

①m/z 1478

N末 ASTSG(Q/K)SPFG(L/I)GR C末

②m/z 1498

N末 STSG(Q/K)STFG(L/I)GR C末

③m/z 1423

N末 HGDVNPVVHFFR C末

①、②については未だ不明であるが、③のアミノ酸配列はミエリン鞘に含まれているアミノ酸配列と一致していることがわかった。

D 考察

すでに報告したようにコイの視神経は切断という損傷を与えられても、形態的には1週間で再生が始まっている。しかし、再生が始まる前、すなわち切断後2~3日で神経細胞は変性を起こしている。このような状態でネクローシスを起こさずに再生するという事は切断端から再生を誘発する因子が放出あるいは合成されていることが考えられ、同時にそれらの物質が細胞体に移動していることが考えられる。そのような物質の散在を明らかにし、その構造を解析するために実験を行った。

視神経の再生の時間経過は魚類の網膜ということも考慮しても早い時期に起きており切断後(損傷後)1週間以内には再生が始まっていることが示された。この再生が始まる前、すなわち切断後2~3日では神経細胞は変性を起こしている。一旦変性を起こした後には再生が始まるのは損傷を細胞体に伝達する物質の存在が考えられた。種々の標本を TOMAS で解析した結果、切断した視神経には分子量約 14,000 の物質が出現した。一方、死後摘出した視神経からはこの大きさの分子は出現していない。また、この分子の移動を時間を追って検討した結果、1時間に0.5~1.0mm という速度で細胞体に向かっていった。

次に、この 14,000 の分子の構造解析を試みた。SDS-PAGE で電気泳動すると 14.4kDa 付近にバンドが見られた。このバンドをトリプシン処理し TOF 測定および Mas/Mas 測定しデータベースで検索するとコ

イの α -、 β -グロビンであった。これはきわめて当然のことであった。グロビンが再生を誘発する因子であるとは考えられなかった。14.4kDa のバンドに含まれる 14,000 の分子はデータベースへの登録もなかったためデノボシーケンス解析を行った。いくつかのアミノペプチドが検出されたが、その中で分子量 1,423 のポリペプチドはミエリン鞘に含まれているタンパク質のものと一致した。魚類の視神経はすべて有髄神経でシュワン細胞によって包まれている。

以上のことから、切断によってシュワン細胞に含まれているタンパク質が切断によって放出されたものと考えられた。

E 結論

- 1 魚類の視神経は切断後も再生する。再生を誘発する因子の解析を試みた。TOFMAS で解析すると切断神経から特異的に分子量約 14,000 のピークが見られた。
- 2 この物質は切断端から1時間におよそ 0.5~1mm の速度で細胞体側に向かって移動した。
- 3 SDS-PAGE で電気泳動すると 14.4kDa に濃いバンドが得られた。
- 4 これらは 分子量 16,645 の β -グロビンと分子量 15,451 の α -グロビンであった。
- 5 分子量約 14,000 のバンドをデノボシーケンスしたところシュワン細胞由来のタンパク質のアミノペプチドと一致した。
- 6 以上のことから、視神経の再生にはシュワン細胞由来のタンパク質が関与していると考えられた。

G 研究発表

1 霜田 幸雄

Glutamate responses of the retinal neurons recording with voltage sensitive dye

第 27 回日本神経科学大会 Neuro2004 (2004)

2 霜田 幸雄、長坂 安彦、重松 康秀

半導体蛍光色素 Q-dot のフローサイトへの応用
日本バイオイメーjing学会 第 13 回学術集
会 (2004)

3 霜田 幸雄、桑原 三佳子
脊椎動物の網膜神経細胞における GABA (γ -
アミノ酪酸) に対する応答
—膜電位感受性色素による計測—
日本バイオイメーjing学会 第 13 回学術集
会 (2004)

4 矢澤 徹、田中 克典、林 一樹、霜田 幸雄、
勝山 智男
状態空間イメージ法をもちいた自由行動ザリ
ガニ心筋活動電流の温度依存性の研究
日本バイオイメーjing学会 第 13 回学術集
会 (2004)

