

2) 急性骨髄性白血病 (AML) 患者には治療抵抗性の症例と、比較的予後良好の薬剤感受性群が存在する。DNA マイクロアレーは数千〜数万の遺伝子発現変化を簡便に解析可能にする最新の研究システムであり、上述の目的に適したスクリーニング法であると期待される。我々は AML などの特発性血液疾患の多くが造血幹細胞 (あるいはその近傍) の異常に起因することに着目し、これら疾患患者のフレッシュ検体より造血幹細胞相当分画のみを純化しこれを用いて DNA アレー解析を行った。得られた遺伝子発現プロファイルを基に薬剤感受性群と抵抗性群との間に発現量が異なる遺伝子セットを Student's t-test によって抽出し、それらの発現量を基に k-nearest neighbor 法による予測アルゴリズムを検証した。

(倫理面の配慮)

本研究計画はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に準拠した自治医科大学の倫理委員会の認可を受けており、患者さまには研究計画の説明とサンプルの提供を希望する説明書をお渡しし、同意書に署名をいただいている。

#### C&D 研究結果及び考察

1) 既に我々の mRNA 増幅法によって遺伝子発現データのプロファイルに変化があるか否かを検討したところ、トータル RNA 及びそれより一回増幅した cRNA (aRNA1)、2 回増幅した cRNA (aRNA2) について同じタイプのマイクロアレーに結合させ、遺伝子発現量の比較を行った。その結果 Pearson の相関係数はトータル RNA と aRNA1 間で 0.807 であり、aRNA1 と aRNA2 間では 0.931 であった。このように我々の RNA 増幅法は本来の RNA 分布を良く保った形で行われていることが明らかになった。

2) 骨髄異形成症候群 (MDS) 計 22 例および特発 AML 28 例の白血病芽球分画における網羅的遺伝子発現解析を Affymetrix 社 GeneChip HGU95A (>12,000 ヒト遺伝子) を用いて行い、各疾患内に予後にリンクした新たなサブグループ群が定義可能なこと、またこれらの鑑別診断に用いる新しい分子マーカーを 10 種類以上同定した (Tsutsumi et al, in submission, Oshima et al, Leukemia 17 1990, 2003)。

3) 純化白血病幹細胞分画をプロテオミクス解析することにより白血病の染色体不安定性に関わる遺伝子産物の同定にも成功した (Ota et al, Oncogene 22 5720, 2003)。

4) MDS の病期進展機構を明かにする目的で、病初期及び進行期の患者より得た CD133 陽性分画を用いて DNA マイクロアレー解析し、病期依存性に発現する遺伝子群を同定した。特に病期進行と共に発現が低下する遺伝子として PIASy が同定された。PIASy は small ubiquitin-like modifier (SUMO) を基質に結合させる酵素をコードしており、細胞内蛋白分解系に参与する。本遺伝子を血液細胞株へ導入すると、発現上昇に伴って細胞死が誘導されることが示された。すなわち PIASy は癌抑制遺伝子として機能し、不応性貧血の悪性化を防ぐ生理的「ブレーキ」として働くことが明らかになった (Ueda et al, Br J Haematol 123 288, 2003)。

5) PIASy の遺伝子破壊動物を作成し、その表現型を検討中である。PIASy 遺伝子をホモに欠損する個体は血中白血球数が上昇し、正常個体に比べて造血機能が活性化することがわかった。現在本動物に、癌遺伝子発現個体を交配させることで白血病誘導モデル実験を行っている。

#### E 結論

以上より我々は安定した RNA 増幅法を確立し、さらに既に得た患者白血病幹細胞における膨大な遺伝子発現データセットの抽出に成功した。これらデータより疾患の病期移行、あるいは薬剤感受性にリンクして発現が変化する遺伝子を同定することに成功し、またさらに患者予後に直結する白血病の新たなサブグループの定義にも成功している。

