

- K., Usui, N., Yamori, T., Seki, M., Endo, T., and Mochizuki, M. Antibacterial and antiproliferative activity of cationic fullerene derivatives, *Bioorg Med Chem Lett.* *13*:4395-7, 2003.
5. Sugiyama, Y., Dan, S., Yoshida, Y., Akiyama, F., Sugiyama, K., Hirai, Y., Matsuura, M., Miyata, S., Ushijima, M., Hasumi, K., and Yamori, T. A large-scale gene expression comparison of microdissected, small-sized endometrial cancers with or without hyperplasia matched to same-patient normal tissue, *Clin Cancer Res.* *9*:5589-600, 2003.
6. Dan, S., Shirakawa, M., Mukai, Y., Yoshida, Y., Yamazaki, K., Kawaguchi, T., Matsuura, M., Nakamura, Y., and Yamori, T. Identification of candidate predictive markers of anticancer drug sensitivity using a panel of human cancer cell lines, *Cancer Sci.* *94*:1074-82, 2003.
7. Tanabe, M., Izumi, H., Ise, T., Higuchi, S., Yamori, T., Yasumoto, K., and Kohno, K. Activating transcription factor 4 increases the cisplatin resistance of human cancer cell lines, *Cancer Res.* *63*:8592-5, 2003.
8. Bando, T., Iida, H., Tao, Z. F., Narita, A., Fukuda, N., Yamori, T., and Sugiyama, H. Sequence specificity, reactivity, and antitumor activity of DNA-alkylating pyrrole-imidazole diamides, *Chem Biol.* *10*:751-8, 2003.
9. Shiwa, M., Nishimura, Y., Wakatabe, R., Fukawa, A., Arikuni, H., Ota, H., Kato, Y., and Yamori, T. Rapid discovery and identification of a tissue-specific tumor biomarker from 39 human cancer cell lines using the SELDI ProteinChip platform, *Biochem Biophys Res Commun.* *309*:18-25, 2003.
10. Matsuda, M., Yamori, T., Naitoh, M., and Okutani, K. Structural revision of sulfated polysaccharide B-1 isolated from a marine *Pseudomonas* species and its cytotoxic activity against human cancer cell lines, *Mar Biotechnol (NY)*. *5*:13-9, 2003.
11. Umemura, K., Yanase, K., Suzuki, M., Okutani, K., Yamori, T., and Andoh, T. Inhibition of DNA topoisomerases I and II, and growth inhibition of human cancer cell lines by a marine microalgal polysaccharide, *Biochem Pharmacol.* *66*:481-7, 2003.
12. Suzuki, M., Watanabe, K., Fujiwara, S., Kurasawa, T., Wakabayashi, T., Tsuzuki, M., Iguchi, K., and Yamori, T. Isolation of Peridinin-Related Norcarotenoids with Cell Growth-Inhibitory Activity from the Cultured Dinoflagellate of *Symbiodinium* sp., a Symbiont of the Okinawan Soft Coral *Clavularia viridis*, and Analysis of Fatty Acids of the Dinoflagellate, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. *51*:724-7, 2003.
13. Yamori, T. Panel of human cancer cell lines provides valuable database for drug discovery and bioinformatics, *Cancer Chemother Pharmacol.* *52 Suppl 1*:74-9, 2003.
14. Yang, L., Mashima, T., Sato, S., Mochizuki, M., Sakamoto, H., Yamori, T.,

Oh-Hara, T., and Tsuruo, T. Predominant suppression of apoptosome by inhibitor of apoptosis protein in non-small cell lung cancer H460 cells: therapeutic effect of a novel polyarginine-conjugated Smac peptide, *Cancer Res.* 63:831-7, 2003.

(邦文総説・著書)

1. 矢守隆夫 ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤, *Surgery Frontier.* 10:56-57, 2003.
2. 矢守隆夫 *Cancer Cell Informatics* による制癌剤のスクリーニング, *Surgery Frontier.* 10:304-312, 2003.
3. 矢守隆夫 ケモカインとがん転移, *日本臨床.* 61:116-122, 2003.
4. 且慎吾、矢守隆夫 遺伝子発現情報を用いた抗がん剤感受性予測, *血液・腫瘍科.* 47:575-581, 2003.
5. 且慎吾、矢守隆夫 がん化学療法感受性と遺伝子発現, *分子細胞治療.* 2:378-384, 2003.
6. 矢守隆夫 がん細胞パネルインフォーマティクス・分子標的治療薬探索と感受性診断への応用, *Drug Delivery System.* 18:385-393, 2003.
7. 矢守隆夫 がん細胞パネルー抗がん剤探索およびポストゲノム研究における活用, 3 edition, p. 196-202. 東京: 癌と化学療法社, 2003.
8. 矢守隆夫 抗がん剤スクリーニングの変遷, *化学療法の領域.* 19, S-1:16-21, 2003.

学会発表

中津則之、吉田陽子、菅野純、矢守隆夫ら ヒト

癌細胞パネルによる化合物の分子薬理・分子毒性の評価および抗癌剤感受性関連遺伝子の同定  
日本癌学会総会記事 3234-OP, 2003. (第62回総会 名古屋 2003年9月25日-27日)  
ほか

#### H. 知的財産所有権の出願状況

##### 1. 特許出願状況

1) 血清アポリポタンパク質 A-II 量変化の検出方法

発明者: 矢守隆夫、西村由美子、志和美重子、若田部るみ、有國尚

出願日: 2003年5月7日

出願番号: 特願2003-129028

出願人: 財団法人癌研究会、サイファージェン・バイオシステムズ株式会社

2) 腫瘍細胞の抗癌剤に対する感受性を判定する方法

発明者: 矢守隆夫、吉田陽子

出願日: 2003年4月25日

出願番号: 特願2003-122338

出願人: 財団法人癌研究会

##### 3) 大腸癌細胞の測定方法

(1) 発明者: 矢守隆夫、西村由美子、志和美重子、府川愛、有國尚

(2) 出願日: 2003年2月7日

(3) 出願番号: 特願2003-031049

(4) 出願人: 財団法人癌研究会、サイファージェン・バイオシステムズ株式会社

##### 2. 実用新案登録

なし

研究課題名：化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究

分担研究課題名：系統差に主眼を於いたマウス培養細胞による毒性メカニズム研究

分担研究者：小野 宏 （財）食品薬品安全センター秦野研究所

研究協力者：佐々木澄志、田中憲穂 （財）食品薬品安全センター秦野研究所

### 研究要旨

マウス培養細胞において、動物の系統による遺伝子発現の違いがあるかどうか、マイクロアレイ法で分析する前に、Cd<sup>2+</sup>感受性の C3H/He マウスと抵抗性の DBA マウスの全胎児細胞を用いて、in vitro でも感受性の差が観察されるかどうか検討した。

細胞を播種後、硝酸カドミウムで 5 日間処理し、相対細胞増殖率を算出した。IC<sub>50</sub> 値を求めたところ、C3H/He マウス細胞では 15 μM、DBA マウス細胞では 7.5 μM と in vivo のデータと反対の結果が得られた。

#### A. 研究目的

マウス培養細胞を用いたマイクロアレイ法による遺伝子発現のデータベースを構築するには、まずどの系統および組織を使うかを決定しなければならない。そこで、in vitro においても、in vivo と同様に感受性の違いが観察されるのかどうか、系統による遺伝子発現の違いを調べる。