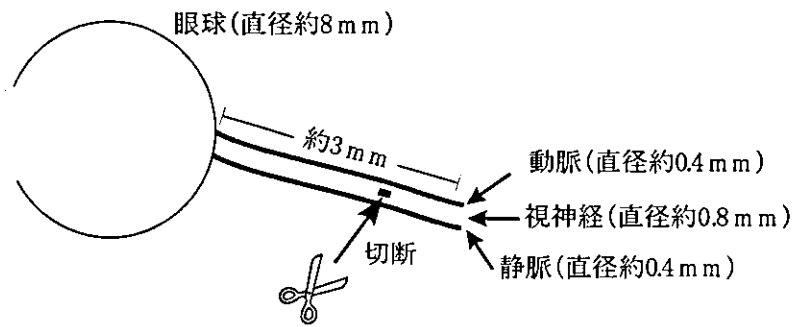


図1 魚類の眼球と視神経および血管の模式図

動脈、静脈が視神経の外側を走行している。外眼筋を切断した後眼球を軽く引き上げて視神経を切断した。

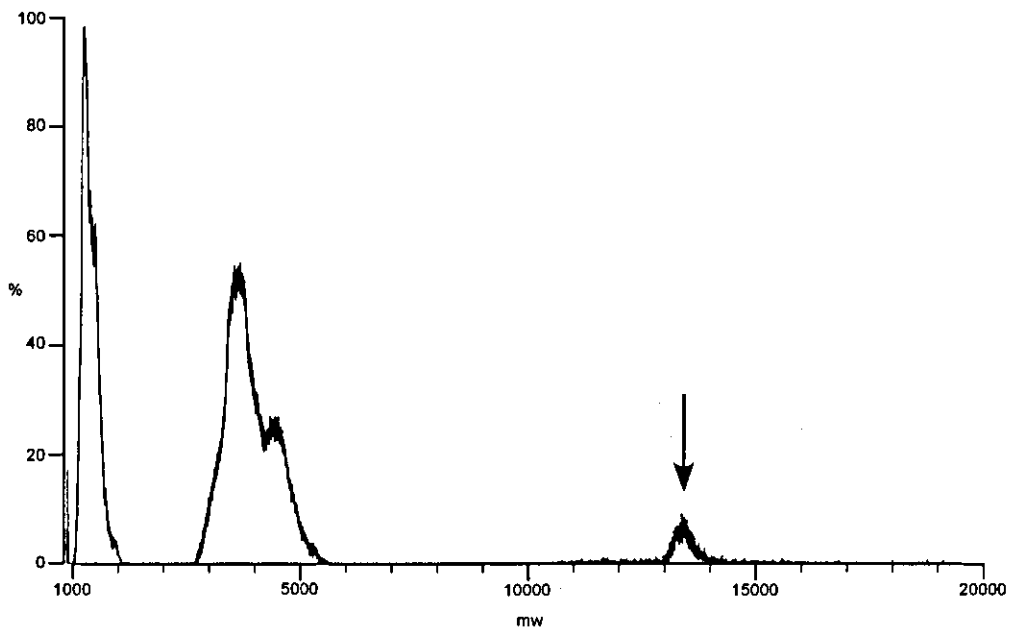


図2 切断直後の視神経を摘出し切断端から0.5mmで切片を作成しTOFMASで質量分析を行った。13,500の分子が見られる。