## F 健康危険情報

なし

## G 研究発表

### 1 主な論文発表

- 1) Choi YL, Makishima H, Ohashi J, Yamashita Y, Ohki R, Koinuma K, Ota J, Isobe Y, Ishida F, Oshimi K and Mano H DNA microarray analysis of natural killer cell-type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes with purified CD3-CD56+ fractions *Leukemia*, in press
- 2) He H, Hirokawa Y, Gazit A, Yamashita Y, Mano H, Kawakami Y, Kawakami, Hsieh CY, Kung HJ, Lessene G, Baell J, Levitzki A and Maruta H The Tyr-Kinase Inhibitor AG879, That Blocks the ETK-PAK1 Interaction, Suppresses the RAS-Induced PAK1 Activation and Malignant Transformation *Cancer Biol Ther*, in press
- 3) Koinuma K, Shitoh K, Miyakura Y, Furukawa T, Yamashita Y, Ota J, Ohki R, Choi YL, Wada T, Konishi F, Nagai H and Mano H Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas *Int J Cancer* 108 237-242, 2004
- 4) Yoshida K, Ueno S, Iwao T, Yamasaki S, Tsuchida A, Ohmine K, Ohki R, Choi YL,

Koinuma K, Wada T, Ota J, Yamashita Y, Chayama K, Sato K and Mano H Screening of genes specifically activated in the pancreatic juice ductal cells from the patients with pancreatic ductal carcinoma *Cancer Sci* 94 263-270, 2003

5) Ueno S, Ohki R, Hashimoto T, Takizawa T, Takeuchi K, Yamashita Y, Ota J, Choi YL, Wada T, Koinuma K, Yamamoto K, Ikeda U, Shimada K and Mano H DNA microarray analysis of in vivo progression mechanism of heart failure *Biochem Biophys Res Commun* 307 771-777, 2003

6) Ueda M, Ota J, Yamashita Y, Choi YL, Ohki R, Wada T, Koinuma K, Kano Y, Ozawa K and Mano H DNA microarray analysis of stage progression mechanism in myelodysplastic syndrome *Br J Haematol* 123 288-296, 2003

7) Suzuki N, Nakamura S, Mano H and Kozasa T Galpha 12 activates Rho GTPase through tyrosine-phosphorylated leukemia-associated RhoGEF *Proc Natl Acad Sci USA* 100 733-738, 2003

8) Ota J, Yamashita Y, Okawa K, Kisanuki H, Fujiwara S, Ishikawa M, Choi YL, Ueno S, Ohki R, Koinuma K, Wada T, Compton D, Kadoya T and Mano H Proteomic analysis of hematopoietic stem cell-like fractions in leukemic disorders *Oncogene* 22 5720-5728, 2003

9) Oshima Y, Ueda M, Yamashita Y, Choi YL, Ota J, Ueno S, Ohki R, Koinuma K, Wada T, Ozawa K, Fujimura A and Mano H DNA microarray analysis of hematopoietic stem cell-like fractions from individuals with the M2 subtype of acute myeloid leukemia *Leukemia* 17 1990-1997, 2003

10) Ohmine K, Nagai T, Tarumoto T, Miyoshi T,

Muroi K, Mano H, Komatsu N, Takaku F and Ozawa K Analysis of Gene Expression Profiles in an Imatinib-Resistant Cell Line, KCL22/SR Stem Cells 21 315-321, 2003

11) Ohki R, Yamamoto K, Ueno S, Mano H, Ikeda U and Shimada K Effects of Olmesartan, an Angiotensin II Receptor Blocker, on Mechanically-Modulated Genes in Cardiac Myocytes Cardiovasc Drugs Ther 17 231-236, 2003

12) Ogata Y, Takahashi M, Ueno S, Takeuchi K, Okada T, Mano H, Ookawara S, Ozawa K, Berk BC, Ikeda U, Shimada K and Kobayashi E Antiapoptotic Effect of Endothelin-1 in Rat Cardiomyocytes In Vitro Hypertension 41 1156-1163, 2003

13) Horwood NJ, Mahon T, McDaid JP, Campbell J, Mano H, Brennan FM, Webster D and Foxwell BM Bruton's tyrosine kinase is required for lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha production J Exp Med 197 1603-1611, 2003

#### H 知的所有権の出願・取得状況

1)国際公開番号 PCT/WO97/34007・発明者 間野博行・名称「PROMOTER」・出願人 間野博行、株式会社 DNAVEC 研究所・公開日 1997年9月18日

