

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(化学物質リスク研究事業)
分担研究報告書
プライマリーヒト細胞を用いた化学物質曝露・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。また、そのデータが膨大であるため、個別のデータを様々な角度から検証・確認を行った後に意味づけを行い、データを解釈することは困難である。そのため、得られたデータはデータベースとして公開することを当面の目的と考えている。従って、データの信頼性を担保することが重要である。本研究では、解析対象としたデータの信頼性をこれまで我々の研究室で行ってきた様々な方法で検証した。

また、ノーマライゼーションは発現解析のはじめの段階に行われる重要なプロセスである。ノーマライゼーションには様々な方法が提案されているが、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 研究背景

今後我々の研究で利用するノーマライゼーションなど解析手法の特徴について、化学物質リスク研究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古典的な手法では困難である。これを用いて既知の情報を基に解釈するバスウェイ解析、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は、主に 3 つの方

法がある。すなわちグローバル法・陽性コントロール法・RNA 以外の細胞成分を基準としたスパイキングである。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ために、このパラメータと相関が深いと考えられる percent present を用い、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であるか否かを直接検証することは困難である。古典的な研究においてしばしばコントロールとして使用されるハウスキーピング遺伝子は細胞骨格の量に関連しているた

め、本研究では細胞サイズを FACS 等を用いて検討した。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 含量が化学物質曝露によって変化するか否かを検討した。

(倫理面への配慮)

本研究に用いた細胞はすべて、樹立された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のいずれかである。

C 研究結果

化学物質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、ダイレクトに検証することは容易ではない。

グローバルノーマライゼーションの前提の評価

内部グローバルノーマライゼーションでは、全 mRNA 量が化学物質曝露によりほとんど変化しないことを前提に解析を行う。これを間接的に確認する方法として、本研究では Percent Present という値を採用した。Affymetrix 社の GeneChip で解析した発現データには Abs Call という値がそれぞれのトランスクリプトに対応して与えられる。Percent Present 値は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に比較して、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考えられた。一方、projectD では 90%のデータが 5%以内の変動であり、projectA よりは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ルノーマライゼーションに不向きであると推測できる。しかし、残念ながら projectD は内部グローバルノーマライゼーションに適しているか、あるいはさらに少ない変動の場合に内部グローバルノーマライゼーションを適用するべきかについてさらに検討する必要がある。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 とどこか異なるためにこれほどまで percent Present が変動したのか、あるいはどういった場合には避けるべきか、につき今後検討を行ってゆく予定である。

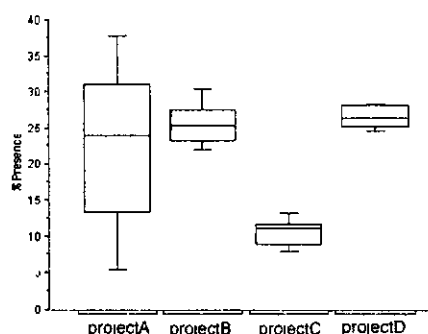


図1 プラットフォームごとの%Present

ボックスプロットで表示されている。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。比較のため、本研究のみならず過去のプロジェクトを含めて解析を行った。

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

染色体 DNA 含量を基準としたノーマライゼーションは、単純な仮説に基づく。すなわち、細胞あたりの染色体 DNA は一定・不変であるという前提である。細胞一個あたりの DNA 含量の定量は、細胞周期の研究と深く関わりがあり、ほぼ直接的な評価方法が確立している。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た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 を有すると考えられるが、シトシンアラビノシドやノコダソールなどの化学物質曝露によって、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。このような化学物質の場合にはゲノム DNA の量の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の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。今回評価の対象としなかったが、このノーマライゼーションには、基準とした DNA の純化・得られている RNA 量の純化の効率が一定あるいは一定割合である、すなわち実験上の精度が一定であるという、もう一点の前提がある。

ハウスキーピング遺伝子など陽性コントロール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 などの古典的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とがある。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ものの、多くの場合これらが基準として広く用いられている。本研究で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、細胞のサイズと化学物質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化学物質濃度と関連して大きくなる細胞集団と小さくなる細胞集団が存在する。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遺伝子の遺伝子発現が変化している可能性がある。

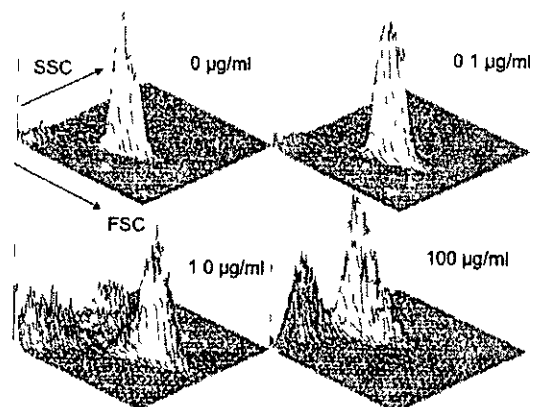


図2HL-60 細胞に対し、Nedaplatin 曝露後 72 時間のホワード及びサイドスキャン
細胞のサイズと相関の高いホワードスキャンおよび細胞の光学的な複雑さと相関が高いとされているサイドスキャンの2つのパラメータを平面軸にした、3Dヒストグラムである。4つのパネルは全て同じスケールで表示している