Cd<sup>2+</sup>はヒトに対して肝障害などを誘発し、またマウスでは系統によって異なる毒性作用を示す。そこで Cd<sup>2+</sup>感受性の C3H/He マウスと抵抗性の DBA マウスの全胎児細胞を Cd<sup>2+</sup>で処理し、マイクロアレイ法で分析する。

#### B. 研究方法

全胎児細胞を 96 ウェルプレートに、10<sup>4</sup>個播種した (0.1 mL/ウェル)。翌日、最終濃度の 2 倍になるように調製した硝酸カドミウムを含む培地を 0.1 mL

添加した (Cd<sup>2+</sup>最終濃度：1~50 μM)。5 日間培養後、20 μL のアラマーブルー溶液を各ウェルに添加し、8 時間培養した。相対蛍光強度（励起：530 nm、測定：590 nm）を蛍光プレートリーダーで測定し、相対細胞増殖率を算出し、IC<sub>50</sub> 値（細胞増殖を 50%阻害する濃度）を求めた。1 用量あたり 3 ウェルを用いた。

#### （倫理面への配慮）

使用する動物の屠殺にあたっては、麻酔薬の使用しないしは頸椎脱臼法など苦痛の少ない方法を用いるといった、本研究所の実験動物取り扱い倫理規定に準拠した対応を行った。

#### C. 研究結果

in vivo における Cd<sup>2+</sup>による毒性作用の違いが、in vitro においても再現されるかどうか細胞毒性作用を見ることで検討した。その結果、IC<sub>50</sub> 値は、C3H/He

マウス細胞では 15  $\mu$ M、DBA マウス細胞では 7.5  $\mu$ M であった。

なお、今回はまだマイクロアレイ法で分析するまでには至っていない。

#### D. 考察

$\text{Cd}^{2+}$ に対する感受性を調べるにあたり、細胞は、単一臓器由来の細胞を用いると特定の遺伝子しか働いていない可能性があるため、全胎児細胞を用いた。

$\text{IC}_{50}$  値を求めたところ、DBA マウス細胞では 7.5  $\mu$ M を示し、C3H/He マウスの 1/2 の値であった。このことから、*in vitro* では *in vivo* と反対の感受性を示すことが分かった。

細胞毒性作用は、細胞密度が低いと強く出ることが知られている。播種後の細胞を観察したところ、DBA マウス細胞の増殖はあまりよくなかった。このことから、DBA マウス細胞では細胞密度が低かったため、見かけ上感受性が高くなってしまった可能性も考えられた。

#### E. 結論

$\text{Cd}^{2+}$ に対し、*in vivo* では、C3H/He マウスは感受性であり、DBA マウスでは抵抗性であるが、*in vitro* では逆の結果が得られた。これが事実と考えられる一方、DBA マウス細胞の増殖があまりよくなかったことから、そのことが原因で低濃度でも増殖が阻害されてしまった可能性も考えられた。従って、 $\text{Cd}^{2+}$ に対するこれらの細胞の感受性の差は、さらに別の実験系を用いて確認する必要がある、本実験から結論できないと判断した。

#### F. 研究発表

無し

#### G. 知的所有権の取得状況

無し

研究課題名：化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究

分担研究課題名：変異原性毒性の生体防御反応として検出の研究

分担研究者： 本間正充 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長

協力研究者： 鈴木孝昌 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 室長

## 研究要旨

マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を、変異原性研究に応用することを目的とし、日本環境変異原学会MMS研究会における共同研究を行っている。アルキル化剤など、マウスに突然変異を起こすことが確かめられている化合物を投与し、得られた肝臓における遺伝子発現変化を、市販ガラスマイクロアレイ、カスタムメイドマイクロアレイ、GeneChipなどを用いて解析を行った。すでに、非遺伝子傷害性物質を含めた9化合物に関して投与が終了し、Affymetrix社製GeneChipを用いた解析をこれらの化合物に関して順次行っており、他機関において平行してガラスマイクロアレイを用いた解析が進行中である。

### A. 研究目的

動物個体における遺伝子傷害性物質に対する遺伝子発現変化を解析することにより、遺伝子傷害に対する生体防御機構のメカニズムを解析する。また、化合物の遺伝子傷害性のメカニズムに特異的な遺伝子発現変化を調べることにより、作用機序のよくわからない化合物に対する、メカニズムの予測につながることを期待される。

### B. 研究方法

遺伝子傷害性物質として diethylnitrosamine (DEN), dimethylnitrosamine, ethylnitrosourea, dipropylnitrosamine, dimethylbenzoanthracene, o-aminoazotoluene, dibenzo[a, l]pyrene, 非遺伝子傷害性物質とし

て、ethanol, phenobarbital、の計9化合物を投与したマウス肝臓（精巣、肺）を、4時間、20時間、14日、28日後に回収し、5匹分をまとめて、TRIzol 溶液中にてホモジネートした。ここから total RNA を抽出し、定法に従って Affymetrix GeneChip や他のマイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。

#### （倫理面への配慮）

使用する動物の屠殺にあたっては、麻酔薬の使用ないしは頸椎脱臼法など苦痛の少ない方法を用いるといった、本研究所の実験動物取り扱い倫理規定に準拠した対応を行っており、当研究施設はそのモデル施設となっている。

## C. 研究結果

### (要約)

マウスへの処理、臓器の回収はすべて終了した。発現解析は、まず DEN に関して GeneChip を中心に複数のマイクロアレイを用いて解析を行った結果、特徴的な遺伝子変化をリストアップでき、相互の比較を行った。

日本環境変異原学会の MMS 研究会において、マイクロアレイの変異原研究への応用をテーマとして、表 1 に示す 13 機関が参加した共同研究を行っている。

表 2 に示すようなさまざまなアレイプラットフォームを用いて、遺伝子傷害性物質で処理したマウスの肝臓を中心とした臓器における遺伝子発現変化について解析を行う計画である。検討する化合物に関しては、既に研究方法の項に示したとおり、アルキル化剤を中心とした 7 種の遺伝子傷害性物質と対象として 2 種の非遺伝子傷害性物質を用いた。前者に関しては、すでにトランスジェニックマウスを用いた変異原性試験における検討を参考に用量を設定し、1 群 5 匹のマウスに対して単回投与を行い、4 時間、20 時間、14 日、28 日後 (DEN は 4 時間、28 日後のみ) にマウスより臓器を回収し、TRIzol 中にてホモジネートとし、凍結保存した。このサンプルを各機関に配布し、マイクロアレイを使った解析に供した。今年度は、既に解析の終わった DEN のデータに関して報告する。

我々の研究室においては、Clontech 社の Atlas ガラスマイクロアレイ、NovusGene 社のガラスアレイ、および Affymetrix 社の GeneChip (Mouse 430A) を使った解析を行った。まず、以前より検

討を行っていた Atlas アレイを用いた場合には、定量性の問題から Cy3, Cy5 ラベルによる競合的ハイブリ法によりコントロールと処理群 (プールした RNA を使用) での発現の比を求めた。本マイクロアレイには、1080 の遺伝子が搭載されているが、Cy3, Cy5 どちらかにおいてバックグラウンドの 2 倍以上のシグナル強度を与える遺伝子を信頼性のあるデータとして採用した結果、328 遺伝子に関してデータが得られた。このうちで、2 倍を超える発現変化の見られた遺伝子を表 3 に示す。発現の変化した遺伝子としては、アポトーシス関連遺伝子、細胞周期関連遺伝子、癌遺伝子など遺伝子傷害と関連が示唆される遺伝子が見られた。また、直接関連性が見られない遺伝子も多く含まれていた。