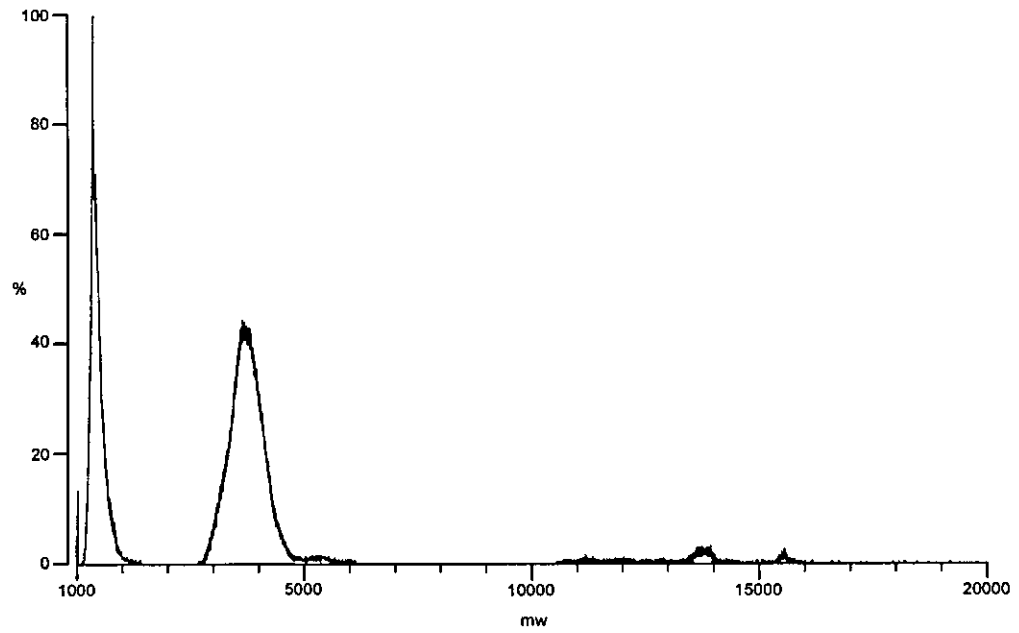


図3 視神経切断後2時間経過した後、切断端から0.5mm細胞体に近い部分のTOMAS解析

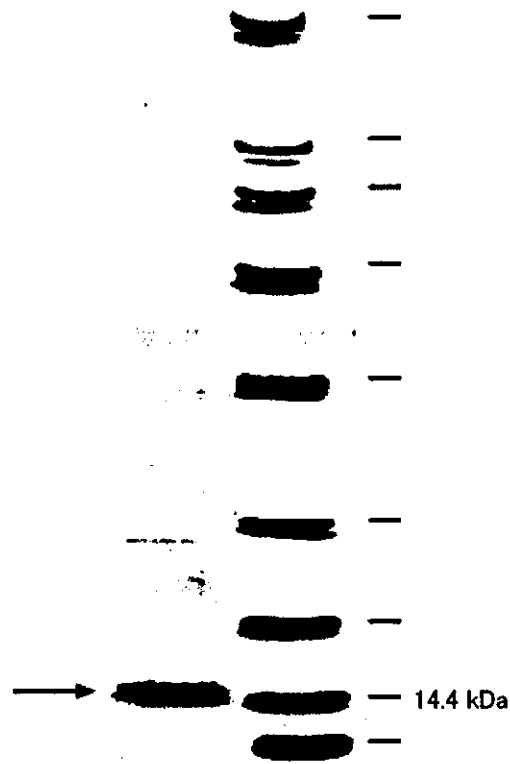
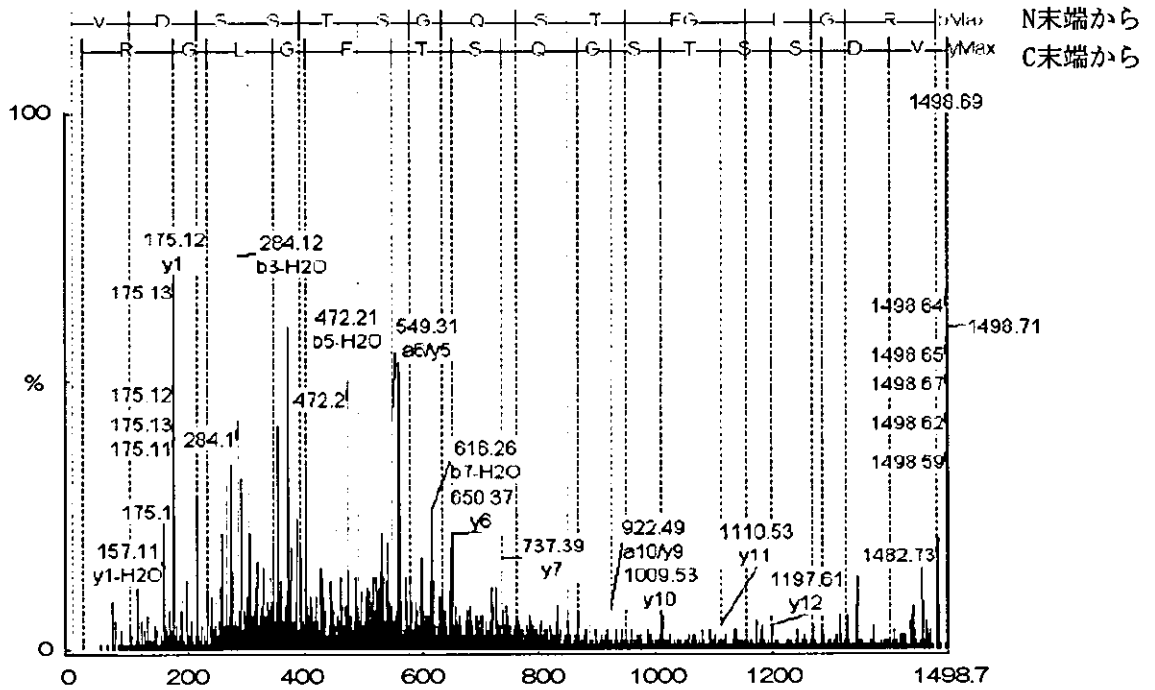
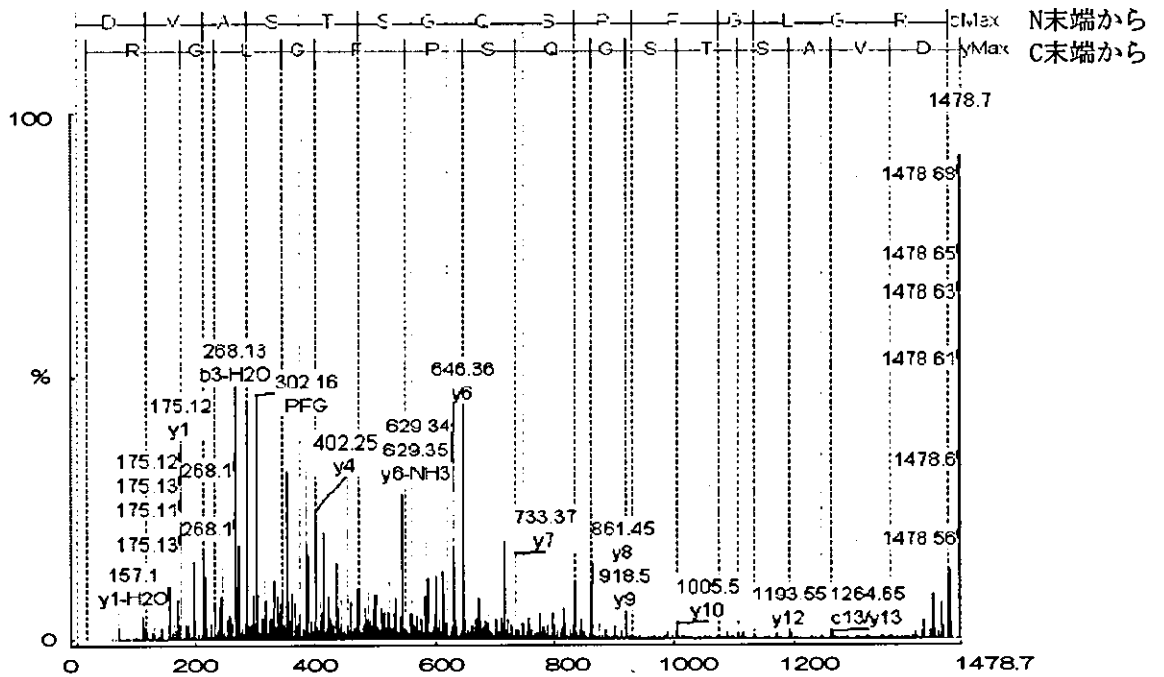


