

に位置する。従って、HAエピトープタグが細胞膜表面に多く検出される細胞株は、受容体を高発現していると考えられる。この理論に基づき、各G418耐性細胞株について抗HA抗体で蛍光染色して蛍光強度の強い細胞株を選ぶことにより、各オーファン受容体の安定高発現株を複数個ずつ取得した。蛍光カルシウム指示薬Fluo3-AM（同仁社）を取り込ませたこれらの細胞株に約200種類の脂質（Biomol社のLipid Library）を作用させたときの細胞内カルシウム濃度変化を、Molecular Devices社のFLEXstationを用いて測定した。また、LPAに反応することの確認実験ではFura2-AM（同仁社）を取り込ませた細胞株にLPA（Cayman社とAvanti社）を作用させた際のカルシウム反応をCAF-100蛍光光度計（日本分光社）で測定した。フォルスコリンの存在下または非存在下、LPAで細胞を常温で30分間刺激した後の細胞内サイクリックAMP(cAMP)濃度はPerkinElmer社のAlphaScreen cAMP Functional Assay Kitを使って求め、PerkinElmer社のFusionで測定した。結合実験においては、内在性のLPA受容体を発現していないとされるRH7777細胞にそれぞれの受容体を、上述の発現ベクターによって一過性に発現させ（24時間）、さらに24時間無血清で培養した後に調製した細胞膜に対し、トリチウムラベルされた1-オレオイルLPA（PerkinElmer社）を4℃で60分間結合させた。ノーザン解析ではClontech社から購入したヒト腎臓と脳、さらに培養ヒト巨核球系細胞MEG-01から抽出したポリ(A)⁺ RNA 2.5 μgを変性条件下

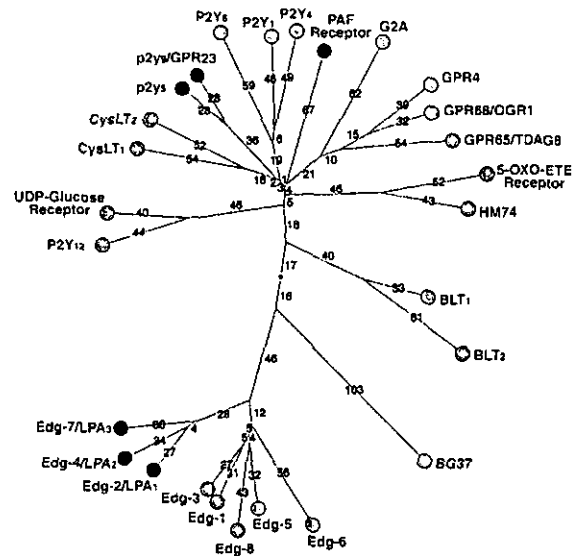


図1 種々のGタンパク質共役型受容体のアミノ酸配列の相同性をもとに構築した系統樹。任意の2つの受容体を結ぶ線の長さ（数字で示す）の総和が小さい程、お互いが近縁であることを示す。今回、血小板活性化因子受容体(PAFR)に相同性がある2つのオーファン受容体 p2y₉ と p2y₉ (別名 GPR23) に注目した。因みに p2y₉/GPR23 の配列は、従来から知られている LPA 受容体 Edg-2, 4, 7 のものとは大きく異なることがこの図からわかる。

で電気泳動し、ダウンワード法によりHybond-N+ ナイロンメンブレン（Amersham社）に転写した。このメンブレンについて定法に従い、Rapid-hyb Buffer（Amersham社）中でp2y₉/GPR23受容体のDNAプローブとともにハイブリダイゼーションを行った。それに続くオートラジオグラフィは増感紙の存在下、-80℃で4日間行った。p2y₉/GPR23受容体の定量的PCRは、Clontech社のHuman first strand cDNAs (Human MTC Panel I and II)に含まれていた16種類のヒト臓器由来のcDNAについてRoche社のLightCyclerを用いて行った。レポーター遺伝子アッセイでは、まず上記のp2y₉/GPR23の発現ベクターをzif-268プロモーターに結合したホタルルシフェラーゼDNAと

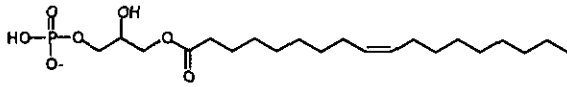


図 2 LPA (1-オレオイル-リゾホスファチジン酸) の化学構造

サイトメガロウイルスプロモーターに結合したウミシイタケルシフェラーゼ DNA とともに PC12 細胞にトランスフェクションした。一過性に受容体タンパク質が発現した 48 時間後に無血清培地に交換し、さらに 12 時間培養した。その後、各種 LPA で 6 時間細胞を刺激した。細胞溶解液をピッカジーンデュアル・シーパンジーキット (東洋インキ社) の試薬と混ぜ、ホタルルシフェラーゼとウミシイタケルシフェラーゼの活性を測定した。前者の活性を後者の活性で除し、ホタルルシフェラーゼ活性を規準化してデータとした。

(倫理面への配慮)

