 マウスでのみ全長約 7.2kbp レトロトランスポゾン L1 が挿入していることが判明した。その挿入位置は CysLT₂ 受容体の ORF の 5'末端から約 500bp 上流の第 5 イントロン内であった (図 4)。

マウス CysLT₁ と CysLT₂ の両受容体のそれぞれを発現プラスミド pcDNA4HisMax または pcDNA3.1 によって安定的に発現する哺乳動物細胞株を樹立して、LTC₄ と LTD₄ に対する細胞内カルシウム濃度の上昇反応を観察した。CysLT₁ 受容体を発現した HEK293 細胞では、濃度依存的な LTD₄ に対するカルシウム反応が認められた。しかし LTC₄ に対する反応は LTD₄ に比べ非常に小さかった (図 5)。一方、CysLT₂ 受容体を発現した CHO 細胞では LTC₄ と LTD₄ の両方に対するカルシウム反応が観察され、また LTC₄ の方が LTD₄ よりも優れたリガンドであった (図 6)。

次に pCXN2.1 と呼ばれる、より強力な β アクチンプロモーターを備えた発現プラスミドを使ってマウス CysLT₁ と CysLT₂ 両受容体のそれぞれを安定発現する CHO 細胞株を新たに樹立して、

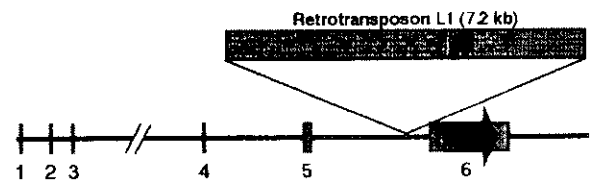


図4 129マウスのCysLT2受容体遺伝子周辺の概略図
数字はエクソンを示し、タンパク質をコードする ORF (太い矢印) は全てエクソン6にある。その直ぐ上流にレトロトランスポソンの挿入が起きている。

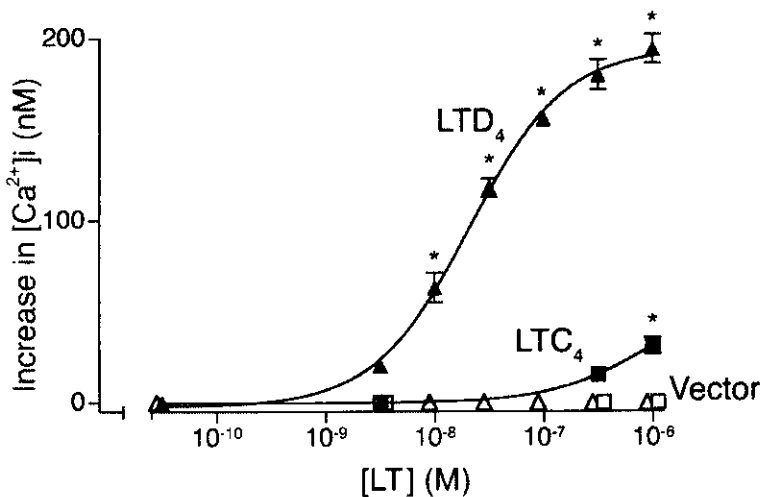


図5 マウスCysLT1を安定発現しているHEK細胞のカルシウム濃度上昇反応
システイニルLTに対する反応の濃度依存性を示す (平均±標準誤差, n=3)。*p<0.01 対ベクターコントロール細胞 (t-検定による)。

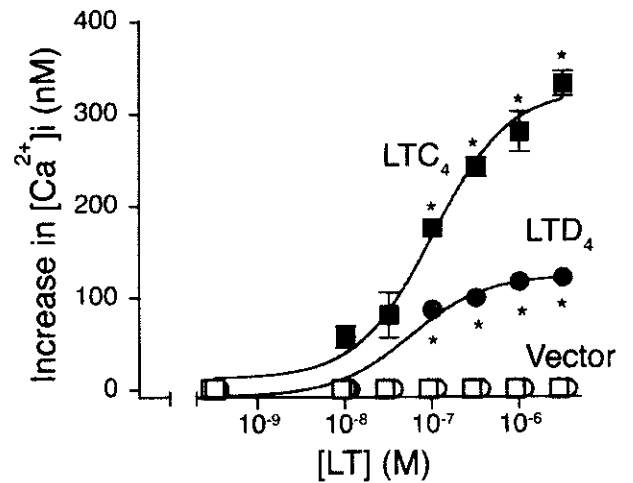


図6 マウスCysLT2を安定発現しているCHO細胞のカルシウム濃度上昇反応
システイニルLTに対する反応の濃度依存性を示す (平均±標準誤差, n=3)。*p<0.01 対ベクターコントロール細胞 (t-検定による)。