次に、NovusGene 社のマイクロアレイ (マウス ver.0) では、主に遺伝子傷害と関連する 96 遺伝子が搭載されており、1 遺伝子につき 2 プローブがデザインされ、それぞれデュプリケートでスポットされている。DEN 処理サンプルについて、同様の解析を行ったところ、約半数の遺伝子に関してデータが得られた。遺伝子数が少ないため、1.5 倍を超える変化の見られた遺伝子をリストアップしたところ、表 4 に示すような結果が得られた。表中では、同一プローブに対する二つのスポットのデータを併記しているが、両者の値は全体としてよく一致しており、デュプリケートスポット間での再現性は高いことがわかった。しかし、同一遺伝子に対する二つのプローブ間でのデータは必ずしも一致せず、Tcf3 の様に全く逆の動きを示す場合もあった。本アレイに関してはいずれも遺伝子傷害と関連のある遺伝子が選ばれているため、すべての遺伝子について、遺伝子傷害と

の関連はあると考えられる。また、同じアレイを用いた他機関のデータでは、同一プローブ間では非常に再現性の高いデータが得られている。

次に、現状においてもっとも信頼性が高いとされる Affymetrix 社の GeneChip を用いた解析のデータを示す。このアレイにおいては、プローブを固層合成するためアレイ間でのスポットの定量性が高いため、単色におけるシグナル強度の比較が可能である。このアレイでは約 17000 の遺伝子が搭載されているが、Microarray Suite (Affymetrix 社) という専用の解析ソフトにより判定された遺伝子発現の度合いに基づいて、コントロール、処理群ともに Absence と call された遺伝子を除いた後、発現強度に応じて Cut-off 値を定める独自の解析手法を用いて発現変化の有意な遺伝子を選択した。なお、この解析においては、マウス個体間の比較を行うため、プールしたサンプルの代わりに、2 匹の個体ごとの RNA サンプルを用いて、4 時間、および 28 日後のデータに関して解析を行った。

その結果、まず 2 匹のマウス間では比較的数据は一致しており、個体間のばらつきは予想よりも少なかった。個体間で共通して変化の見られた遺伝子に関して表 5 にリストアップした。GeneChip においては、同一遺伝子に関して複数のプローブセットが設定されている場合があり、遺伝子名が重複しているのは、それら異なるプローブセット間でのデータを示す。近傍にこうした重複が見られることより、データの再現性が高いことが伺われる。4 時間後、28 日後とも変化の大きかった遺伝子として、p21、cyclinG1 があげられるが、いずれも既に遺伝子傷害との関連がわかっている遺伝子である。その他、癌遺伝子 Jun は他

の系においても選択された遺伝子である。また、発現の減少した遺伝子は、上昇に比べて数は少なく、直接遺伝子傷害との関連性が示唆される遺伝子は含まれていなかった。

次に、他のアレイでのデータを含めて、データの信頼性を定量的 RT-PCR 法にて解析した結果をまとめたのが図 1 である。

Cyclin G1, c-Jun, RAD52, Histon H3, ICAM-1 について検討したところ、ここに示した 2 種類の Affymetrix アレイおよび Toxicogenomics array に関しては比較的良い一致が見られたが、これら以外のアレイに関しては、一致性は低かった。

以上の結果より、Affymetrix 社製 GeneChip および Toxicogenomics array が現状においては信頼性の高いシステムであると考えられた。今後これらのアレイを中心に、他の化学物質に関する検討を進める予定である。

#### D. 考察

様々なマイクロアレイを使った検討の結果、アレイが異なる場合には同一遺伝子間のデータの再現性は低いことがわかった。同一アレイ上の異なるプローブ間でも同様の現象は観察され、プローブ設計の重要性が示唆されるとともに、アレイデータの信頼性にも疑問が投げかけられた。しかし、その中で Affymetrix の GeneChip については、既に一般的にも認知されているように、データの信頼性は高く、RT-PCR のデータとの一致性も高かったことより、本システムを中心に解析を進めることが有効であることが確かめられた。本アレイにおいては集積度が高いため、必ずしも遺伝子傷害性とは関連しない遺伝子も多く含まれているが、未知遺伝子も含めてこれまでには報告がされ

ていない遺伝子に関しても、遺伝子傷害に伴って発現変化する遺伝子も存在すると考えられ、今後指標となる遺伝子を絞り込む上でも、より多くの遺伝子から重要度の高い遺伝子を選択できるという意味でも、GeneChipの有用性は高いと考えられる。今後、解析する化合物数を増やして、共通性のある遺伝子を選ぶとともに、選択した遺伝子を使ったカスタムアレイを作成することをめざすが、GeneChipはこうしたカスタマイズには向かないため、それが可能なカスタムアレイのシステムとして、今回比較的データの信頼性が高かった Toxicogenomics array が有効そうであることがわかった。

今後は、GeneChipを使った他の化合物での解析結果を元に、遺伝子傷害性の判定に有効な遺伝子リストを作成し、カスタムアレイの開発を進める予定である。

さらに、今回の検討では、4時間後と28日後のデータの比較のみであったが、両者の間では前者の方が遺伝子の動きが大きかった。やはり、生体側のレスポンスとしては、化合物暴露後比較的初期に重要な変化が見られることが予想され、化合物特異的な変化を検出する上でも重要であると考えられる。また、時間経過とともに、遺伝子傷害に伴う結果としての遺伝子変化が現れると予想され、化合物間での共通性は増えてくると考えられる。今後、これらの点を明らかにするため、他の化合物については、20時間後、14日後のデータについても解析を行い、遺伝子傷害性の検出のために最適なタイミングについても検討を行う予定である。

## E. 結論

GeneChipを用いた解析では、マウスの個体差は小さく、定量RT-PCR法の結果とよく一致し、DENに特徴的な遺伝子変化を捉えることができた。また、遺伝子の動きは28日後と比較して、4時間後の方が大きかった。アレイの種類が異なると、同じ遺伝子でも結果が異なる場合があったが、動きの見られたいくつかの遺伝子に関しては比較的共通性がみられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Moore, M., Honma, M., Clements, J., Bolcsfoldi, G., Cifone, M., Delongchamp, R., Fellow, M., Gollapudi, B., Jenkinson, P., Kirby, P., Kirchner, S., Muster, W., Myher, B., O' Donovan, M., Oliver, J., Omori, T., Oudelhkim, M., Pant, K., Preston, R., Riach, C., San, R., Stankowski, F. Thakur, A., Wakuri, S., and Yoshimura, I. Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: International workgroup report-Plymoth, UK 2002. *Mutat. Res.*, 540; 127-140 (2003)

Honma, M., Izumi, M., Sakuraba, M., Tadokoro, S., Sakamoto, H., Wang, W., Yatagai, F., and Hayashi, M. Deletion, rearrangement, and gene conversion; the genetic consequences of chromosomal double-strand breaks in human cells. *Environ. Mol. Mutagen.*, 42, 288-298 (2003)

Wang, W., Seki, M., Otsuki, M., Tada, S., Takao, N., Yamamoto, K., Hayashi, M., Honma, M. and Enomoto, T. The absence of a functional relationship between ATM and BLM, the



components of BASC, in DT40 cells. *Biochem. Biophys. Acta* (in press)