すべて試験管内における研究であり、またヒトのサンプルは研究者本人の物

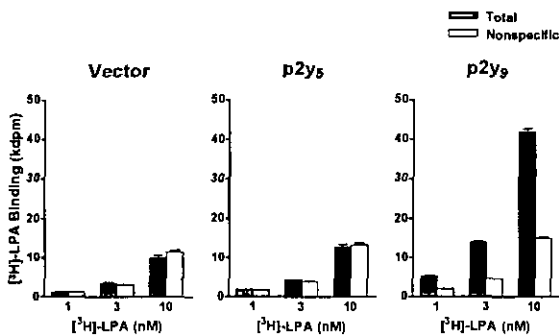


図 4 放射ラベルした LPA の細胞膜面分への結合。一過性に p2y₅ または p2y₉/GPR23 受容体を発現した RH7777 細胞から膜タンパク質を調製し、各濃度のトリチウムラベルした 1-オレオイル-LPA と反応させた。総結合量から非特異的結合量 (500 倍濃度のトリチウムラベルされていない LPA の存在下における結合量) を差し引いた値が特異的結合量に相当する。結果は平均値 ± 標準偏差 (n=3) で示す。

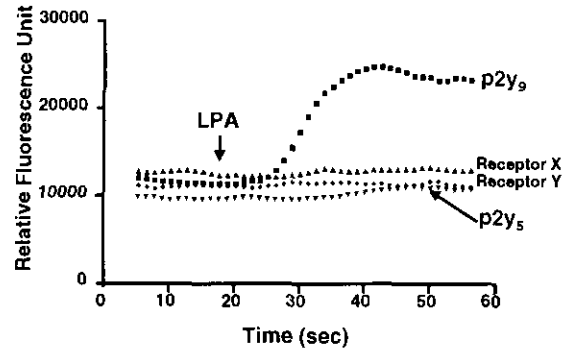


図 3 LPA による受容体発現細胞のカルシウム反応。p2y₉/GPR23 を発現する CHO 細胞でのみ、矢印で示す 10 μM 1-オレオイル-LPA の投与後に反応が観察された。この受容体とアミノ酸配列の相同性が高い p2y₅ や他の受容体 (X と Y と略す) を発現した細胞は LPA に反応しなかった。FLEXstation を使った観察。

若しくは試薬として購入したものなので、倫理的問題発生しないと判断し、特別な措置は講じていない。

C. 研究結果

リガンドが明らかになっていない G タンパク質共役型オーファン受容体の中から、グリセロリン脂質の一種である血小板活性化因子の受容体のアミノ酸配列と相同性の高い p2y₅ と p2y₉/GPR23 を選んだ。両受容体のアミノ酸配列の相同性は 56.3% と、G タンパク質共役型受容体間の値としてはリガンドが同じである可能性を示唆するほど高い。これらの受容体をコードする DNA をヒトゲノムからクローニングし、哺乳動物細胞 (CHO 細胞) に過剰発現させた。これらのオーファン受容体過剰発現細胞に約 200 種類の脂質を作用させて細胞のカルシウム反応を多サンプルを同時に測定できる蛍光光度計 (Flexstation) で調べ、受容体に特異的なリガンドの探索を試みた。その結果、p2y₉/GPR23 発現細胞が図 2

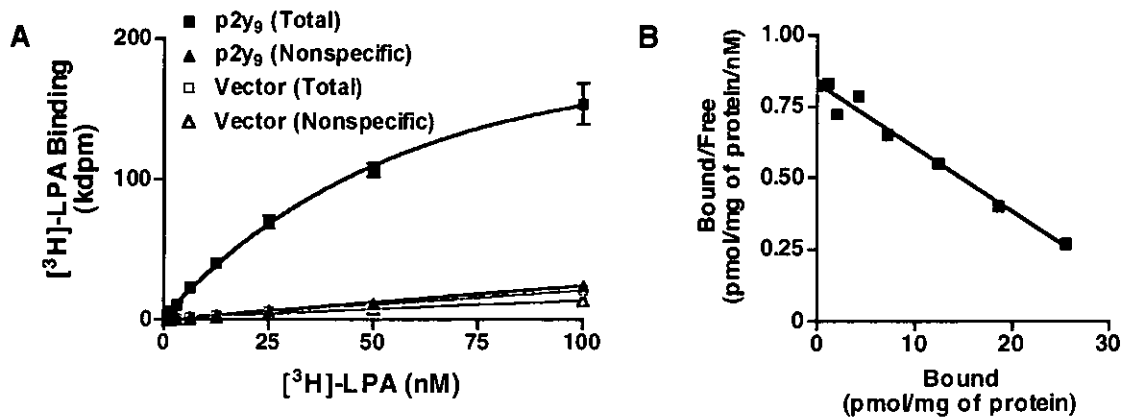


図5 ヒト p2y₉/GPR23 受容体の LPA に対する結合の濃度依存性とスキッチャード解析。(A) 図4の実験と同様に、p2y₉/GPR23 受容体を一過性発現する RH7777 細胞由来の膜画分と、種々の濃度のトリチウムラベルされた 1-オレオイル-LPA を反応させた。結果は平均値±標準偏差 (n=3) で示す。(B) A のデータをスキッチャード解析した結果、p2y₉/GPR23 受容体の 1-オレオイル-LPA に対する結合定数は 45 nM であることがわかった。