図4 SDS-PAGE(CBS染色)による電気泳動のパターン
14.4kDaに濃く染色されるバンドが現れる



1498.7 のポリペプチドのアミノ酸配列

N末端 STSG(Q/K)STFG(L/I)GR C末端



1478.7 のポリペプチドのアミノ酸配列

N末端 ASTSG(Q/K)SPFG(L/I)GR C末端

図5 デノボシーケンス解析の結果

ストレス応答・細胞死情報伝達過程のイメージング手法の開発

研究協力者：朽津 和幸 東京理科大学 理工学部 応用生物科学科 助教授
(東京理科大学 ゲノム創薬研究センター 細胞シグナル制御部門 副部門長)

研究要旨：血管炎・微小循環障害等の組織細胞障害の過程では、血管内で生成される活性酸素分子種が引き金となり、細胞のストレス応答・プログラム細胞死(アポトーシス)情報伝達系を介して誘導されることが明らかとなりつつある。従って、血管炎・微小循環障害等の再生治癒手法を開発するためには、細胞障害・細胞死の分子機構の解明が鍵を握ると考えられる。こうしたシグナル分子の時間的、空間的動態を解明するためには、バイオイメージング技術を用いて、シグナル分子を可視化することが必須である。そこで本研究では、感染防御応答・プログラム細胞死に関与する活性酸素などのシグナル分子や細胞内小器官を可視化解析すると共に、ストレス応答に関与するホルモンなどの一次性シグナル伝達分子をビオチン化した誘導体を新規に開発し、受容体分子を可視化解析する手法を開発した。

A. 研究目的

血管炎・微小循環障害等の組織細胞障害の過程では、血管内で生成される活性酸素分子種が引き金となり、細胞のストレス応答・プログラム細胞死(アポトーシス)情報伝達系を介して誘導されることが明らかとなりつつある。従って、血管炎・微小循環障害等の再生治癒手法を開発するためには、細胞障害・細胞死の分子機構の解明が鍵を握ると考えられる。こうしたシグナル分子の時間的、空間的動態を解明するためには、バイオイメージング技術を用いて、シグナル分子を可視化することが必須である。

そこで本研究では、ストレス応答過程における細胞内のシグナル分子の動態を生きたまま可視化する技術を開発することを目標とする。その第一歩として、ホルモン受容体の可視化と、病原微生物に対する植物の生体防御反応

としてのプログラム細胞死過程における細胞内小器官(オルガネラ)の動態の可視化を試みる。また可視化用の蛍光プローブの動態を定量的に解析するため、フローサイトメトリー法を応用する新規シグナル伝達解析技術の開発を試みる。