○Zhan L, Sakamoto H, Sakuraba M, Wu de S, Zhang LS, Suzuki T, Hayashi M, Honma M.,  
Genotoxicity of microcystin-LR in human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutat Res.*, 557, 1-6. (2004)

Yamada K, Suzuki T, Hakura A, Mizutani T, Saeki K. Metabolic activation of 10-aza-substituted benzo[a]pyrene by cytochrome P450 1A2 in human liver microsomes.  
*Mutat Res.* 557, 159-165. (2004)

Thybaud V, Dean S, Nohmi T, de Boer J, Douglas GR, Glickman BW, Gorelick NJ, Heddle JA, Heflich RH, Lambert I, Martus HJ, Mirsalis JC, Suzuki T, Yajima N.,  
In vivo transgenic mutation assays.,  
*Mutat. Res.*, 540, 141-151 (2003)

○Itoh T, Kuwahara T, Suzuki T, Hayashi M, Ohnishi Y., Regional mutagenicity of heterocyclic amines in the intestine: mutation analysis of the *cII* gene in lambda/lacZ transgenic mice,  
*Mutat. Res.*, 539, 99-108. (2003)

鈴木孝昌：変異原性（イニシエーター）から見たリスク評価  
*Environ. Mutagen. Res.*, 25, 181-186 (2003)

鈴木孝昌：トランスジェニックマウス変異原性試験の有用性に関する研究  
*Environ. Mutagen. Res.*, 25, 119-125 (2003)

## 2. 学会発表

山田勉也, 羽倉昌志, 鈴木孝昌, 加藤隆明, 竹本育世, 水谷隆治, 佐伯憲一  
一連の含窒素芳香族化合物の代謝活性化に関わるヒト CYP 分子種  
日本薬学会第 124 年会 (2004.3)

小原有弘, 鈴木孝昌, 鈴木孝禎, 宮田直樹, 二宮真一, 須藤哲司  
GeneChip<sup>®</sup> を用いた薬剤曝露時の遺伝子発現解析 (Toxicogenomics への応用を目指して)  
日本薬学会第 124 年会 (2004.3)

小原有弘, 鈴木孝昌, 小貫慶昭, 佐藤陽美, 板井昭子, 鈴木孝禎, 宮田直樹, 二宮真一, 須藤哲司  
チアゾリジンジオン誘導体曝露ヒトプライマリ肝細胞の GeneChip<sup>®</sup> 遺伝子発現解析 (KeyMolnet を用いた分子ネットワーク解析への展開)  
日本薬学会第 124 年会 (2004.3)

鈴木孝昌

トキシコゲノミクス研究から見た大集積アレイの有用性と臨床診断用の次世代カスタムアレイに求められるもの

文部科学省科学技術振興調整費ゲノムフロンティア開拓研究シンポジウム  
一次世代のマイクロアレイ - カスタムアレイの展開 - (2004.3)

戸部香織、仲地豊、近藤恭光、中嶋圓、浜田修一、鈴木孝昌、兵庫淳志、田代英夫、榊佳之、降旗千恵

マウス肝発癌初期過程における遺伝子発現解析に用いる Oligonucleotide Microarray の開発  
日本分子生物学会 (2003.12)

鈴木孝昌

環境化学物質のリスク評価のためには、現行遺伝毒性試験に何が欠けているか

日本環境変異原学会微生物変異原性試験研究会  
第 31 回定例会 (2003.11)

JEMS/MMS マイクロアレイ共同研究グループ(世話人代表：鈴木孝昌)

DNA マイクロアレイの変異原性試験への応用に関する共同研究

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003.11)

バラニサミー・ラジャグル、鈴木孝昌、坂本浩子、菅野 純、林 真、本間正充

ヒトリンパ腫由来 TK6 細胞における遺伝子傷害性物質による遺伝子発現変化の解析

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003.11)

Suzuki, T.

Toxicogenomics in the genetic toxicology.  
Annual Meeting of the Chinese Environmental Mutagen Society (2003.11)

鈴木孝昌、小原有弘、山田勉也、佐伯憲一、本間正充、山口照英、林 真

ニトロソアミン類がマウスに誘発する突然変異の多様性

第 62 回日本癌学会総会 (2003.9)

山田勉也、鈴木孝昌、羽倉昌志、佐伯憲一

10 位窒素置換ベンズピレンのヒト肝 microsome を用いた Ames 試験での変異原性評価

第 62 回日本癌学会総会 (2003.9)

T. Suzuki, P. Rajaguru, J. Kanno, H. Sakamoto, M. Hayashi, T. Yamaguchi, and M. Honma

GeneChip analysis on transcriptional changes induced in human lymphoblastoid (TK6) cells by six genotoxic chemicals.

33rd Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society (2003.8)

T. Kanayasu-Toyoda, T. Oshizawa, T. Suzuki, E. Uchida, T. Hayakawa, T. Yamaguchi

Role of PKC  $\epsilon$  on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils  
6<sup>th</sup> World Congress on Inflammation (2003.8)

K. Tobe, K. Kawai, Y. Nakachi, Y. Kondoh, M. Nakajima, S. Hamada, T. Suzuki, A. Hyogo, T. Tashiro, H. Ito, Y. Sakaki, H. Tashiro, C. Furihata

Oligonucleotide Microarray for Examining Gene Expression Clustering in Early Mouse Liver  
Chemical Carcinogenesis

G. 知的所有権の取得状況

なし

表1 共同研究参加機関

代表者	所 属
降旗 千恵	青山学院大学工学部 生物学
浜田 修一	エスエス製薬(株) 中央研究所 薬理研究安全性グループ
兵庫 淳志	三共(株) 安全性研究所 細胞毒性研究グループ
中嶋 圓	(財)安評センター 環境遺伝毒性試験グループ
大内田昭信	大鵬薬品(株) 安全性研究所 第3研究グループ
斉藤 優子	日研化学(株) 大宮研究所 安全性研究室
祖父尼俊雄	株式会社ノバスジーン
鈴木 孝昌	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 (遺伝子細胞医薬部)
馬場 博	三菱ウエルファーマ(株) 安全性研究所
若田 明裕	山之内製薬(株) 安全性研究所
山影 康次	食品薬品安全センター 秦野研究所・細胞生物
山本 康人	ライオン(株) 研究開発本部 安全性評価センター
浅野 哲秀	日東電工(株) 安全性試験センター