に示す 1-オレオイル-リゾフォスファチジン酸 (Lysophosphatidic Acid, LPA,

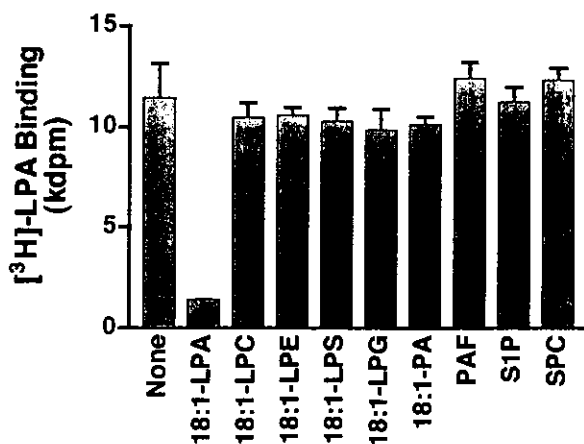


図6 LPA に構造が類似した脂質が LPA の p2y₉/GPR23 受容体への結合に及ぼす影響。図4の実験と同様に、p2y₉/GPR23 受容体を一過性発現する RH7777 細胞由来の膜画分と 5 nM のトリチウムラベルされた 1-オレオイル-LPA を反応させた。この際、1 μM のトリチウムラベルされていない種々の脂質 (LPC: リゾフォスファチジルコリン、LPE: リゾフォスファチジルエタノールアミン、LPS: リゾフォスファチジルセリン、LPG: リゾフォスファチジルグリセロール、PA: フォスファチジン酸、PAF: 血小板活性化因子、SIP: スフィンゴシン 1-リン酸、SPC: シフィンゴシルフォスフォルコリン) を共存させ、LPA の p2y₉/GPR23 受容体への結合に対する影響を観察した。結果は平均値±標準偏差 (n=3) で示す。

1-アシルグリセロール-3-リン酸) に反応することを発見した (図3)。さらに別の二種類のメーカーから購入した 1-オレオイル-LPA もともに、p2y₉/GPR23 受容体を発現した CHO 細胞でカルシウム反応を引き起こすことを別の蛍光光度計でも確かめた (データ略)。一方、p2y₅ またはその他の受容体には LPA への反応性は認められなかった。次に、p2y₅ と p2y₉/GPR23 受容体のそれぞれを一過性に発現させた RH7777 細胞の細胞膜に、トリチウムラベルした 1-オレオイル-LPA を作用させたところ、p2y₉/GPR23 受容体に特異的に結合することを確認した (図4)。この特異的結合は、スキッチャード解析により、解離定数 (K_d 値) は 45 nM を示した (図5)。ここでも p2y₅ には特異的結合反応は観察されなかった。1-オレオイル-LPA に構造の類似した脂質について、トリチウムラベルした 1-オレオイル-LPA に対する p2y₉/GPR23 への競合的結合を調べたが、この受容

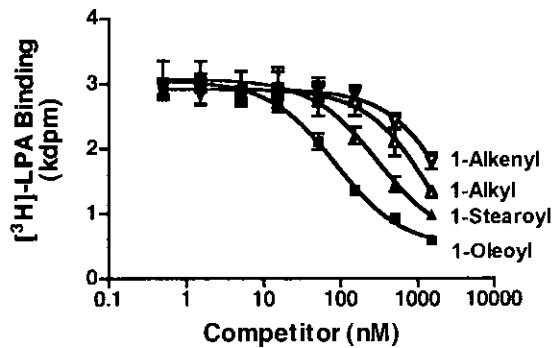


図 7 LPA の構造異性体が 1-オレオイル-LPA の p2y₉/GPR23 受容体への結合に及ぼす影響。図 4 の実験同様に、p2y₉/GPR23 受容体を一過性発現する RH7777 細胞由来の膜画分と 2.5 nM のトリチウムラベルされた 1-オレオイル-LPA を反応させた。この際、1 μ のトリチウムラベルされていない種々の 1-アシル-LPA 構造異性体を共存させ、LPA の p2y₉ 受容体への結合に対する影響を観察した。結果は平均値 ± 標準偏差 (n = 3) で示す。

体は 1-オレオイル-LPA 以外と結合しなかった (図 6)。また、p2y₉/GPR23 の LPA 構造異性体への親和性について調べるため、各種 LPA 構造異性体の存在下でトリチウムラベルした 1-オレオイル-LPA に対する競合的結合実験を行ったところ、sn-1 位がアルキル基やアルケニル基の LPA よりもアシル基の LPA と親和性が高く、その中でも 1-オレオイル-LPA を最も良いリガンドとすることが分かった (図 7)。さらに、レポーター遺伝子アッセイでも、p2y₉/GPR23 受容体は 1-アシル基、特に 1-オレオイル-LPA によって効率よく活性化されることが明らかとなった (図 8)。次に、p2y₉/GPR23 安定発現 CHO 細胞を使って、1-オレオイル-LPA により誘発される cAMP 産生量変化について調べた。ベクターをトランスフェクトしただけの CHO 細胞では、フォルスコリン処理により上昇した cAMP レベルが 1-オレオイル-LPA 濃度依存

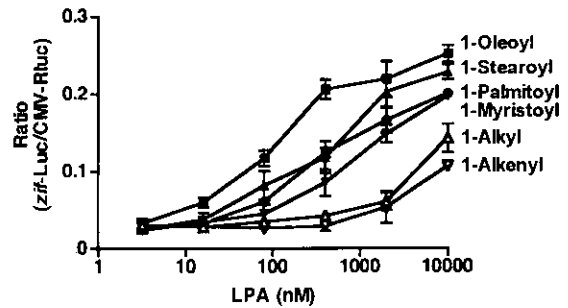


図 8 LPA の構造異性体が p2y₉/GPR23 受容体を刺激したときのレポーター遺伝子の発現誘導。p2y₉/GPR23 受容体を一過性に発現した PC12 細胞を、各種 LPA 構造異性体で刺激した。zif-268 プロモーターを介して発現誘導されたホタルルシフェラーゼの活性をサイトメガロウイルスプロモーターで構成的に発現させたウミシイタケルシフェラーゼ活性で規準化した。結果は平均値 ± 標準偏差 (n = 3) で示す。