このようにして、一次性シグナル分子受容体の活性化と、二次性シグナル分子の動員を、バイオイメージング法を用いて可視化解析する技術を確立することにより、シグナル伝達系における各種細胞ごとの個性や情報の仕分けの分子機構など、従来の方法では解析できなかった、細胞レベルにおける情報処理に関連した高次の生命現象を統合的に解析する。

B. 研究方法

1. 全く未知である、乾燥・低温等の環境ストレス応答に関与するホルモン(アブシジン酸;

ABA)の受容体を可視化、探索するため、ビオチン標識化した ABA を化学合成した。さまざまな細胞種のプロトプラストを単離し、ビオチン化プローブと蛍光標識化アビジンを併用することにより、共焦点レーザー顕微鏡、多光子レーザー顕微鏡を用いて、プロトプラスト表面におけるABA 結合部を可視化し、その特性を定量的に解析した。

2. 各種プロトプラストやミトコンドリアなどの蛍光量をフローサイトメトリー法で定量的に解析する手法を開発し、ABA 結合部位の特性や細胞障害に伴うオルガネラの動態を定量的に解析した。

3. 特異的蛍光や化学発光プローブを、モデル培養細胞や個体に導入することにより、ストレス誘導性細胞死シグナル伝達過程における、細胞質 Ca^{2+} 濃度、活性酸素生成や、細胞内構造の動態を可視化解析した。

4. GFP 融合タンパク質を用いて、ストレス誘導性細胞死に関与する遺伝子産物の細胞内局在性を解析した。

C. 研究成果

1. 可視化法による受容体の特性の解析

(1)ビオチン化分子プローブを用いた受容体可視化手法の開発

アブシジン酸(ABA)は、乾燥、低温などの環境ストレスへの適応の鍵を握る重要なホルモンである。しかし、ABA 受容体の分子の実体は解明されておらず、その局在部位も定かではない。ホルモン等の一次性シグナル伝達分子が細胞膜上の受容体で認識された後、細胞内で情報が処理・伝達される機構を解析するためには、特異的な分子プローブを用いて可視化解析を行うことが有効と考えられ、その方法論の開発が重要な課題である。本研究では、

平成 14-15 年度に ABA をビオチン化した誘導体を合成し、蛍光ラベルされたアビジンを用いて、*Vicia faba* 気孔孔辺細胞表層の受容部位を三次元的に可視化することに成功した。この成果を受けて平成 16 年度は、この手法をさまざまな細胞種や、ゲノムの全塩基配列が決定されているシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)などに応用した。bioABA はシロイヌナズナの気孔閉鎖を誘導し、ABA と同様の生理作用を持っていた。bioABA と蛍光標識アビジンを処理した孔辺細胞プロトプラスト(GCP)を蛍光顕微鏡で観察したところ、細胞表層に bioABA の結合部位が見出された。共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)で GCP の断層像を撮影したところ、この ABA 受容部位は細胞膜上に不均一に分布していた(図1)。そこで観察された GCP の蛍光を定量的に解析するためにフローサイトメーターによる解析系を確立し、蛍光量の定量化を行った。GCP の蛍光量は bioABA 添加により増加し、この bioABA による蛍光量の増加は同時添加した ABA によって濃度依存的に阻害された。これらの結果は bioABA が細胞膜上の ABA 受容部位に特異的に結合していることを示している。また、GCP を事前にプロテアーゼで処理すると ABA によるプロトプラストの体積変化が抑制されると共に、bioABA の GCP への結合が抑制されたことから、細胞外の ABA が細胞表層のタンパク質で受容されると考えられた。

本実験系を ABA 受容体の可能性が議論されている膜結合性受容体型プロテインキナーゼの T-DNA 挿入変異株に応用した。GCP に対する bioABA の結合量を比較したところ、変異株と野生型株との間に有意差は見られなかったことから、主要な ABA 受容部位の実体は他に存在すると考えられた。

またこの手法を、オオムギ種子の糊粉層プロトプラストに応用し、ビオチン化プローブを用いて蛍光をフローサイトメトリー法により定量化することにより、孔辺細胞以外の細胞種における ABA 受容部位の性質を定量的に解析することに成功した。