表2 使用したマイクロアレイの種類

<p><b>GeneChip (Affymetrix)</b></p> <p><u>Mouse U74Av2 (Sankyo)</u> 約12000個のマウス遺伝子に対し、遺伝子あたり16個のPerfect Match, Miss Match25merをデザイン 基盤上に光リソグラフィにより直接合成、単色ラベルで専用の装置にてハイブリ、洗浄、スキャンを行う</p> <p><u>Mouse 430A (NIHS)</u> プローブの設計を変更した新しいバージョンで、遺伝子あたりのプローブセット数は11、解析アルゴリズムも変更 ゲノム情報の進化に伴い、新たな遺伝子も追加し約17000遺伝子を搭載</p>
<p><b>Atlas Glass Array (Clontech)</b></p> <p><u>Mouse 1.0 (NIHS)</u> クロンテック社から市販されたマウス1080遺伝子搭載のガラスアレイ 80merのオリゴをスポットしたもので、各遺伝子特異的なプライマーにてcDNA合成を行う</p>
<p><b>Mouse Basic Array (NovusGene)</b></p> <p><u>Ver. 0 (NIHS, Anpyo)</u> 本共同研究にて選んだ遺伝毒性関連の96遺伝子を搭載したアレイ 1遺伝子に対して2カ所の46merオリゴプローブをダブル法にて設計し、それぞれduplicateにてスポット</p> <p><u>Ver. 1 (配布)</u> Ver. 0に遺伝子を追加し、352遺伝子(1遺伝子1 probe, duplicate)にし、製法にも改良を加える</p>
<p><b>Toxicogenomics Array (Aoyama)</b></p> <p><u>Ver. 2 (Aoyama)</u> 本共同研究で選んだ遺伝毒性関連100遺伝子(132 probe)を搭載 CARBOSTATION-Uアレイにオリゴ(40-45 mer)をスポット</p> <p><u>Ver. 3 (作成中)</u> さらに遺伝子を追加し、197遺伝子(200 probe)に</p>
<p><b>千葉大アレイ</b></p> <p>千葉大が旭テクノガラスに依頼して作成した1000遺伝子のアレイに、本共同研究で選んだ遺伝子200種を加えたもの 市販のcDNAクローンを増やしたものをスポット</p>

表 3 Atlas Glass Microarray による DEN 処理 4

時間後の肝臓での遺伝子発現変化

Up-regulated genes (>2.0)				Down-regulated genes (<0.5)			
Gene Name	Ratio	cont	DEN	Gene Name	Ratio	cont	DEN
myeloid cell leukemia sequence 1	13.58	100	1288	GATA-binding protein 4	0.15	40647	5724
wingless-related MMTV integration site 3	7.61	139	1000	T-cell leukemia, homeobox 1	0.16	59399	9154
Bcl-associated death promoter	5.34	88	334	related to Drosophila groucho gene	0.17	61512	9826
activating transcription factor 2	4.94	128	599	wingless-related MMTV integration site 3A	0.17	1904	308
desmocollin 2	4.28	100	405	interleukin 1 receptor antagonist	0.18	2313	383
ero homology 2 domain-containing transforming protein C3	4.15	172	675	uracil-DNA glycosylase	0.18	1522	255
talin	4.10	137	531	E2F transcription factor 1	0.18	598	104
procollagen, type VI, alpha 1	3.79	4488	16066	insulin-like growth factor 2 receptor (IGF2R)	0.19	1988	354
mitogen activated protein kinase 10	3.01	142	403	guanine nucleotide binding protein, beta 2	0.20	7638	1474
purinergic receptor P2Y, G-protein coupled 1	2.95	1774	4938	interferon regulatory factor 1	0.21	1443	263
MAD homolog 1 (Drosophila)	2.91	311	855	fibronectin 1	0.22	2745	575
protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 13	2.91	298	818	dentin sialophosphoprotein	0.24	17201	3899
frizzled homolog 6 (Drosophila)	2.78	244	635	androgen receptor	0.24	1284	297
kit ligand	2.65	885	2212	plasminogen	0.24	8197	1898
eyes absent 3 homolog (Drosophila)	2.65	1028	2568	serine protease inhibitor 3	0.25	533	128
suppression of tumorigenicity 14 (colon carcinoma)	2.47	785	1832	Purkinje cell protein 4	0.27	950	239
coagulation factor II (thrombin) receptor	2.47	837	1489	Fas antigen	0.27	504	127
growth hormone releasing hormone receptor	2.43	833	1916	ELK1, member of ETS oncogene family	0.27	890	225
beaded filament structural protein in lens-CP94	2.42	6857	15693	caspase 7	0.30	739	209
lysosomal-associated protein transmembrane 5	2.33	1670	3682	low density lipoprotein receptor	0.31	1374	401
wingless-related MMTV integration site 4	2.31	642	1398	sema domain, immunoglobulin domain (Ig)	0.31	790	232
eyes absent 2 homolog (Drosophila)	2.29	5684	12277	hepsin	0.33	1991	617
zinc finger protein, subfamily 1A, 1 (Karas)	2.25	1362	2898	phenylalanine hydroxylase	0.33	506	159
dystroglycan 1	2.20	2069	4312	dipeptidylpeptidase 4	0.35	583	181
interleukin 1 beta	2.20	504	1045	radical fringe gene homolog, (Drosophila)	0.35	21820	7097
mitogen activated protein kinase kinase 8	2.15	481	978	GATA-binding protein 2	0.35	1300	428
NR2 transcription factor related, locus 6 (Drosophila)	2.12	3722	7481	wingless-related MMTV integration site 7A	0.35	616	203
SMN/SNF related, actin dependent regulator of chromatin	2.11	527	1050	heme oxygenase (decycling) 2	0.36	484	156
laminin, alpha 2	2.11	3490	6947	homeo box A1	0.38	684	243
laminin, beta 2	2.08	655	1286	achaete-scute complex homolog-like (Drosophila)	0.38	1133	405
cyclin G	2.07	260	510	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1	0.38	615	221
zinc finger protein 60	2.06	448	870	solute carrier family 6 (nordrenalin)	0.39	854	239
matrix metalloproteinase 2	2.03	349	671	angiogenin	0.39	3052	1135
integrin beta 2 (Cd18)	2.03	1317	2529	glial cell line derived neurotrophic factor	0.40	1554	582
Bcl2-like 2	2.02	834	1593	heat shock protein, 60 kDa	0.40	4368	1651
Jun oncogene	2.00	7302	13832	transferrin	0.43	17041	8987
epidermal growth factor	2.00	459	867	P40-8, functional	0.43	2031	834
protein tyrosine phosphatase, receptor type	2.00	1933	3644	nuclear receptor subfamily 2, group F, member 6	0.44	616	254
				ribosomal protein S29	0.48	8148	3685
				kallikrein 3, plasma	0.48	982	450
				apolipoprotein E	0.49	12098	5558
				RAD23b homolog (S. cerevisiae)	0.49	762	355

\* 328/1080 genes are available

表 4 NovusGene Microarray による DEN 処理 4 時

間後の肝臓での遺伝子発現変化

Up-regulated genes (>1.5)		66/192 spots, 47/96 genes are available						
Category	Gene	Av. Ratio	Ratio-1	cont-1	DEN-1	Ratio-2	cont-2	DEN-2
Transcription factor	E2f1	3.96	3.78	50	283	4.19	44	277
Tumor suppressor	APC	3.40	2.72	26	106	4.53	15	102
Tumor development, Growth factor	TGF-beta R	2.52	2.10	712	2244	3.18	522	2478
Xenobiotic metabolism	GST p1	2.25	1.92	1767	5106	2.70	1708	6920
Xenobiotic metabolism	mGSTpiA	2.19	1.94	1412	4102	2.52	2386	9031
Oncogene	c-mos	2.17	1.92	147	425	2.48	169	628
Transcription factor	Ddit3	2.04	1.93	41	119	2.16	30	97
Transcription factor	c-jun	1.94	2.07	17	53	1.82	15	41
Xenobiotic metabolism	Eph1	1.79	1.73	145	377	1.84	79	219
Stress protein	Osi	1.78	1.71	97	249	1.86	51	142
Transcription factor	Pax-5	1.67	1.43	323	693	2.01	229	692
Stress protein	Stip1	1.63	1.51	49	111	1.78	46	123
Tumor suppressor	Brca2	1.61	1.81	21	57	1.45	23	50
Transcription factor	Tcf3	1.53	1.56	686	1606	1.51	573	1298