2)公開番号 特開2001-269174・発明者 間野博行・名称「骨髓異形成症候群(MDS)の検出方法及びMDSの治療剤」・出願人 間野博行・公開日 2001年10月2日

3)国際公開番号 PCT/WO 01/64946・発明者 間野博行・名称「METHOD OF DETECTING CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA」・出願人 間野博行、宝酒造株式会社・公開日 2001年9月7日

4)出願番号 特願2001-337752・発明者 間野博

行・名称「多発性骨髄腫の分子診断方法」・出願人 藤沢薬品工業株式会社・出願日 2001年11月2日

5)出願番号 特願 2001-56438・発明者 間野博行・名称「慢性骨髄性白血病の分子診断方法」・出願人 藤沢薬品工業株式会社・出願日 2001年3月1日

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

プライマリーヒト肝・腎細胞を用いた薬剤曝露、遺伝子発現に関する研究

マイクロアレー実施・データ解析・精度管理

分担研究者 大島康雄 自治医科大学臨床薬理学助手

## 研究要旨

Affymetrix 社の DNA チップである GeneChip®を用いたデータ解析は、多くの発現データを産生する一方で、そのデータの解釈には、従来の研究手法にはない手順が必要となる。本研究では 3 種類の方法でノーマライゼーションを行い、それぞれの特徴と前提となる仮定の検証を行った。また、これまで得られているデータにつき、様々な手法で解析を行った。

### A 研究目的

今後我々の研究で利用するデータ解析手法の特徴や、我々の研究における解析手法の特徴について、トキシコゲノミクスプロジェクトにおける応用の適否を検討した。クラスタリングにより得られた遺伝子発現情報の解釈はデータが膨大であるため困難である。このデータを用いてすでにある知識を基に解釈するパスウェイ解析、および、遺伝子発現の制御と関連していると思われる上流配列の解析などを行った。

### B 研究方法

ノーマライゼーションについては、現在大きく 3 つの方法に分けられる。すなわちグローバルノーマライゼーション・陽性コントロールを用いる方法・RNA 以外の細胞成分を基準とする方法である。グローバルノーマライゼーションの前提となっている細胞あたりの全 RNA 量を直接比較することは困難であるので、このパラメータと相関が深いと考えられる percent present を、プラットフォームごとに比較した。陽性コントロールを用いる方法は、

その陽性コントロール自体が一定の発現量を呈するか否かを検証することは困難であったため、多くの場合コントロールとして使用されるハウスキーピングジーンの細胞骨格の量に関連している細胞サイズを、FACS 等で検討した。最後に RNA 以外の細胞成分で、基準とされることの多い染色体 DNA 含量を薬物曝露の有無で検討した。

### (倫理面への配慮)

本研究に用いた細胞はすべて細胞株、または当大学の倫理評価 WG が承認した方法で得た臨床検体である。

### C 研究結果

薬物曝露研究ではそれぞれのノーマライゼーションの前提が成立しやすいのか、あるいは変動しやすいのか、さらに何か検証する方法がないか、をダイレクトに検証することは容易ではない。

内部グローバル化(グローバルノーマライゼーション)の前提の評価

内部グローバリゼーションでは、全 mRNA 量が一定であることを前提に計算をおこなう。これを間接的に確認する方法として Percent Present という値を採用した。これは Abs Call という値がそれぞれのトランスクリプトに与えられるが、全トランスクリプトあたりの Present と Call されたトランスクリプトの割合で定義される。多くの遺伝子発現が変化しなければ Percent Present は余り変化しない。一方、Percent Present のバリエーションが大きい時は、多くの遺伝子発現が変化していると考えられる。

図 1 で示した projectA は他のプロジェクトと比較して、この Percent Present 値のバリエーションが非常に大きく、多くの遺伝子発現が変化しているものと思われる。一方、projectD では 90%のデータが 5%以内の変動であり、projectA よりも遺伝子発現の全体的変化は少ない。この図からは、projectA は明らかに内部グローバリゼーションが不向きであると推測できる。一方、projectD は内部グローバリゼーションで良いのか、あるいはもっと少ない変動である必要があるのか、基準はこのパラメータを中心作って良いものか、さらに検討が必要である。また、明らかにグローバルノーマライゼーションが不適と考えられた projectA が他の project とどこが異なるためにこれほどまで percent Present が変動したのか、あるいはどういう場合には避けるべきか、に関して今後検討を行ってゆく予定である。