的に下降したのに対し、p2y₉/GPR23 安定発現 CHO 細胞では cAMP レベルが 1-オレオイル-LPA 濃度依存的に上昇した。さらに、細胞を百日咳毒素 (PTX) で前処理すると、ベクターをトランスフェクトしただけの CHO 細胞ではフォルスコリン処理後の cAMP レベルの下降は見られなくなったのに対し、p2y₉/GPR23 安定発現 CHO 細胞の cAMP レベルはさらに上昇した (図 9)。これらの結果を合わせると、CHO 細胞の内在性 LPA 受容体は G_i と、p2y₉/GPR23 は G_s と共役していて、PTX 前処理で内在性 LPA 受容体由来の G_i 活性が阻害されることにより、p2y₉/GPR23 由来の G_s 活性がより顕著に現れたと考えられた。次に、ヒト腎臓、ヒト骨格筋、およびヒト巨核球系細胞から抽出した poly(A)⁺ RNA を用いたノーザンハイブリダイゼーションを行ったところ、長さ 4.4 kb の p2y₉/GPR23 mRNA が検出された (図 10)。また、16 種類のヒ

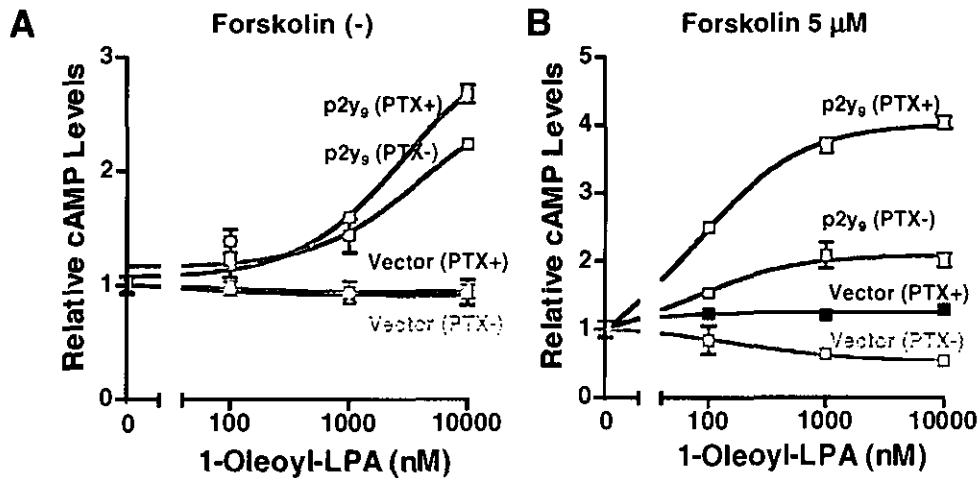


図9 LPAによるcAMP量の変化。p2y₉/GPR23受容体を安定発現したCHO細胞をフォorskolin非存在下(A)、または存在下(B)で1-オレオイル-LPAと反応させたときの、cAMP量の相対変化を示す。結果は平均値±標準偏差(n=4)で示す。

ト組織由来のcDNAを鋳型にして定量的PCRを行ったところ、p2y₉/GPR23のmRNAが卵巣で比較的高発現していることが分かった(図11)。

データベース検索の結果、マウスにもp2y₉/GPR23受容体が存在することが明らかとなった。ヒトの受容体とのアミノ酸配列の相同性は98.1%と極めて高い値を示した。ヒトの場合と同様の実験方法でマウスのp2y₉/GPR23受容体をクローニングし、RH7777細胞に一過性に発現させたところ、やはり1-オレオイル-LPAへ特異的に結合することを観察することができた(図12)。さらに、各種マウス臓器におけるp2y₉/GPR23受容体mRNAの発現分布を調べたところ、広範囲にわたって発現していることが明らかになったが、特に雌性生殖器において比較的高い発現が認められたのは興味深い(図13)。

D. 考察

LPAは細胞膜リン脂質から合成されるグリセロリン脂質の一つで、血清中

に豊富に存在する。LPAは細胞分裂促進や細胞形態変化作用をもち、神経発生、血管形成、創傷治癒、癌の進行などに関与すると考えられている。従来、LPA受容体としてはEdg2/LPA₁、Edg4/LPA₂、Edg7/LPA₃の3種類のGタンパク質共役型受容体が既に同定されていた。しかし、Edg2/LPA₁とEdg4/LPA₂のダブルノックアウトマウスでLPAに対する反応性が若干残っていることや、LPAによって凝集する血小板ではEdg受容体とは異なるタイプのLPA受容体の存在が薬理的に示唆されてきた。本研究で我々は、p2y₉/GPR23が第4のLPA受容体であることを同定した。