Down-regulated genes (<1/1.5)								
Category	Gene	Av. Ratio	Ratio-1	cont-1	DEN-1	Ratio-2	cont-2	DEN-2
Stress protein	Cu-Zn SOD	0.60	0.55	524	429	0.66	646	644
Apoptosis	Bcl-2	0.60	0.52	59	46	0.71	51	54
Transcription factor	Tcf3	0.52	0.50	1980	1494	0.53	1066	847
Xenobiotic metabolism	Cyp2a5	0.52	0.47	159	113	0.57	159	135
Tumor suppressor	p14	0.51	0.46	59	41	0.58	52	45
Xenobiotic metabolism	GST1-1	0.49	0.41	145	90	0.59	299	265
Xenobiotic metabolism	Cyp1b1	0.48	0.51	46	35	0.45	53	36
Xenobiotic metabolism	GST mu1	0.48	0.56	135	113	0.41	172	107
Stress protein	Herpud1	0.46	0.41	106	66	0.53	52	41
Xenobiotic metabolism	Cyp2a5	0.43	0.45	318	215	0.42	287	179
Xenobiotic metabolism	Cyp2e1	0.38	0.45	4932	3320	0.33	3216	1593
Tumor suppressor	Men1	0.25	0.26	74	29	0.23	71	25
Apoptosis	p53	0.24	0.19	25751	7462	0.32	18431	7997
Apoptosis	Fas ligand	0.15	0.12	37140	6879	0.19	14380	4110

表5 Affymetrix GeneChip (Mouse 430A)を用いた

た個体ごとの解析結果

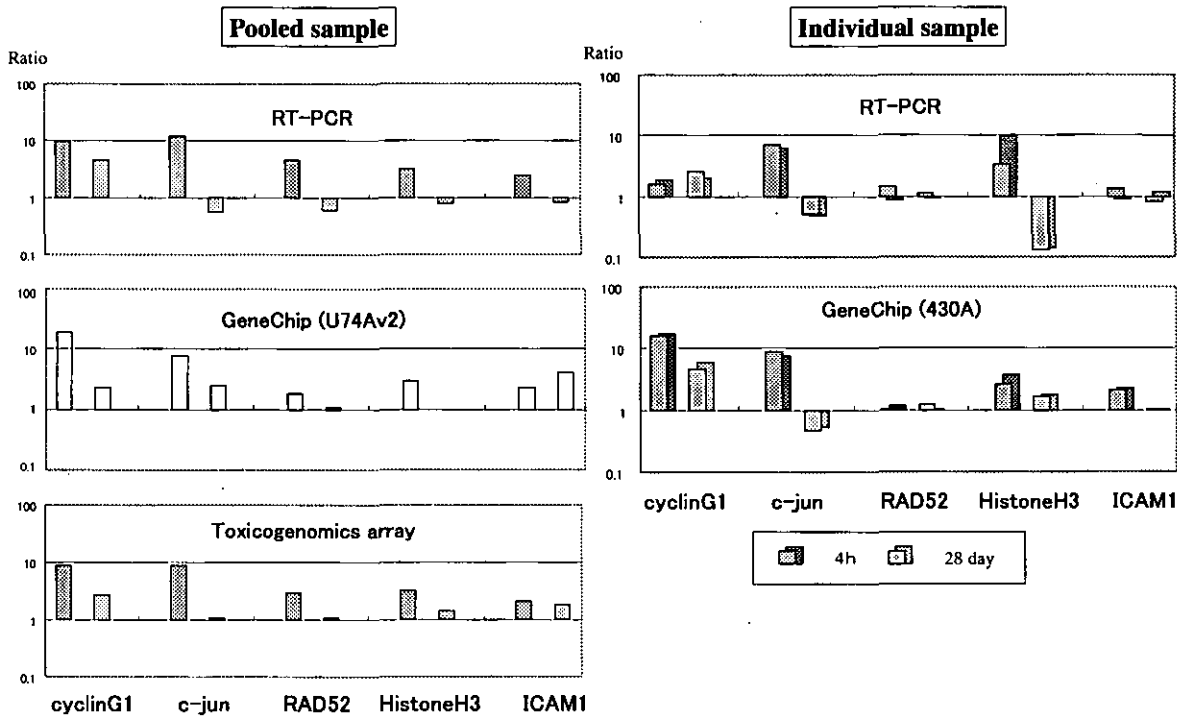
Description	4 h						28 d					
	Mouse-1			Mouse-2			Mouse-1			Mouse-2		
	Ratio	Call*	Value	Ratio	Call*	Value	Ratio	Call*	Value	Ratio	Call*	Value
cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (P21)	118.79	P	2654	125.09	P	2867	13.21	P	784	13.68	P	1075
cyclin G1	24.50	P	2079	25.35	P	2313	5.46	P	349	6.63	P	618
cyclin G1	7.22	P	773	8.63	P	956	2.83	P	271	3.26	P	416
pleckstrin homology-like domain, family A, member 3	7.75	P	964	8.23	P	1054	3.14	P	466	2.80	P	551
stress induced protein	7.32	P	2606	4.84	P	1783	3.39	P	943	3.19	P	1173
B-cell translocation gene 1, anti-proliferative	3.15	P	537	4.01	P	709	2.01	P	410	2.50	P	676
lipin 1	3.05	P	2002	3.92	P	2636	3.63	P	618	3.34	P	752
RIKEN cDNA 1110025L05 gene	3.10	P	327	3.68	P	399	6.85	P	179	5.95	P	207
lipin 1	2.62	P	1789	3.51	P	2482	3.98	P	615	5.05	P	1039
MAP kinase-interacting serine/threonine kinase 2	2.98	P	2822	3.47	P	3419	3.21	P	935	3.18	P	1219
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 12a	154.60	P	842	163.62	P	922	0.82	A	5	1.00	A	8
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 12a	36.55	P	928	50.24	P	1320	0.78	A	24	0.84	A	33
RIKEN cDNA 2310057H16 gene	26.29	P	337	27.00	P	359	2.85	A	32	0.98	A	15
cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (P21)	25.58	P	748	16.38	P	496	3.82	A	139	3.74	P	180
activating transcription factor 3	23.82	P	600	35.94	P	937	0.67	A	25	0.51	A	25
Jun oncogene	13.26	P	899	18.52	P	1300	0.55	A	49	0.48	A	55
serum-inducible kinase	12.57	P	818	15.45	P	1041	3.31	A	189	3.23	A	244
core promoter element binding protein	10.01	P	229	21.58	P	511	1.70	P	50	1.44	P	56
Down syndrome critical region homolog 1 (human)	8.84	P	1785	10.06	P	1869	1.10	P	134	1.05	P	169
Highly similar to promyelocyte leukemia Zn finger protein	6.68	P	103	6.87	P	75	2.04	P	53	1.38	M	48
odd Oz/ten-m homolog 3 (Drosophila)	0.22	A	21	0.16	A	16	0.95	P	75	1.05	P	109
insulin degrading enzyme	0.29	A	21	0.15	A	11	1.09	P	171	1.28	P	264
amyloid beta (A4) precursor-like protein 2	0.20	P	41	0.15	A	31	1.45	P	448	0.88	P	358
Tnfr-induced adipose-related protein	0.26	P	237	0.13	A	128	1.30	P	336	1.24	P	423
solute carrier family 21 (organic anion transporter), member 10	0.13	P	41	0.12	P	40	1.05	P	803	1.57	P	1584
RIKEN cDNA B130055L10 gene	0.33	P	77	0.11	P	26	0.92	P	301	1.21	P	526
ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 1	0.14	A	19	0.09	A	13	1.15	P	176	1.49	P	302
glial cell line derived neurotrophic factor family receptor alpha 1	0.44	P	173	0.06	A	23	1.08	P	428	1.01	P	527
RIKEN cDNA 9030401P18 gene	0.27	A	38	0.04	A	6	0.86	P	151	0.86	P	198
serum amyloid A 2	0.37	P	1980	0.25	P	1399	0.96	P	417	0.81	P	466
one cut domain, family member 1	0.36	M	32	0.31	A	28	0.45	P	54	0.45	P	71
suppressor of cytokine signaling 2	0.48	P	66	0.24	A	35	0.40	M	49	0.33	P	54