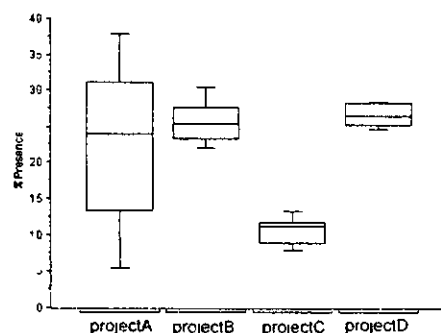


図1 図はボックスプロットで表示したプラットフォームごとの%Present. 中央のラインが中央値で、箱の上下バーの範囲に 60%のデータが、ひげの上下の範囲に 90%のデータが分布している。ProjectA のように%Present が大きく変動するような遺伝子発現研究では、多くの遺伝子の発現が変動していると考えられるため、グローバルノーマライゼーションは好ましくないと考えられる

#### 染色体 DNA 含量を基準としたノーマライゼーションの前提の評価

細胞一個あたりの DNA 含量は、細胞周期の研究と深く関わりがあり、その直接的な評価方法がすでに確立している。細胞あたりの DNA 含有量をプロピディウムアイオダイド染色を用いフローサイトメトリーによって検討した。定常状態の機能細胞は G0 期の 2N に相当する DNA 含量を有すると考えられる。シトシンアラビノシドやノコダゾールなどの薬物曝露によって細胞あたりの DNA コンテンツが大きく変動することが明らかとなった。このような薬物の場合には、ゲノム DNA の量を基準とする際には、薬物曝露により変動するか否かの検討が必要である。また、ヒト正常肝細胞・巨核球については薬物曝露なしでもポリプロイディが知られているため、染色体 DNA 含量を基準としたノーマライゼーションは好ましくない場合があると考えられる。

#### 陽性コントロール(ハウスキーピング遺伝子)の発現量を基準としたノーマライゼーションの前提の評価

ノザンプロットや RTPCR などの多くの研究手法を用いて遺伝子発現を2つ以上の実験条件で比較する場合、しばしば、アクチンや GAPDH などの細胞骨格と関わりの深い遺伝子発現量を基準とする。これらの遺伝子発現量が常に一定であると担保する研究結果はないが、多くの場合にはこれらが基準として広く用いられている。われわれは細胞骨格が細胞の大きさと深い関わり合いのあることに注目して、この細胞のサイズと薬物曝露の関連を評価した。図2に示すように細胞のサイズが薬物濃度と関連して大きくなるポピュレーションと小さくなるポピュレーションが存在する。このような場合に、細胞骨格を形成するハウスキーピングジーン遺伝子発現が変化している可能性がある。

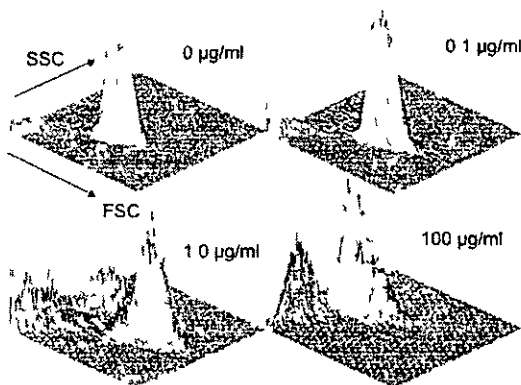


図2HL-60 細胞株に対し、Nedaplatin 曝露後 72 時間の FSC 及び SSC を示す

細胞のサイズと相関の高い FSC および細胞の光学的な複雑さと相関が高いとされている SSC の2つのパラメータを平面軸にした、ヒストグラムである 4 つのハネルは全て同じスケールで表示している

それぞれのノーマライゼーションを評価するための明確な基準はないが、それぞれの方法で中央値が一致するようにノーマライゼーションを行った場合の最頻値の変動を観察したところでは、グローバルノーマライゼーションで最もばらつきが大きくなることが観察された。