Edg4/LPA₂とEdg7/LPA₃は[γ-³⁵S]GTP結合実験において、1-オレオイル-LPAが1-ステアロイルや1-パルミトイル-LPAに比べ活性が高いことが以前報告されている。本研究の結果をこの報告と比べると、p2y₉/GPR23受容体もLPA構造異性体に対し類似した反応性を持つことがわかった。

p2y₉/GPR23受容体はLPAに反応して

cAMP産生量を上昇させた (図9)。さらに興味深いことに、CHO細胞をフォルスコリンで処理すると、LPAによるcAMP産生量がさらに上昇することが明らかになった。少なくとも10種類あるアデニル酸シクラーゼのうち、II、IV、VとVI型はG_sとフォルスコリンによって相乗的に活性化されることから、p2y₉/GPR23受容体を発現するCHO細胞ではこれらのアデニル酸シクラーゼのうちのどれかがLPAによって活性化されていると考えられる。実際、VI型とVII型のアデニル酸シクラーゼの発現がCHO細胞で報告されている。

p2y₉/GPR23受容体のmRNAはヒト卵巣で高い発現が認められた。卵巣ガン患者の腹水には多量のLPAが含まれており、このLPAがガン細胞の増殖や、アポトーシスの抑制、シスプラチンに対する耐性、血管内皮成長因子産生などに関与することが知られている。Edg4/LPA₂受容体は、ある種の卵巣ガ

ン細胞の初代培養や細胞株で高い発現レベルを示すが、この現象が上記のLPAの作用に関連する可能性がある。また、p2y₉/GPR23受容体が卵巣ガンの細胞で高い発現をしているかどうかについては興味深い点であり、今後解析を行う予定である。

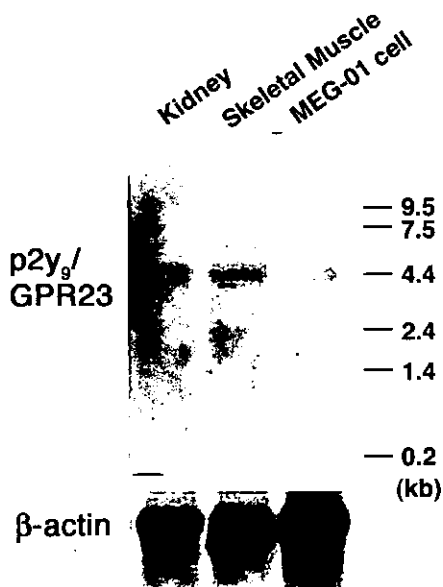
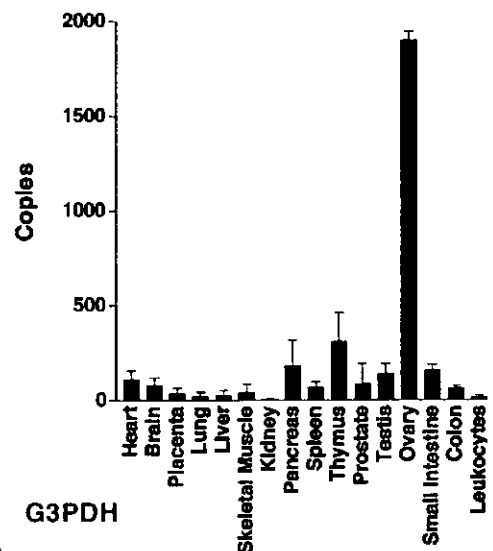


図10 ヒト p2y₉/GPR23 受容体 mRNA。ポリ(A)⁺ RNA 2.5 μg に対するノーザンハイブリダイゼーションの結果、約 4.4 kb の長さの mRNA が検出された。

p2y₉/GPR23

A



B

G3PDH

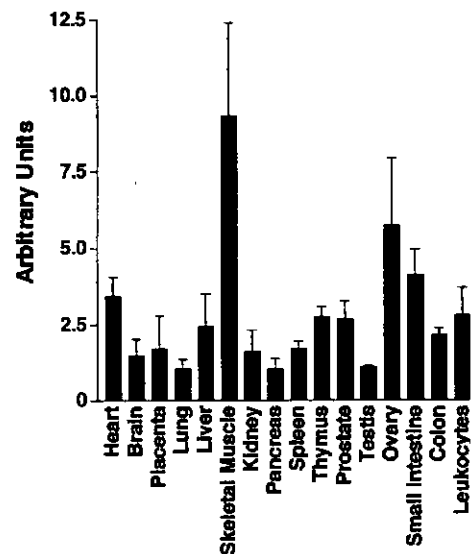


図11 ヒト各種臓器における定量的 RT-PCR の結果。(A) p2y₉/GPR23 受容体 mRNA の量をコピー数で示す。(B) 内部標準としての G3PDH mRNA の量を任意の単位で示す。結果は平均値±標準偏差 (n=3) で示す。