\* P: presence, M: marginal, A: absence

Up-regulation

Down-regulation

図1 定量的 RT-PCR とアレイデータの比較



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
菅野 純	IV 創薬への利用“トキシコゲノミクス”	金原一郎記念 医学医療振興 財団	生体の科学 54 (5)	医学書院	東京	2003	477-481
菅野 純	新たな創薬へ向けて “トキシコゲノミクス”		現代医療 35(7):	現代医療社	東京	2003	239-244
菅野 純	環境ホルモン		食品の安全性と 確認 第5章汚 染化学物質の 安全確認の実 用的評価法	(株)サイエ ンスフォーラ ム	東京	2003	123-127
Kanno J,	Reverse toxicology as a future predictive toxicology,	T. Inoue and W. D.Pennie (eds.),	Toxicogenomics	Springer-Verlag Tokyo	Tokyo	2003	213-218
Inoue, T.	Introduction: Toxicogenomics - a New Paradigm of Toxicology	T. Inoue and W. D.Pennie (eds.),	Toxicogenomics	Springer-Verlag Tokyo	Tokyo	2003	3-11
Hirabayashi Y, Yoon BI, Kawasaki Y, Li GX, Kanno J, and Inoue T.	On the Mechanistic Differences of Benzene-induced Leukemogenesis between Wild type and p53 Knockout Mice. Molecular Mechanisms for Radiation-induced Cellular Response and Cancer Development,	K.Tanaka, T.Takabatake, K. Fujikawa, T. Matsumoto, and F. Sato (eds.)		Institute for Environmental and Molecular Sciences,	Aomori	2003	110-116
矢守隆夫	ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤		Surgery Frontier. 10			2003	56-57
矢守隆夫	Cancer Cell Informatics による制癌剤のスクリーニング		Surgery Frontier :10			2003	304-312
矢守隆夫	ケモカインとがん転移		日本臨床:61			2003	116-122
且慎吾、 矢守隆夫	遺伝子発現情報を用いた抗がん剤感受性予測		血液・腫瘍科:47			2003	575-581
且慎吾、 矢守隆夫	がん化学療法感受性と遺伝子発現 2: 378-384, 2003.		分子細胞治療.:2			2003	378-384
矢守隆夫	がん細胞パネルインフォーマティクス - 分子標的治療薬探索と感受性診断への応用		Drug Delivery System. :18			2003	385-393
矢守隆夫	がん細胞パネル - 抗がん剤探索およびポストゲノム研究における活用			癌と化学療法社	東京	2003	3 edition. 196-202
矢守隆夫	抗がん剤スクリーニングの変遷		化学療法の領域. 19, S-1			2003	16-21

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Tetsuji Nagao, Kazuyoshi Wada, Makiko Kuwagata, Madoka Nakagomi, Chiaki Watanabe, Shinsuke Yoshimura, Yoshiaki Saito, Kenji Usumi, Jun Kanno	Intrauterine position and postnatal growth in Sprague-Dawley rats and ICR mice.	Reproductive Toxicology	18	109-120	2004
Kanno J, Onyon L, Peddada S, Ashby J, Jacob E, Owens W.	The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: coded single-dose studies	Environ Health Perspect.	111 (12)	1550-8	2003 Sep
Kanno J, Onyon L, Peddada S, Ashby J, Jacob E, Owens W.	The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: dose-response studies Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology (Special Session on the Use of Genomics (Toxicogenomics, Proteomics) in Hazard and Risk Assessment) OECD.	Environ Health Perspect	111 (12)	1530 -49	2003 Sep
Hirabayashi Y, Yoshida K, Aizawa S, Kodama Y, Kanno J, Kurokawa Y, Yoshimura I, Inoue T	Evaluation of nonthreshold leukemogenic response to methyl nitrosourea in p53-deficient C3H/He mice.	Toxicol Appl Pharmacol.	190 (3)	251-61	2003 Aug 1
Yoon BI, Li GX, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Inoue T, Kobayashi K, Kanno J, Kim DY, Inoue T, Hirabayashi Y	Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue.	Environ Health Perspect	111 (11)	1411-20	2003 Aug
Fujiwara M, Kaneko T, Iwana H, Takemoto N, Tsunoo H, Kanno J, Ohkusa T, Okayasu I.	Inhibitory effects of Bifidobacterium longum on experimental ulcerative colitis induced in mice by synthetic dextran sulfate sodium.	Digestion.	67 (1-2)	90-5	2003
Matsunaga N, Kanno J, Yoshimura I	A statistical method for judging synergism: Application to an endocrine disruptor animal experiment- Synergism in endocrine disruptor studies	Environmetrics	14 (2)	213-222	2003
Ema, M., Harazono, A., Hirose, A. Kamata, E.	Protective effects of progesterone on implantation failure induced by dibutyltin dichloride in rats.	Toxicol. Lett.	143	233-238	2003
Ema, M., Miyawaki, E., Hirose, A., Kamata, E.	(2003) Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobutyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate.	Reprod. Toxicol	17	407-412	2003
Tanaka, M., Y. Hirabayashi, T. Sekiguchi, T. Inoue, M. Katsuki and A. Miyajima	Targeted disruption of oncostatin M receptor results in altered hematopoiesis	Blood	102	3154-62	2003
Takahashi, Y., T. Inoue, A. Gossler and Y. Saga	Feedback loops comprising Dll1, Dll3 and Mesp2, and differential involvement of Psen1 are essential for rostrocaudal patterning of somites	Development	130	4259-68	2003
Hirabayashi, Y., K. Yoshida, S. Aizawa, Y. Kodama, J. Kanno, Y. Kurokawa, I. Yoshimura and T. Inoue	Evaluation of nonthreshold leukemogenic response to methyl nitrosourea in p53-deficient C3H/He mice.	Toxicol Appl Pharmacol	190	251-61	2003