## クラスタリングと GeneOntology

これまで得られた約 70 の GeneChip データを用いて、QT クラスタリングを行った。Cross Gene Error Model を用いてノイズの低減をはかり、time=0 を 1 とした、Pergene Normalization を行った後にクラスタリングを行った。その結果、651 のクラスターが生成された。また、GeneSpring の GeneOntology 機能を用いて、それぞれの遺伝子の機能に基づいた遺伝子リストを 329 種類に分類した。QT クラスタリングにより得た 651 の genelist と、アノテーションに基づく 329 種類の genelist の相同性の検索をしたところ、2 つの有意に相同性の高いリストが見出された。

## パスウェイ解析

発現データに基づく解析やオントロジーとの関連での解析だけでは意味づけが難しい側面があり、これらとは別に京都大学と九州大学の Pathway 情報を利用した解析を行った。今回我々が曝露実験に用いた *Pseudomonas Exotoxin A* はタンパク質合成を抑制する活性が知られており、タンパク質合成が抑制された状態ではアミノ酸代謝が影響を受ける可能性があるとの仮説のもとに解析したところ、アラニン・アスパルテート・プロリン・アルギニンの代謝経路に関わる遺伝子の発現が時間ごとに変化する様子を確認することができた。

## クラスターと関連した転写因子認識配列の解析

ヒトゲノムプロジェクトにより得られたヒトゲノムのドラフトシーケンスを基に、GeneChip にプロットされているトランスクリプトに対応す

る遺伝子の、ゲノム上の上流配列を得ることができた。トランスクリプションファクターの一つである RUNX1 の認識する配列を、遺伝子のトランスクリプトの上流について解析した。これまでの *in vitro* やモデル動物の研究により、RUNX1 を含む融合遺伝子が発現をドミナントネガティブな方法で抑制しているのではないかとされていたいくつかの遺伝子が、我々の検討では多くの場合発現誘導を受けていたことが明らかとなった。

#### D 考察

ノーマライゼーションの方法については、単一で最適な方法があるとは言えず、それぞれの特徴を考慮した上で、目的に応じた方法を選択する必要がある。今回の検討によって、これまで主に利用されている3つの方法について、その前提となる仮定が崩れる場合があることが明らかになった。グローバルノーマライゼーションでは、細胞あたりの全メッセンジャーRNA量はほぼ一定で、刺激に対応して変化する遺伝子はごく一部であろうという前提でノーマライゼーションを行う。原因は不明ではあるが、明らかにグローバルノーマライゼーションは不適と判断できる場合があることが percent present を評価することにより明らかになった。また、我々の試した範囲では、最も結果のばらつきが顕著であった。また、RNA以外の細胞成分が一定であることを前提としたノーマライゼーションについても、DNAの量を変化させる薬物が存在することが明らかとなり、この方法も必ずしも絶対的に信頼できる指標とは言えないことが明らかとなった。さらに、陽性コントロール遺伝子を利用した方法でも、多くの場合に利用されているハウスキーピング遺伝子と関連の深い細胞骨格量を指標とした FSC 値も、ある種の薬物により影響を受けることが明ら

かとなった。今後これらの周辺のパラメータを確認しながら、どの方法でノーマライゼーションを行うべきかを検討することが望まれる。

#### パスウェイ解析・クラスタリング・GeneOntology

生物学の分野で蓄積された知識を基に、代謝経路(京都大学, KEGG)やシグナルトランスダクション経路(九州大学, SPAD)が図示されており、特定の物質の代謝経路における遺伝子発現を一望することにより、遺伝子発現情報から知識を得ることができる。この様にパスウェイ解析は有用である一方、機能の明らかになった酵素やシグナルトランスダクション関連分子など、ごく一部の分子についてのみ、パスウェイ解析は有用であるため、GeneChipを用いた網羅的遺伝子発現解析を行ったデータの多くについては、情報を利用できないデメリットがある。また、これらの代謝経路などは、ヒト以外の細胞を用いて構築された情報とヒトから得た情報を混在させており、種特異的な情報を得ることができない場合も考えられる。