(2)細胞膜脂質の可視化と、情報伝達への関与の解析

スフィンゴ脂質は周囲の膜リン脂質と異なり飽和脂肪酸を持つことで、コレステロールとともに構造的に堅く集合したマイクロドメインを形成する。ABA 受容部位は細胞膜上に不均一に散在することから、ABA 受容部位の局在と細胞膜の脂質やマイクロドメインとの関係を解析することを試みた。マイクロドメインは、シクロデキストリン(CDX)のコレステロール除去作用によって崩壊する。*Vicia faba* の表皮組織を CDX で処理したところ、ABA 誘導性の気孔閉鎖は抑制された。CDX 処理後にコレステロールを再充填したところ、直後では ABA の効果は抑制されたままだったが、3 時間後には ABA による気孔閉鎖能が回復した。GCP を CDX で処理したところ、一部の ABA 受容部位の細胞膜上の局在の変化が観察された。動物細胞においてマイクロドメインに特異的に結合するコレラ毒素 B の結合部位は GCP 上に見出されなかった。今後、植物細胞のマイクロドメイン染色には独自の方法を開発することが必要と思われる。以上の結果は、ABA シグナル伝達系が細胞膜のコレステロールなどの膜脂質により何らかの影響を受け、調節される可能性を示唆している。

2. 活性酸素誘導性細胞死情報伝達機構の可視化解析

(1) 同調的細胞死誘導系の構築

動植物の自然免疫システムが同一の起源から進化したことが明らかになりつつある。植物は動物のように移動して不利な環境から逃げるができないため、進化の過程で悪環境や外敵から自分を守る巧妙な仕組みを獲得してきた。例えば植物は免疫系を持たないが、病原菌の感染を認識し、生体防御応答を誘導する。この際、感染部位の細胞が自律的な細胞死を起こすと同時に、周辺の組織で迅速な防御遺伝子発現や抗菌性物質の合成などが誘導され、病原体の増殖と拡散を阻止する。この細胞死は、動物のアポトーシスとの類似点や相違点が指摘されているが、その機構は未解明の点が多い。そこで、病原菌由来のタンパク質を感染シグナルとして認識し、高度に同調的に自律的細胞死が誘導される実験系を構築し、可視化解析により分子機構の解明を試みた。

病原菌由来のタンパク質 cryptogein を感染シグナルとしてタバコ培養細胞(BY-2)に与えることにより、高度に同調的に自律的な細胞死を誘導でき、可視化解析も容易な新規の実験系の確立に成功した。

(2)細胞死過程における活性酸素とイオンチャネルの役割

細胞死の初期過程では、一過性で二相性の $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 変化、持続的な Cl^- efflux、早い一過的な変化と持続的な変化の二相性の pH 変化、さらに活性酸素生成が誘導されることが明らかとなり、特徴的なパターンを示すイオンの動員や活性酸素生成が細胞死の制御に関与していると考えられた。陰イオンチャネルを介した Cl^- efflux の誘導に $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 変化が必要であり、また Cl^- efflux に伴う膜電位脱分極が

[Ca²⁺]_{cyt} 変化に関与すると考えられた。[Ca²⁺]_{cyt} 変化は活性酸素生成に必要なが、逆に活性酸素生成を阻害しても[Ca²⁺]_{cyt} 変化に顕著な変化は見られないことから、Ca²⁺が活性酸素生成の制御に重要な役割を担っていると考えられた。

(3) 活性酸素種により活性化され、細胞死シグナル伝達系の鍵を握るCa²⁺チャネル分子の同定と機能解析

Ca²⁺動員の分子機構を明らかにするため、イネ、シロイヌナズナ、タバコにおいて、複数のCa²⁺チャネル候補遺伝子群を探索、同定・単離した。その結果、イネの電位依存性Ca²⁺チャネル候補遺伝子*OsTPC1*を単離し、構造を決定した。この新規タンパク質は、分子内にCa²⁺結合ドメインの候補構造を持ち、Ca²⁺シグナル伝達系に関与するタンパク質の構造と機能との連関を研究するモデル系として極めて重要と考えられたため、立体構造解析に着手している(班員の田之倉優博士(東京大学)との共同研究)。DNAプールを用いてノックアウト系統のスクリーニングを行ったところ、エキソン領域に、レトロトランスポゾン*Tos17*が挿入された系統を見出し、変異ホモ個体の単離にも成功した。

OsTPC1 過剰発現培養細胞は、病原菌(真菌)由来のタンパク質性の感染シグナルに対する感受性が高く、感染防御応答が亢進された。一方トランスポゾンの挿入による機能破壊株では、感染シグナル誘導性のMAPキナーゼ活性化や過敏感細胞死誘導などの感染防御応答が顕著に抑制された。機能破壊株に野生型の*OsTPC1* 遺伝子を導入した培養細胞では、感染防御応答能が野生型株と同程度まで回復した。すなわち *OsTPC1* は、感染防御応

答シグナル伝達系や、MAPキナーゼの活性化の鍵を握る重要な機能を果たすことが明らかとなった。

GFP融合タンパク質を発現させることにより*OsTPC1*の細胞内局在を解析した結果、*OsTPC1*は細胞膜上の特定部位にパッチ状に局在することが示唆された(図2)。