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が最もばらつきが

大きくなることが観察された。

クラスタリング

これまで得られた 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 Normalizatio を行った上でクラスタリングを行った。関連性 R 値 0.9 で最小クラスターサイズを 20 とすると、Pseudomonas Exotoxin A の曝露実験では約 100 の、4-Phenylbtyrate の曝露実験でも約 100 のクラスターが生成された。現在これらのクラスタリングにより得られた遺伝子群の、ゲノム上の上流にトランスクリプションファクター認識配列が存在しないか否か検証を行っている。

パスウェイ解析

クラスタリングと並行して Pathway 解析を行った。今回は GenMapp ORG および京都大学の Pathway 情報を利用して解析した。今回我々が曝露実験に用いた Pseudomonas Exotoxin A には Elongation Factor2 を抑制する活性が知られているため、アミノ酸消費の主たる経路が抑制された状態ではプロリンやアルギニンの合成が影響を受ける可能性があるとの仮説を基に解析したところ、プロリン・アルギニンの合成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に成功した。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、それぞれの遺伝子のトランスクリプトの上流について解析した。RUNX1 を含む融合遺伝子は in vitro やモデル動物を用いた過去の研究により、下流の遺伝子発現をドミナントネガティブな方法で抑制しているとされていたが、我々の検討では多くの場合発現を誘導していることが明らかとなった。

D 考察

重要な解析手順であるにもかかわらず、ノーマライゼーションの方法については、単一の最適な方法があるとは言えない。したがって、それぞれの特徴を考慮した上で、目的に即した方法を選択する必要がある。本研究によって、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の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、化学物質曝露刺激に対応して変化する遺伝子はごく一部であるという前提でノーマライゼーションを行う手法である。percent present を評価することにより、グローバルノーマライゼーションを明らかに適用すべきでないかと判断できる場合があった。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 の量を変化させる化学物質が存在することが明らかとなり、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 値が、化学物質曝露により変動す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

生物学的に蓄積された知識を基に、代謝経路(京都大学, KEGG)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。このようにパスウェイ解析は有用であるが、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、情報を理解することができるため、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の変化を来

す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 の分解によっていると考えられる。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 や、あるいは 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。

E 結論

日本人のプライマリー細胞を用いて化学物質曝露・遺伝子発現解析をおこない、データの信頼性を確保するための手順を確立した。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上で重要な、様々な基礎データは未だ構築されていない。現在我々は、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, Aito, 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, Koimura, 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 of human renal tubular cells, Toxicogenomics International Forum 2003 (Shibuya, Tokyo)

Yasuo Oshima, Akio Fujimura, Analysis of 3'/5' Ratio of Actin and Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH), Genome Informatics Workshop 2003 (Yokohama, Kanagawa)

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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(化学物質リスク研究事業)

分担研究報告書

バイオインフォマティクス

分担研究者 篠原 歩 九州大学大学院システム情報科学研究院助教授

研究要旨

本プロジェクトを遂行するためには、実験によって得られたデータを維持・管理し、新たな仮説を導き出すために、情報処理の最先端技術を取り入れながら強固かつ柔軟なデータベースシステムを構築することが必須である。本年度は、ヒトのすべての遺伝子にを対象として、白血病の発症に関連の深いとされている AML1 binding motif である TGYGGT 配列について、アフィメトリクス社のプローブセットの CDS 領域の上流配列中での出現位置に関するデータを整理し、データベースとしてまとめあげた

A 研究目的

白血病の発症に関連の深いとされている AML1 について、ヒトのすべての遺伝子を対象として、CDS 領域の上流部分に AML1 binding motif が出現する位置をまとめたデータベースを構築する

遺伝子発現データに基づく配列モチーフの抽出

ゲノム配列データは静的であるが、遺伝子発現データは動的なものであり、これを化学物質への反応という観点から融合させ、その会わせたところに新たな仮説が導かれると期待される

B 研究方法

今回の作業では、次のデータセットを用いた

NCBI から取得したデータセット

•seq_gene md

各遺伝子とその遺伝子の存在する染色体、遺伝子の開始位置等の情報をマッピングするためのデータ

• chr1 fa chr22 fa, chrX fa, chrY fa, chrUn fa

各染色体の塩基配列を記したデータ chr のあとにつく番号がそれぞれの染色体番号を示している

GCG Wisconsin Package に含まれるデータセット

•tfsites dat

Biobase 社・NCBI がリリース維持・管理している転写因子データベースのパブリック版

まず初めにアフィメトリクス社の Gene Chip のプローブセット ID に対応するそれぞれの遺伝子を seq_gene md から検索し、CDS

領域の上流配列 1000 塩基を抜き出した
また CDS の開始位置と gene の開始位置
の差を抜き出した CDS の開始位置を 0 と
みて gene の相対的な開始位置を見てい
る 例えば CDS の開始位置が 2000 で
gene の開始位置が 1200 ならば差は-800
とする