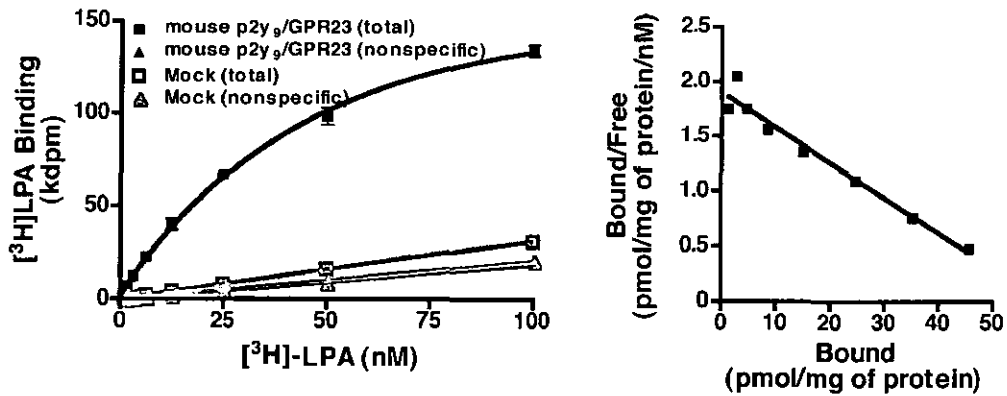


図 12 マウス p2y₉/GPR23 受容体の LPA に対する結合の濃度依存性とスキャッチャード解析。(A) 図 5 の実験と同様に、p2y₉/GPR23 受容体を一過性発現する RH7777 細胞由来の膜画分と、種々の濃度のトリチウムラベルされた 1-オレオイル-LPA を反応させた。結果は平均値±標準偏差 (n = 3) で示す。(B) A のデータをスキャッチャード解析した結果、p2y₉/GPR23 受容体の 1-オレオイル-LPA に対する結合定数は 31 nM であることがわかった。

卵巣の生理学的機能にも LPA が関わっている可能性もある。健常人の卵胞液にも比較的高濃度の LPA が含まれていること、またマウスの卵丘細胞では LPA によって cAMP レベルが上昇することが報告されているからである。後者の報告は、本研究において p2y₉/GPR23 受容体を発現した CHO 細胞で観察された現象と同じであり、p2y₉/GPR23 受容体の卵巣における機能を解明していく上で重要な情報になるかもしれない。

Edg2/LPA₁、Edg4/LPA₂、Edg7/LPA₃ のアミノ酸配列は互いに高い相同性

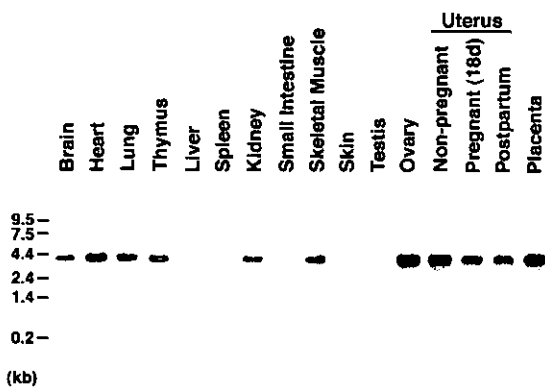


図 13 マウス p2y₉/GPR23 受容体 mRNA の発現分布。ポリ(A)⁺ RNA 3.0 μg に対するノーザンハイブリダイゼーションの結果、ヒトの場合と同様に約 4.4 kb の長さの mRNA が検出された。

(50-57%) を示す。しかし興味深いことに、今回私が同定した第4の LPA 受容体はこれら Edg 受容体とは相同性が低かった (20-24%)。種々の G タンパク質共役型受容体をまとめて描いた系統樹においても Edg ファミリーと p2y₉/GPR23 は遠くに位置し (図 1)、異なる先祖から進化した LPA 受容体であることが推察される。このことは、「一次構造の類似した受容体が化学構造の近い分子をリガンドとする」という仮定に基づいて行われてきた従来のオーファン受容体のリガンド探索方法の限界を示していると言えよう。ただし、アミノ酸配列が大きく異なる受容体が同じリガンドを認識することは特に珍しいことではない。グルタミン酸や γ-アミノ酪酸などの受容体には、構造が大きく異なるメタボトロピック型 (G タンパク質共役受容体) とイオノトロピック型 (イオンチャネル) の二種類が存在することがよく知られているからである。

昆虫細胞に発現させた Edg4/LPA₂ と Edg7/LPA₃ の LPA に対する解離定数がそれぞれ 74 nM と 206 nM であることが過

去に報告されているが、本研究で得られたp2y₉/GPR23の解離定数45 nMはこれらに近い値であった。多くの受容体の結合定数はpMオーダーであるが、LPA受容体の解離定数はどの受容体でも大きな値を示すようである。

E. 結論

本研究で私はp2y₉/GPR23受容体がLPAに結合するとカルシウム反応、cAMP産生、レポーター遺伝子活性化を細胞内で引き起こすことを示し、p2y₉/GPR23が新規LPA受容体であることを同定した。今後は、卵巣を含めた臓器・組織におけるp2y₉/GPR23受容体

の機能を明らかにすることを重点的に進めていきたい。卵巣や子宮における*in situ*ハイブリダイゼーションは発現細胞を明らかにすることができるので、機能を推定する上で重要な実験となるであろう。またノックアウトマウスを作製して解析すれば、生理学的・病態生理学的機能を直接証明できるかもしれない。

研究協力者

野口響子 東京大学大学院医学系研究科生化学教室 大学院生

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. 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.
2. 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.** 284, L720-L726.
3. Noguchi, K., Ishii, S., and Shimizu, T. (2003) Identification of p2y₉/GPR23 as a novel G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid, structurally distant from the Edg family. **J. Biol. Chem.** 278, 25600-25606.
4. Tokuoka, S. M., Ishii, S., Kawamura, N., Satoh, M., Shimada, A., Sasaki, S., Hirotsune, S., Wynshaw-Boris, A., and Shimizu, T. (2003) Involvement of platelet-activating factor and LIS1 in neuronal migration. **Eur. J. Neurosci.** 18, 563-570.
5. Talvani, A., Santana, G., Barcelos, L. S., Ishii, S., Shimizu, T., Romanha, Á. J., Silva, J. S., Soares, M. B. P., and