Tanaka, M., Y. Hirabayashi, T. Sekiguchi, T. Inoue, M. Katsuki and A. Miyajima	Targeted disruption of oncostatin M receptor results in altered hematopoiesis.	Blood	102	3154-62	2003
Takahashi, Y., T. Inoue, A. Gossler and Y. Saga	Feedback loops comprising Dll1, Dll3 and Mesp2, and differential involvement of Psen1 are essential for rostrocaudal patterning of somites.	Development	130	4259-68	2003
J. Matuskawa, K. Nakayama, T. Nagao, H. Ichijo, and T. Urushidani.	Role of ADP-ribosylation factor 6 in gastric acid secretion.	J. Biol. Chem.	278(38)	36470-36475	2003
K. Tashiro, T. Nagao, H. Kurose, H. Ichijo, and T. Urushidani.	Role of Rho in rabbit parietal cell.	J. Cell. Physiol.	197	409-417	2003
Sumie Yamanaka ;	Metal allergy and its screening methods associated with dental practice.	Dentistry in Japan	38	187-194	2002
Bai, J., Kitabatake, M., Toyozumi, K., Fu, L., Zhang, S., Dai, J., Sakai, J., Hirose, K., Yamori, T., Tomida, A., Tsuruo, T., and Ando, M.	Production of Biologically Active Taxoids by a Callus Culture of <i>Taxus cuspidata</i>	J Nat Prod	67	58-63	2004
Hama, K., Aoki, J., Fukaya, M., Kishi, Y., Sakai, T., Suzuki, R., Ohta, H., Yamori, T., Watanabe, M., Chun, J., and Arai, H.	Lysophosphatidic acid and autotaxin stimulate cell motility of neoplastic and non-neoplastic cells through LPA1	J Biol Chem			2001
Rengifo-Cam, W., Konishi, A., Morishita, N., Matsuoka, H., Yamori, T., Nada, S., and Okada, M.	Csk defines the ability of integrin-mediated cell adhesion and migration in human colon cancer cells: implication for a potential role in cancer metastasis	Oncogene.	23	289-97	2004
Mashino, T., Nishikawa, D., Takahashi, K., Usui, N., Yamori, T., Seki, M., Endo, T., and Mochizuki, M.	Antibacterial and antiproliferative activity of cationic fullerene derivatives	Bioorg Med Chem Lett.	13	4395-7	2003
Sugiyama, Y., Dan, S., Yoshida, Y., Akiyama, F., Sugiyama, K., Hirai, Y., Matsuura, M., Miyata, S., Ushijima, M., Hasumi, K., and Yamori, T	A large-scale gene expression comparison of microdissected, small-sized endometrial cancers with or without hyperplasia matched to same-patient normal tissue	Clin Cancer Res.	9	5589-600	2003
Dan, S., Shirakawa, M., Mukai, Y., Yoshida, Y., Yamazaki, K., Kawaguchi, T., Matsuura, M., Nakamura, Y., and Yamori, T.	Identification of candidate predictive markers of anticancer drug sensitivity using a panel of human cancer cell lines.	Cancer Sci	94	1074-82	2003
Tanabe, M., Izumi, H., Ise, T., Higuchi, S., Yamori, T., Yasumoto, K., and Kohno, K	Activating transcription factor 4 increases the cisplatin resistance of human cancer cell lines	Cancer Res	63	8592-5	2003
Bando, T., Iida, H., Tao, Z. F., Narita, A., Fukuda, N., Yamori, T., and Sugiyama, H.	Sequence specificity, reactivity, and antitumor activity of DNA-alkylating pyrrole-imidazole diamides	Chem Biol	10	751-8	2003
Shiwa, M., Nishimura, Y., Wakatabe, R., Fukawa, A., Arikuni, H., Ota, H., Kato, Y., and Yamori, T.	Rapid discovery and identification of a tissue-specific tumor biomarker from 39 human cancer cell lines using the SELDI ProteinChip platform	Biochem Biophys Res Commun.	309	18-25	2003
Matsuda, M., Yamori, T., Naitoh, M., and Okutani, K.	Structural revision of sulfated polysaccharide B-1 isolated from a marine <i>Pseudomonas</i> species and its cytotoxic activity against human cancer cell lines	Mar Biotechnol (NY)	5	13-9	2003
Umemura, K., Yanase, K., Suzuki, M., Okutani, K., Yamori, T., and Andoh, T.	Inhibition of DNA topoisomerases I and II, and growth inhibition of human cancer cell lines by a marine microalgal polysaccharide	Biochem Pharmacol.	66	481-7	2003



Suzuki, M., Watanabe, K., Fujiwara, S., Kurasawa, T., Wakabayashi, T., Tsuzuki, M., Iguchi, K., and Yamori, T.	Isolation of Peridinin-Related Norcarotenoids with Cell Growth-Inhibitory Activity from the Cultured Dinoflagellate of Symbiodinium sp., a Symbiont of the Okinawan Soft Coral Clavularia viridis, and Analysis of Fatty Acids of the Dinoflagellate	Chem Pharm Bull (Tokyo)	51	724-7	2003
Yamori, T.	Panel of human cancer cell lines provides valuable database for drug discovery and bioinformatics	Cancer Chemother Pharmacol.	52 Suppl 1	74-9	2003
Yang, L., Mashima, T., Sato, S., Mochizuki, M., Sakamoto, H., Yamori, T., Oh-Hara, T., and Tsuruo, T.	Predominant suppression of apoptosome by inhibitor of apoptosis protein in non-small cell lung cancer H460 cells: therapeutic effect of a novel polyarginine-conjugated Smac peptide	Cancer Res.	63	831-7	2003
Moore, M., Honma, M., Clements, J., Bolcsfoldi, G., Cifone, M., Delongchamp, R., Fellow, M., Gollapudi, B., Jenkinson, P., Kirby, P., Kirchner, S., Muster, W., Myher, B., O'Donovan, M., Oliver, J., Omori, T., Oudelhkim, M., Pant, K., Preston, R., Riach, C., San, R., Stankowski, F. Thakur, A., Wakuri, S., and Yoshimura, I.	Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay	International workgroup report-Plymouth, UK 2002. Mutat. Res.	540	127-140	2003
Honma, M., Izumi, M., Sakuraba, M., Tadokoro, S., Sakamoto, H., Wang, W., Yatagai, F., and Hayashi, M.	Deletion, rearrangement, and gene conversion; the genetic consequences of chromosomal double-strand breaks in human cells	Environ. Mol. Mutagen	42	288-298	2003
Wang, W., Seki, M., Otsuki, M., Tada, S., Takao, N., Yamamoto, K., Hayashi, M., Honma, M. and Enomoto, T.	The absence of a functional relationship between ATM and BLM, the components of BASC, in DT40 cells.	Biochem. Biophys. Acta (in press)			
Zhan L, Sakamoto H, Sakutaba M, Wu de S, Zhang LS, Suzuki T, Hayashi M, Honma M	Genotoxicity of microcystin-LR in human lymphoblastoid TK6 cells	Mutat Res.	557	1-6	2004
Yamada K, Suzuki T, Hakura A, Mizutani T, Saeki K	Metabolic activation of 10-aza-substituted benzo[a]pyrene by cytochrome P450 1A2 in human liver microsomes.	Mutat Res	557	159-165	2004
Thybaud V, Dean S, Nohmi T, de Boer J, Douglas GR, Glickman BW, Gorelick NJ, Heddle JA, Heflich RH, Lambert I, Martus HJ, Mirsalis JC, Suzuki T, Yajima N.	In vivo transgenic mutation assays.,	Mutat. Res	540	141-151	2003
Itoh T, Kuwahara T, Suzuki T, Hayashi M, Ohnishi Y.	Regional mutagenicity of heterocyclic amines in the intestine: mutation analysis of the cII gene in lambda/lacZ transgenic mice,	Mutat. Res	539	99-108	2003
鈴木孝昌	変異原性(イニシエーター)から見たリスク評価	Environ. Mutagen. Res	25	181-186	2003
鈴木孝昌	トランスジェニックマウス変異原性試験の有用性に関する研究	Environ. Mutagen. Res.	25	119-125	2003

20031271

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。