(1)この段階でプローブセット ID に対応す
る遺伝子が存在しないもの、

(2)seq_gene md においてプローブセット ID
に対応する遺伝子が見つからないものを
例外処理として別個まとめている 今回
プローブセット ID に対応した遺伝子に対
して seq_gene md から最大二つの情報が
見つかる場合があった これは一つの遺
伝子に対して二つの上流配列、また二つ
の CDS の開始位置と gene の開始位置と
の差が見つかるということであるが、こ
のような場合には、見つかった二つの上
流配列が一致し、二つの gene の開始位置
と CDS の開始位置との差についての差を
取り、その絶対値が 10 以下であれば CDS
の開始位置と gene の開始位置との差のう
ち絶対値が小さい方を採用した

(3)ここで seq_gene md から二つの情報が
見つかり、かつ上の条件を満たさなかつ
たプローブセット ID については例外処理
として別個まとめている

(4)各プローブセットに対する遺伝子の
CDS 領域が seq_gene md に見つからなかつ
たものは上流配列と差分を 0 した。この
場合もプローブセットを例外処理として別
個まとめている。但しプローブセット
201384_s_at(M17S2) に対する
seq_gene md の情報では contig
NT_078102.1, gene 1~20185, CDS 1~78

となっており、contig 上に上流配列がなかつ
たため、上流配列を得ることができな
かつた

得られた配列群において、tfsites dat に記
載されているモチーフ群および AML1
binding motif が検出されるか否かを調べ
た。検出された場合にはそれぞれの出現
位置をデータベースとしてまとめた

C 研究結果

当初の目標通り、アフィメトリクス社のプロ
ーブセットの上流配列のテーブルセットを
作成し AML1 binding motif の出現位置に
関するデータベースを構築した
HG-U133A のプローブセット ID に対して
その CDS 領域の上流配列に AML1
binding motif が出現したものは 6296 個あ
り、上流配列 1000 塩基に最大で 42 箇所
AML1 binding motif が出現し、HG-U133B
に対しては 3823 個あり、上流配列 1000 塩
基に最大でこちらも 42 箇所 AML1
binding motif が出現していた B 研究方
法 (1) の例外処理にあたる部分は
HG-U133A に対しては 1613 個のプローブ
セット、HG-U133B に対しては 8307 個のプ
ローブセットが検出された (2) の例外処理
にあたる部分は HG-U133A に対しては
762 個のプローブセット、HG-U133B に対し
ては 2302 個のプローブセットが検出され
た (3) の例外処理にあたる部分は
HG-U133A に対しては 362 個のプローブ
セット、HG-U133B に対しては 196 個のプ
ローブセットが検出された (4) HG-U133A
に対しては 68 個のプローブセット、
HG-U133B に対しては 74 個のプローブセ
ットが検出された さらに以上のデータを

用いることにより, AML1 遺伝子の遺伝子融合による異常があると考えられる t(8,21)トランスロケーションのある急性骨髄生白血病 AML-M2 のケースと, t(8,21)トランスロケーションのない AML-M2 のケースについて遺伝子発現解析結果と照合することができた

D 考察

ヒトゲノム計画により公開されたヒト染色体配列データは、ドラフトシーケンスの公開から 4 年目となった現在でも、コンティグ内の再配置などを含む確認作業が進められている、いわば発展途上にあるデータであり、利用した基礎データが必ずしも一様な形式をみだしていなかった。このため、データの変換プログラム作成の際に、例外的な処理を多用せざるを得ず、そのために当初の見積もりよりもシステムの開発に多くの時間を要した。しかしながら、これらの作業はすべてプログラムの中に明示的に記述しているため、今後データベースのバージョンアップなどの際にも、更新作業はそれほど困難なく行えるようになるはずである。このデータベースに対するインターフェース部の開発は、来年度の課題として残っている

E 結論

各プローブセットの CDS 領域の上流部分に対して AML1 binding motif の出現位置を網羅的にまとめたデータベースを構築した。このことにより、このデータを遺伝子発現プロファイルのデータと照らし合わせていくことで、疾病の発症に関連する遺伝子配列を特定するための準備が整いつつ

ある。来年度は、現在入手可能であるすべての転写因子結合モチーフに対して行い、ウェブ上のデータベースとして公開していく予定である

F 健康危険情報
なし

G 研究発表
なし

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

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 ⁺ 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

20031270

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。