経時的な情報を考慮したクラスタリングは、特定の刺激後に同様の発現量か変化をする遺伝子群を抽出することができる。発現量の変化は様々な要因により制御されているが、多くは転写の促進と mRNA の分解によっていと考えられる。転写の促進には、転写制御領域であるゲノム上で、gene のさらに 5'上流側の共通した転写促進情報が、また特定の状況下における mRNA の分解の情報は 3'-UTR、あるいはさらに gene より 3'側までに存在するポリアデニレーションシグナル、ポリアデニレーションサイト、その他の 3'側修飾制御配列等に類似の配列が、特定のクラスターに分類された遺伝子に高頻度に存在してい

る可能性を想定している。一方、これらの解析の基としたヒトゲノムプロジェクトにより得られたドラフトシーケンス中のゲノム情報は未だ整備中であり、未完成な部分が一部に見られる。特に 5'-上流配列に関してはゲノムプロジェクトの取ったストラテジー上、gene の転写の開始位置は不安定と考えられる。計算機を使用した転写開始位置の予測は現在のところ完全とは言い難い。5'キャップ構造などに配慮した、日本における完全長 cDNA プロジェクトの推進がこの情報の補完に信頼できる手法として期待される。

GeneOntology による遺伝子の分類は、遺伝子発現情報と機能を関連させて理解する上で有用である。しかし、パスウェイ解析と同様、信頼できる情報は限られており、配列の類似性等を基にアノテーションを付けられたものも少なくない。したがって、知識として情報を利用する前に、情報そのものの信頼性レベルを分類する作業が必要と考えられる。

## E 結論

日本人のプライマリー細胞を用いて薬物曝露・遺伝子発現解析をおこない、データの信頼性は得られたと考えられる。網羅的な遺伝子発現解析を、単なるスクリーニング的な応用ではなく、網羅的な情報として取り扱うために重要な、様々な基礎データは未だ確立されていない。これら未完成ではあるが、ヒトゲノムプロジェクトにより得られたゲノムデータとの照合、実験により確認されたとは言い難い情報も含まれるアノテーション情報、および、代謝などのパスウェイ解析などを試みている。

## F 健康危険情報

なし

## G 研究発表

### 1 論文発表

Oshima, Y, and Fujimura, A (2003) Function of a conserved residue in the amino terminal alpha-helix of four helical bundle cytokines Cytokine 24, 36-45

Oshima, Y, and Fujimura, A (2003) Analysis of 3'/5' Ratio of Actin and Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH) Universal Academy Press, Inc, Tokyo, Japan

Oshima, Y, Kurokawa, S, Tokue, A, Mano, H, Saito, K, Suzuki, M, Imai, M, and Fujimura, A (2003) Primary cell preparation and genome-wide gene expression analysis of human renal tubular cells, Tokyo, Japan

Oshima, Y, Ueda, M, Yamashita, Y, Choi, Y L, Ota, J, Ueno, S, Ohki, R, Koizumi, K, Wada, T, Ozawa, K, Fujimura, A, and Mano, H (2003) DNA microarray analysis of hematopoietic stem cell-like fractions from individuals with the M2 subtype of acute myeloid leukemia Leukemia 17, 1990-7

### 2 学会発表

Yasuo Oshima, Shinsuke Kurokawa, Akihiko Tokue, Hiroyuki Mano, Ken Saito, Makoto Suzuki, Masashi Imai, Akio Fujimura, Primary cell preparation and genome-wide gene expression analysis