タバコBY-2細胞から相同遺伝子を単離し、発現抑制株を作成して、種々の刺激により誘導されるCa²⁺動員に対する*TPC1*チャネルの機能を解析したところ、ショ糖、サリチル酸、活性酸素によるCa²⁺動員において中心的な役割を果たすこと、感染シグナルによるCa²⁺動員の鍵を握るが、多種のチャネルの関与も考えられること、低浸透圧刺激によるCa²⁺動員にはほとんど関与しないことが明らかとなり、細胞膜Ca²⁺チャネルが機能分担していることが示唆された。

Ca²⁺感受性発光タンパク質(aequorin)を細胞質で発現させたイネ形質転換株を作出した。懸濁培養細胞及び再分化個体において、Ca²⁺動員を誘導する種々の刺激に対応した化学発光が観察され、細胞質のCa²⁺濃度の測定系を確立した。

ヒトには*TPC1*ファミリーに属する2種類の相同遺伝子*HsTPC1/2*が存在するが、機能は全く未解明である。以上の結果、*TPC1*ファミリーが多くのストレス応答シグナル伝達、とくに感染シグナル誘導性プログラム細胞死の制御において重要な役割を果たしている可能性が明らかとなった。

(4) 活性酸素生成の分子機構の解析

細胞死誘導過程における活性酸素発生制御の分子機構を解明するため、植物のNADPH oxidaseをコードする遺伝子を単離し、

ヒト培養細胞においてその活性を測定した。その結果、単独のサブユニットのみがCa²⁺とタンパク質リン酸化を介した相乗的な制御を受け活性化されるという、好中球等のphagocyteとは全く異なる新規な制御機構が存在することが明らかとなった(班員の鈴木和男博士(国立感染症研究所)との共同研究)。

(5)細胞死における細胞周期制御

(6) 感染シグナル誘導性細胞死における持続的なシグナル受容の必要性

植物の過敏感細胞死において、感染シグナルが受容される分子機構は未解明な部分が多い。シグナル伝達系や細胞死の細胞周期依存性を解析したところ、感染シグナルシグナルはどの時期にも認識され、活性酸素生成などの初期応答が誘導されたが、S期とG1期で感染シグナルが受容された時のみ、細胞周期が停止し、その後細胞死が誘導されることが明らかとなった。細胞死誘導に必要な感染シグナルの受容・伝達の機構を詳細に解析するため、感染シグナルによる処理時間を変えて、細胞死や防御関連遺伝子の発現を解析した結果、細胞死や細胞増殖阻害の誘導には3時間程度の処理が必要であり、0.5時間程度の処理では誘導されなかった。また、感染シグナルを途中で除去した細胞では、活性酸素生成や防御関連遺伝子の発現が抑えられることが明らかとなり、細胞死誘導とそれに関連する活性酸素生成や防御関連遺伝子等の発現誘導には、感染シグナルが持続的に受容されることが必要と考えられた。

(7)新規細胞死制御因子の同定と機能解析

プログラム細胞死は、植物、動物の双方において個体が生存するために適切な制御のもと個々の細胞を死に導く重要なメカニズムである。近年動物細胞のアポトーシス制御因子が数多く同定されたが、そのほとんどは、植物ゲノム中に相同遺伝子が見出されてい

ない。本研究では、新しい比較ゲノム解析の手法を開発し、新規細胞死制御因子の単離と機能解析を試みた。ヒトのアポトーシス抑制因子 IAP (inhibitor of apoptosis protein) は、その主要ドメインである BIR を介して caspase と結合することにより、その活性を抑制する。相同性検索法を工夫することにより、BIRドメインと類似のドメイン BLD (BIR-like domain) を持つ新規遺伝子 *AtILP1* (*Arabidopsis thaliana* IAP-like protein), *AtILP2* を同定し、さらに *AtILPs* の ortholog としてヒトゲノム中に機能未知の新奇遺伝子 *HsILP* を同定した(図3)。イメージング法を用いてヒトのアポトーシスを解析したところ、*HsILP* はヒト培養細胞 HEK293 において etoposide により誘導される apoptosis を抑制する活性を持つ(図4)ことが明らかとなり、本研究で採用した比較ゲノム解析手法の有効性を示している。

D. 考察

本研究の結果、ストレス応答を司るホルモン(ABA)の特異的なタンパク質性の結合部位が、細胞表面にパッチ状に点在する状態を生きたまま可視化することに成功した。さまざまな ABA の構造類縁体を用いた特性解析の結果、細胞膜上の ABA 受容体タンパク質を可視化していると考えられる。本研究で確立したシロイヌナズナの実験系は、今後 ABA 受容体の同定や性質の解析はもとより、一般に未知の受容体を可視化解析するために極めて有用と期待される。この方法を論文発表したところ、世界各国から非常に大きな反響があり、国内外の研究機関から共同研究の依頼を受け、着手している。