LTC₄ と LTD₄ に対する化学走性反応を調べた。CysLT₁ 受容体を発現した CHO 細胞は LTD₄ に対して特異的に化学走性を示した (図 7)。このときの濃度依存性は、他の化学走性反応で典型的に観察される山型を示した。一方、CysLT₂ 受容体を発現した CHO 細胞では、CysLT₁ 受容体で見られたような化学走性反応は LTC₄ と LTD₄ の両方ともに惹起されなかった。むしろ興味深いことに、LTC₄ と LTD₄ の濃度が上昇するにつれ、CysLT₂ 受容体を発現する細胞の運動は抑制された (図 7)。

D. 考察

129 マウスと C57BL/6 マウスの CysLT₁ 受容

体のアミノ酸配列は完全に一致していた。また CysLT₂ 受容体については、性質が類似したアミノ酸残基の間での置換が 1 箇所見つかっただけであった。これらの結果は、129 マウスと C57BL/6 マウスの間で観察されるシステイニル LT への反応性の違いが、CysLT₁ と CysLT₂ 受容体のアミノ酸配列の違いによって引き起こされているわけではないことを示唆している。

ノーザンハイブリダイゼーションと定量的 RT-PCR によって、129 マウスにおける CysLT₂ 受容体 mRNA の発現量の顕著な低下が示された。この原因として 129 マウスの CysLT₂ 受容体遺伝子内へのレトロトランスポゾン L1 の挿入が考えられた。ORF の直上流のイントロン内にレトロトランスポゾン L1 が挿入することによって CysLT₂ 受容体遺伝子のエクソン-イントロン構造が大きく乱され、その結果 mRNA の発現量が低下した可能性が高い。

マウス CysLT₁、CysLT₂ 受容体を発現した哺乳動物細胞はともにシステイニル LT に反応して細胞内カルシウム濃度を上昇させたが、化学走性には明らかな違いが認められた。すなわち CysLT₁ 受容体は LTD₄ に反応して化学走性を引き起こすが、CysLT₂ 受容体にはその機能はなく、むしろ

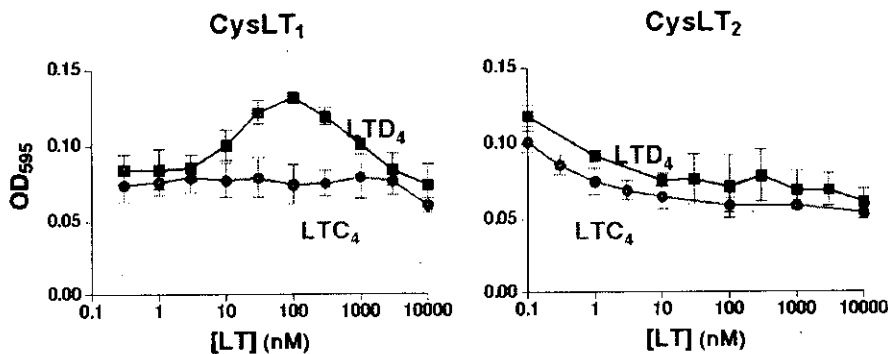


図7 CysLT1、CysLT2受容体を安定発現したCHO細胞のシステイニルLTに対する化学走性反応
各システイニルLTで細胞を刺激したときの移動運動の濃度依存性を示す (平均±標準誤差, n=6-8)。

る LTC₄ や LTD₄ に反応して細胞の運動を抑制する働きがあるように見えた。これらの結果は、CysLT₁ 受容体と CysLT₂ 受容体には機能上相違があり、抗喘息薬で拮抗される CysLT₁ 受容体には化学走性作用を介した起炎症作用がある一方、CysLT₂ 受容体には化学走性の抑制を介した抗炎症作用が備わっている可能性を示唆している。CysLT₂ 受容体の mRNA の発現量が低下した 129 マウスにおいてシステイニル LT による炎症反応が亢進していることは、この可能性を支持している。もちろん種々の組織・細胞で発現している CysLT₂ 受容体には CysLT₁ 受容体と同じくカルシウム反応を引き起こす機能があるので、全ての発現組織・細胞で抗炎症作用を持つわけではなく、細胞によっては起炎症作用を担っていることも予想される。この点については今後明らかにすべき課題と考えている。