- Teixeira, M. M. (2003) Experimental *Trypanosoma cruzi* infection in platelet-activating factor-deficient mice. **Microb. Infect.** 5, 789-796.
6. Souza, D. G., Pinho, V., Soares, A. C., Shimizu, T., Ishii, S., and Teixeira, M. M. (2003) Role of PAF receptors during intestinal ischemia and reperfusion injury. A comparative study between PAF receptor-deficient mice and PAF receptor antagonist treatment. **Brit. J. Pharmacol.** 139, 733-740.
 7. Weijer, S., Leemans, J. C., Florquin, S., Shimizu, T., Ishii, S., and van der Poll, T. (2003) Host response of platelet-activating factor receptor-deficient mice during pulmonary tuberculosis. **Immunology**, 109, 552-556.
 8. Rijneveld, A.W., Weijer, S., Florquin, S., Speelman, P., Shimizu, T., Ishii, S., and van der Poll, T. (2004) Platelet activating factor receptor deficient mice have an improved host defense against pneumococcal pneumonia. **J. Infect. Dis.** 189, 711-716.
- 2) 学会発表
1. ○Satoshi Ishii, Kyoko Noguchi, and Takao Shimizu A novel receptor (LPA₄) for lysophosphatidic acid. (口演) FASEB Summer Research Conferences; Lysophospholipids and related lipids in biology and diseases 2003年7月(アメリカ・コロラド州スノーマス)
 2. 三田村涼美、○石井聡、河村則子、佐藤衛、島田厚良、佐々木慎二、広常真治、Wynshaw-Boris, Anthony、清水孝雄 Role of Platelet-Activating Factor Receptor and LIS1 in Neuronal Migration. (口演) 第76回日本生化学会大会 2003年10月(横浜)
 3. ○石井聡、関根寿樹、進藤英雄、畑中顯和、清水孝雄 緑茶の香りを感じるメカニズムの分子生物学的研究(口演) 第6回宇治茶健康フォーラム 2004年2月(京都)
 4. ○石井聡、野口響子、清水孝雄 ロイコトリエン受容体の病態機能(口演) 第77回日本薬理学会年会 2004年3月(大阪)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 1件
番号：特願 2003-007657
発明者：清水孝雄、石井聡、野口響子
発明の名称：新規リゾフォスファチジン酸受容体
出願人：科学技術振興事業団
出願日：平成 15 年 1 月 16 日
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

研究発表リスト

英文原著

1. Takai D, Nagase T, Shimizu T. New therapeutic key for cystic fibrosis: a role for lipoxins. **Nature Immunol** 2004; in press. (News and Views) (論文解説)
2. Nagase T, Uozumi N, Aoki-Nagase T, Terawaki K, Ishii S, Tomita T, Yamamoto H, Hashizume K, Ouchi Y, Shimizu T. A potent inhibitor of cytosolic phospholipase A₂, arachidonyl trifluoromethyl ketone, attenuates LPS-induced lung injury in mice. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol** 2003; 284: L720-L726.
3. Ohga E, Tomita T, Wada H, Yamamoto H, Nagase T, Ouchi Y. The effects of obstructive sleep apnea on circulating ICAM-1, IL-8 and MCP-1. **J Appl Physiol** 2003; 94: 179-184.
4. Aoki-Nagase T, Nagase T, Oh-hashii Y, Shindo T, Kurihara Y, Yamaguchi Y, Yamamoto H, Tomita T, Ohga E, Nagai R, Kurihara H, Ouchi Y. Attenuation of antigen-induced airway hyperresponsiveness in CGRP-deficient mice. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol** 2002; 283: L963-L970.
5. Yamaguchi Y, Nagase T, Makita R, Fukuhara S, Tomita T, Tominaga T, Kurihara H, Ouchi Y. Identification of multiple novel epididymis-specific beta-defensin isoforms in the humans and mice. **J Immunol** 2002; 169: 2516-2523.
6. Tomita T, Nagase T, Ohga E, Yamaguchi Y, Yoshizumi M, Ouchi Y. Molecular mechanisms underlying human beta-defensin-2 gene expression in a human airway cell line (LC2/ad). **Respirology** 2002; 7: 305-310.
7. Nagase T, Uozumi N, Ishii S, Kita Y, Yamamoto H, Ohga E, Ouchi Y, Shimizu T. A pivotal role of cytosolic phospholipase A₂ in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. **Nature Medicine** 2002; 8: 480-484. (新聞各紙誌上にて紹介される)
8. Nagase T, Ishii S, Shindou H, Ouchi Y, Shimizu T. Airway hyperresponsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated by an atropine sensitive pathway. **Am J Respir Crit Care Med** 2002; 165: 200-205.
9. Imai Y, Shindo T, Maemura K, Sata M, Saito Y, Kurihara Y, Akishita M, Osuga J, Ishibashi S, Tobe K, Morita H, Oh-hashii Y, Suzuki T, Maekawa H, Kangawa K, Minamino N, Yazaki Y, Nagai R, Kurihara H. Resistance to neointimal hyperplasia and fatty streak formation in mice with adrenomedullin overexpression. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 2002; 22: 1310-1315.