## 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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Choi YL Makishima H Ohashi J Yamashita Y Ohki R Koinuma K Ota J Isobe Y Ishida F Oshimi K and <u>Mano H</u>	DNA microarray analysis of natural killer cell-type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes with purified CD3 CD56 <sup>+</sup> fractions	Leukemia	in press		
He H Hirokawa Y Gazit A Yamashita Y <u>Mano H</u> Kawakami Y Kawakami Hsieh CY Kung HJ Lessene G Baell J Levitzki A and Maruta H	The Tyr-Kinase Inhibitor AG879, That Blocks the ETK-PAK1 Interaction Suppresses the RAS-Induced PAK1 Activation and Malignant Transformation	Cancer Biol Ther	in press		
Koinuma K Shitoh K, Miyakura Y Furukawa T Yamashita Y Ota J Ohki R Choi YL Wada T Konishi F Nagai H and <u>Mano H</u>	Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas	Int J Cancer	108	237-242	2004
Yoshida K Ueno S Iwao T Yamasaki S Tsuchida A, Ohmine K Ohki R Choi YL Koinuma K Wada T Ota J Yamashita Y Chayama K Sato K and <u>Mano H</u>	Screening of genes specifically activated in the pancreatic juice ductal cells from the patients with pancreatic ductal carcinoma	Cancer Sci	94	263-270	2003
Ueno S Ohki R Hashimoto T, Takizawa T Takeuchi K Yamashita Y Ota J Choi YL Wada T Koinuma K Yamamoto K Ikeda U Shimada K and <u>Mano H</u>	DNA microarray analysis of in vivo progression mechanism of heart failure	Biochem Biophys Res Commun	307	771-777	2003
Ueda M Ota J Yamashita Y Choi YL Ohki R Wada T Koinuma K Kano Y Ozawa K and <u>Mano H</u>	DNA microarray analysis of stage progression mechanism in myelodysplastic syndrome	Br J Haematol	123	288-296	2003
Suzuki N Nakamura S <u>Mano H</u> and Kozasa T	Galpha 12 activates Rho GTPase through tyrosine-phosphorylated leukemia-associated RhoGEF	Proc Natl Acad Sci USA	100	733-738	2003
Ota J Yamashita Y Okawa K Kisanuki H Fujiwara S Ishikawa M Choi YL Ueno S Ohki R Koinuma K Wada T Compton D Kadoya T and <u>Mano H</u>	Proteomic analysis of hematopoietic stem cell-like fractions in leukemic disorders	Oncogene	22	5720-5728	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Oshima Y Ueda M Yamashita Y Choi YL Ota J Ueno S Ohki R Koinuma K Wada T Ozawa K Fujimura A and Mano H	DNA microarray analysis of hematopoietic stem cell-like fractions from individuals with the M2 subtype of acute myeloid leukemia	Leukemia	17	1990-1997	2003
Ohmine K Nagai T Tarumoto T Miyoshi T Muroi K Mano H Komatsu N Takaku F and Ozawa K	Analysis of Gene Expression Profiles in an Imatinib-Resistant Cell Line KCL22/SR	Stem Cells	21	315-321	2003
Ohki R Yamamoto K Ueno S Mano H Ikeda U and Shimada K	Effects of Olmesartan an Angiotensin II Receptor Blocker on Mechanically-Modulated Genes in Cardiac Myocytes	Cardiovasc Drugs Ther	17	231-236	2003
Ogata Y Takahashi M, Ueno S Takeuchi K, Okada T, Mano H Ookawara S Ozawa K, Berk BC, Ikeda U Shimada K and Kobayashi E	Antiapoptotic Effect of Endothelin-1 in Rat Cardiomyocytes In Vitro	Hypertension	41	1156-1163	2003
Horwood NJ Mahon T McDaid JP Campbell J Mano H Brennan FM Webster D and Foxwell BM	Bruton's tyrosine kinase is required for lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha production.	J Exp Med	197	1603-1611	2003
Oshima Y AND Fujimura A	Function of a conserved residue in the amino terminal alpha-helix of four helical bundle cytokines	Cytokine	24	36-45	2003
Oshima Y AND Fujimura A	Analysis of 3/5 Ratio of Actin and Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)	Genome Informatics 2003	14	472-473	2003
Oshima Y Kurokawa S Tokue A Mano H Saito K Suzuki M Imai M AND Fujimura A	Primary cell preparation and genome-wide gene expression analysis of human renal tubular cells.	Toxicogenomics International Forum 2003	2003	82-83	2003
Oshima Y Kurokawa S Tokue A Mano H, Saito K Suzuki M Imai M AND Fujimura A	Primary cell preparation of human renal tubular cells for transcriptome analysis	Toxicology Mechanisms and Methods	in press		
Tatsuo M Atsushi M Akihiko T	Quantitative Analysis of Thymidine Phosphorylase and Dihydropyrimidine Dehydrogenase in Renal Cell Carcinoma	Oncology	65	125-131	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tatsuo M Atsushi M Shinsuke k Akihiko T	Forced Expression of Cytidine Deaminase Confers Sensitivity to Capecitabine	Oncology	65	267-274	2003

健康危険情報

なし

20030640

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。