CysLT₂ 受容体の抗炎症作用は、同じ細胞内に同時に CysLT₁ が発現している場合、LTD₄ の CysLT₁ 受容体を介した炎症反応を調節する働きを持つであろう。CysLT₁ と CysLT₂ 受容体の両方を発現する細胞に関しては、今回 *in situ* ハイブリダイゼーションによってマウス皮膚線維芽細胞を明らかにした。さらに定量的 RT-PCR の結果でも、腹腔マクロファージが両受容体を発現することを示した。今後は CysLT₁ と CysLT₂ の両方の受容体を同時に安定発現する CHO 細胞株を樹立して、CysLT₂ 受容体の細胞内シグナルが CysLT₁ 受容体の細胞内シグナルに及ぼす影響を詳細に観察することにより CysLT₂ 受容体の抗炎症作用の可能性を探っていく予定である。また、システイニル LT 以外の物質によって惹起された炎症反応に対する CysLT₂ 受容体シグナルの抑制効果についても別途検討したい。

ヒト喘息の原因遺伝子がマッピングされた領域の近くに、ヒト CysLT₂ 受容体遺伝子が存在するという報告がある。今回クローニングしたマウス CysLT₂ 受容体遺伝子を使えば、ノックアウトマウスを樹立することが可能なので、今後は CysLT₂ 受容体ノックアウトマウスに喘息症状を惹起して、その症状を野生型マウスのものと比較し、上述の CysLT₂ 受容体の抗炎症作用の可能性も含めて CysLT₂ 受容体と喘息との関係を検討する予定である。

E. 結論

マウス CysLT₁、CysLT₂ 受容体 DNA をクローニ

ングすることによって、129 マウスと C57BL/6 マウス間のシステイニル LT に対する反応性の違いを規定するメカニズムに迫ることができた。さらに CysLT₁ と CysLT₂ 受容体の興味深い機能分担の可能性も明らかになった。CysLT₂ 受容体の機能を利用すれば、炎症性の CysLT₁ 受容体の機能を抑制することにより喘息等のシステイニル LT 関連疾患の治療に役立つかもしれない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Nagase, T., Ishii, S., Shindou, H., Ouchi, Y., and Shimizu, T. (2002) Airway hyperresponsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated via an atropine sensitive pathway. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 165, 200-205.
2. Klein, A., Pinho, V., Alessandrini, A.L., Shimizu, T., Ishii, S. and Teixeira, M.M. (2002) Platelet-activating factor drives eotaxin production in an allergic pleurisy in mice. *Brit. J. Pharmacol.* 135, 1213-1218.
3. Ohshima, N., Ishii, S., Izumi, T. and Shimizu, T. (2002) Receptor-dependent metabolism of platelet-activating factor in murine macrophages. *J. Biol. Chem.* 277, 9722-9727.
4. Nagase, T., Uozumi, N., Ishii, S., Kita, Y., Yamamoto, H., Ohga, E., Ouchi, Y. and Shimizu, T. (2002) A pivotal role of cytosolic phospholipase A₂ in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nature Med.* 8, 480-484.
5. Barbuti, A., Ishii, S., Shimizu, T., Robinson, R.B., and Feinmark, S.J. (2002) Block of the background K⁺ channel, TASK-1, contributes to the arrhythmogenic effects of platelet-activating factor. *Am. J. Physiol.* 282, H2024-H2030.
6. Ogasawara, H., Ishii, S., Yokomizo, T., Shimizu, T. and Izumi, T. (2002)

- Characterization of mouse cysteinyl leukotriene receptors; mCysLT₁ and mCysLT₂. Differential pharmacological properties and tissue distribution. *J. Biol. Chem.* 277, 18763-18768.
7. Honda, Z., Ishii, S., and Shimizu, T. (2002) Platelet-activating factor receptor. *J. Biochem.* 131, 773-779.
 8. Ishii, S., Nagase, T., and Shimizu, T. (2002) Platelet-activating factor receptor. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 68-69, 599-609.
 9. Strømgaard, K., Saito, D.R., Shindou, H., Ishii, S., Shimizu, T., and Nakanishi, K. (2002) Ginkgolide derivatives for photolabeling studies: preparation and pharmacological evaluation. *J. Med. Chem.* 45, 4038-4046
 10. Soares, A.C., Pinho, V.S., Souza, D.G., Shimizu, T., Ishii, S., Nicoli, J.R., and Teixeira, M.M. (2002) Role of the platelet-activating factor (PAF) receptor during pulmonary infection with gram negative bacteria. *Brit. J. Pharmacol.* 137, 621-628.
 11. Vogensen, S.B., Strømgaard, K., Shindou, H., Jaracz, S., Suehiro, M., Ishii, S., Shimizu, T., and Nakanishi, K. (2003) Preparation of 7-substituted ginkgolide derivatives: potent platelet activating factor (PAF) receptor antagonists. *J. Med. Chem.* 46, 601-608.
 12. Nagase, T., Uozumi, N., Aoki-Nagase, T., Terawaki, K., Ishii, S., Tomita, T., Yamamoto, H., Hashizume, K., Ouchi, Y., and Shimizu, T. (2003) A potent inhibitor of cytosolic phospholipase A₂, arachidonyl trifluoromethyl ketone, attenuates LPS-induced lung injury in mice. *Am. J. Physiol.* in press.
- ルコ・イスタンブール)
2. 石井 聡、清水 孝雄 血小板活性化因子 (PAF)の生体における役割 (口演) 第75回日本生化学会大会 2002年10月 (京都)
 3. 石井 聡、加藤 邦夫、津田 誠、井上 和秀、清水 孝雄 血小板活性化因子の疼痛と神経伝達物質放出への関与 (ポスター) 「脳を知る」CRESTシンポジウム 2002年11月 (京都)
- 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