10. Kato N, Ikeda K, Nabika T, Morita H, Sugiyama T, Gotoda T, Kurihara H, Kobayashi S, Yazaki Y, Yamori Y. Evaluation of the atrial natriuretic peptide gene in stroke. **Atherosclerosis** 2002; 163: 279-286.
11. Nishimatsu H, Hirata Y, Shindo T, Kurihara H, Kakoki M, Nagata D, Hayakawa H, Satonaka H, Sata M, Tojo A, Suzuki E, Kangawa K, Matsuo H, Kitamura T, Nagai R. Role of endogenous adrenomedullin in the regulation of vascular tone and ischemic renal injury: studies on transgenic/knockout mice of adrenomedullin gene. **Circ Res** 2002; 90:657-663.
12. Shindo T, Kurihara H, Maemura K, Kurihara Y, Ueda O, Suzuki H, Kuwaki T, Ju KH, Wang Y, Ebihara A, Nishimatsu H, Moriyama N, Fukuda M, Akimoto Y, Hirano H, Morita H, Kumada M, Yazaki Y, Nagai R, Kimura K. Renal damage and salt-dependent hypertension in aged transgenic mice overexpressing endothelin-1. **J Mol Med** 2002; 80:105-116.
13. Soares AC, Pinho VS, Souza DG, Shimizu T, Ishii S, Nicoli JR, Teixeira MM. Role of the platelet-activating factor (PAF) receptor during pulmonary infection with gram negative bacteria. **Brit J Pharmacol** 2002;137: 621-628.
14. Ishii S, Nagase T, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor. **Prostaglandins Other Lipid Mediat** 2002; 68: 599-609.
15. Stromgaard K, Saito DR, Shindou H, Ishii S, Shimizu T, Nakanishi K. Ginkgolide derivatives for photolabeling studies: preparation and pharmacological evaluation. **J Med Chem** 2002; 45: 4038-4046.
16. Barbuti A, Ishii S, Shimizu T, Robinson RB, Feinmark SJ. Block of the background K⁺ channel, TASK-1, contributes to the arrhythmogenic effects of platelet-activating factor. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 2002; 282: H2024-H2030.
17. Ogasawara H, Ishii S, Yokomizo T, Kakinuma T, Komine M, Tamaki K, Shimizu T, Izumi T. Characterization of mouse cysteinyl leukotriene receptors, mCysLT1 and mCysLT2: Differential pharmacological properties and tissue distribution. **J Biol Chem** 2002; 277: 18763-18768.
18. Klein A, Pinho V, Alessandrini AL, Shimizu T, Ishii S, Teixeira MM. Platelet-activating factor drives eotaxin production in an allergic pleurisy in mice. **Brit J Pharmacol** 2002;135:1213-8.
19. Ohshima N, Ishii S, Izumi T, Shimizu T. Receptor-dependent metabolism of platelet-activating factor in murine macrophages. **J Biol Chem** 2002; 277: 9722-9727.
20. Honda Z, Ishii S, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor. **J Biochem** 2002; 131:

773-779.

21. Weijer S, Leemans JC, Florquin S, Shimizu T, Ishii S, Van der Poll T. Host response of platelet-activating factor receptor-deficient mice during pulmonary tuberculosis. **Immunology** 2003; 109: 552-556.
22. Souza DG, Pinho V, Soares AC, Shimizu T, Ishii S, Teixeira MM. Role of PAF receptors during intestinal ischemia and reperfusion injury. A comparative study between PAF receptor-deficient mice and PAF receptor antagonist treatment. **Brit J Pharmacol** 2003; 139: 733-740.
23. Talvani A, Santana G, Barcelos LS, Ishii S, Shimizu T, Romanha J, Silva JS, Soares MBP, Teixeira MM. Experimental Trypanosoma cruzi infection in platelet-activating factor-deficient mice. **Microb Infect** 2003; 5: 789-796.
24. Tokuoka SM, Ishii S, Kawamura N, Satoh M, Shimada A, Sasaki S, Hirotsune S, Wynshaw-Boris A, Shimizu T. Involvement of Platelet-Activating Factor and LIS1 in Neuronal Migration. **Eur J Neurosci** 2003; 18: 563-570.
25. Noguchi K, Ishii S, Shimizu T. Identification of p2y9/GPR23 as a Novel G Protein-Coupled Receptor for Lysophosphatidic Acid, Structurally Distant from the Edg Family. **J Biol Chem** 2003; 278: 25600-25606.
26. Rijneveld AW, Weijer S, Florquin S, Speelman P, Shimizu T, Ishii S, Van der Poll T. Improved host defense against pneumococcal pneumonia in platelet-activating factor receptor-deficient mice. **J Infect Dis** 2004; 189: 711-716.

和文総説

1. 山本寛, 長瀬隆英. 老年病に合併する感染症の病像と治療のキーポイント. 化学療法領域 18: 230-234, 2002.
2. 長瀬隆英. 脂質メディエーターと気道炎症. 分子呼吸器病 6: 37-39, 2002.
3. 長瀬隆英. 肺線維症における cPLA₂ の役割. 実験医学 20: 1901-1903, 2002.
4. 長瀬隆英. 脂質メディエーターと肺疾患. 呼吸 21: 875-879, 2002.
5. 長瀬隆英. CGRP ノックアウトマウスと気管支喘息. アレルギー科 16: 53-59, 2003.

20030193

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究発表リスト」をご参照ください。