2) 学会発表

1. 石井聡、魚住尚紀、清水孝雄、長瀬隆英、大内尉義 プレオマイシン誘導肺繊維症におけるcPLA2とPAF受容体の役割(口演) 第12回プロスタグランジン・ロイコトリエン・生理活性脂質の国際会議 2002年8月(ト

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
K. Asano, T. Shiomi, et al.	Leukotriene C4 synthase gene A(-444)C polymorphism and clinical response to a Cys-LT1 antagonist, pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma.	Pharmacogenetics	12	565-570	2002
T. Oguma, K. Asano, et al.	Cyclooxygenase-2 expression during allergic inflammation in guinea pig lungs.	Am. J. Respir. Crit Care Med.	165	382-386	2002
Ogasawara, H., Ishii, et al.	Characterization of mouse cysteinyl leukotriene receptors; mCysLT1 and mCysLT2. Differential pharmacological properties and tissue distribution	J. Biol. Chem.	277	18763-18768	2002
Ohshima, N., Ishii, S	Receptor-dependent metabolism of platelet-activating factor in murine macrophages.	J. Biol. Chem.	277	9722-9727	2002
Terashima T, Yamaguchi K, et al	Correlation between cysteinyl leukotriene release from leukocytes and clinical response to a leukotriene inhibitor.	Chest	122	1566-1570	2002
Naoki, K., Yamaguchi K, et al	Constitutive isoforms of NOS and COX mediate abnormal microvessel responses to CO2 and H+ in hyperoxia-injured lungs.	Eur. Respir. J.	20	43-51	2002
Albertine K, Ishizaka A, et al	Fas and Fas Ligand are Upregulated in Pulmonary Edema Fluid and Lung Tissue of Patients with Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome	Am J Pathol	161	1783-1796	2002
Nagase, T., Ishii, S, et al.	Airway hyper-responsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated via an atropine sensitive pathway.	Am. J. Resp. Crit. Care Med.	165	200-205	2002
Nagase, T., Uozumi, N., Ishii, S, et al	A pivotal role of cytosolic phospholipase A2 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis.	Nature Med	8	480-484	2002
Klein, A., Pinho, V., Ishii, S, et al	Platelet-activating factor drives eotaxin production in an allergic pleurisy in mice.	Brit. J. Pharmacol.	135	1213-1218	2002
Honda, Z., Ishii, S., and Shimizu, T.	Platelet-activating factor receptor.	J. Biochem.	131	773-779	2002

Ishii, S., Nagase, T., and Shimizu,	Platelet-activating factor receptor	Prostaglandins Other Lipid Mediat	58-59	599-609	2002
浅野浩一郎	アラキドン酸代謝酵素遺伝子多型と喘息 治療薬の効果	炎症と免疫	10	157-163	2002
浅野浩一郎	抗ロイコトリエン薬の薬理遺伝学	喘息	15	53-56	2002
浅野浩一郎	臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (1)	アレルギーの臨 床	22	486-489	2002
浅野浩一郎	臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (2)	アレルギーの臨 床	22	562-565	2002
浅野浩一郎	臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (3)	アレルギーの臨 床	22	812-814	2002
浅野浩一郎	β_2 アドレナリン受容体刺激薬と遺伝子 多型	呼吸	21	647-652	2002
浅野浩一郎	喘息治療における薬理遺伝学 50 (9), 935-939, 2002	呼吸と循環	50	935-939	2002
浅野浩一郎	気管支喘息と脂質メディエーター遺伝子	アレルギー・免 疫	9	1207-1211	2002
浅野浩一郎	アレルギー疾患のPharmacogeneticsの 新展開	最新医学	58	245-250	2003
浅野浩一郎	遺伝子多型と抗喘息薬の有効性 7 (2), 106-113, 2003	分子呼吸器病	7	106-113	2003

20020816

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.27-P.28の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。