ストレス誘導性の活性酸素を介したプログラム細胞死を同調的に誘導できる実験系を開発することに成功した。生理的条件下で同調的に細胞死を誘導できる実験系において、さまざまなシグナル分子の時間的空間的動

態を可視化することによって、ストレス誘導性細胞死誘導過程におけるシグナル伝達の特異性決定機構の解明につながる事が期待される。生きた植物細胞プロトプラストにフローサイトメトリー法を適用する新規の実験法を開発し、ABA結合部位の特性を定量的に解析した。各種特異的蛍光プローブを細胞内に導入して解析した結果、タンパク質性感染シグナルにより誘導される過敏細胞死の分子機構が明らかとなった。

E. 結論

本研究の結果、一次性シグナル分子受容体の活性化と、二次性シグナル分子の動員を局所的にイメージング解析する技術を確立する目処を立てることができた。今後こうした実験手法を応用することにより、シグナル伝達系における各種細胞ごとの個性や情報の仕分けの分子機構など、従来の方法では解析できなかった、細胞レベルにおける情報処理に関連した高次の生命現象を統合的に解析できることが期待され、血管炎・微小循環障害等、血管内で生成される活性酸素分子種が引き金となり、細胞のストレス応答・プログラム細胞死(アポトーシス)情報伝達系を介して誘導される、組織細胞障害の分子機構の解明や再生治療手法の開発の重要な基礎となると期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) レフェリー付原著論文(英文)

Kadota, Y., Watanabe, T., Fujii, S., Maeda, Y.,

Ohno, R., Higashi, K., Sano, T., Muto, S., Hasezawa, S., Kuchitsu, K. (2005) Cell-cycle dependence of elicitor-induced signal transduction in tobacco BY-2 cells. *Plant Cell Physiol.* 46: 156-165

Karita, E., Yamakawa, H., Mitsuhara, I., Kuchitsu, K., Ohashi, Y. (2004) Three types of tobacco calmodulins characteristically activate plant NAD kinase at different Ca^{2+} concentration and pHs. *Plant Cell Physiol.*45: 1371-1379.

Kadota, Y., Watanabe, T., Fujii, S., Higashi, K., Sano, T., Nagata, T., Hasezawa, S., Kuchitsu, K. (2004) Crosstalk between elicitor-induced cell death and cell cycle regulation in tobacco BY-2 cells. *The Plant J.* 40(10):131-142.

Kurusu, T., Sakurai, S., Miyao, A., Hirochika, H., Kuchitsu, K. (2004) Identification of a putative voltage-gated Ca^{2+} -permeable channel (OsTPC1) involved in Ca^{2+} influx and regulation of growth and development in rice. *Plant Cell Physiol.* 45(6): 693-702

Kadota, Y., Furuichi, T., Ogasawara, Y., Goh, T., Higashi, K., Muto, S., Kuchitsu, K. (2004) Identification of putative voltage-dependent Ca^{2+} -permeable channels involved in cryptogin-induced Ca^{2+} transients and defense responses in tobacco BY-2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 317:823-830.

Kurusu, T., Yagala, T., Miyao, A., Hirochika, H., Kuchitsu, K. (2005) Identification of a putative voltage-gated Ca^{2+} channel as a key regulator of elicitor-induced

hypersensitive cell death and mitogen-activated protein kinase activation in rice. *Plant J.* in press.

Higashi, K., Takasawa, R., Yoshimori, A., Goh, T., Tanuma, S., Kuchitsu, K. (2005) Identification of a novel gene family, paralogs of an inhibitor of apoptosis proteins present in plants, fungi, and animals. *Apoptosis* in press.

Kitahata, K., Nakano, T., Kuchitsu, K., Yoshida, S., Asami, T. (2005) Biotin-labeled abscisic acid as a probe for investigating abscisic acid binding sites on plasma membranes of barley aleurone protoplasts. *Bioorg. Med. Chem.* in press.

2) 総説

朽津 和幸 (2004) 植物がストレスを感じる仕組みを「見る」ーホルモン受容部位や情報の伝達を可視化するバイオイメージング技術の開発ー、飯 哲夫 編「バイオデザインー生物の形と機能ー」p. 60-62 NIASアグリバイオサイエンス・シリーズ No. 1 独立行政法人農業生物資源研究所

来須孝光、朽津和幸 (2004) アブシジン酸情報伝達とイオンチャネル。「新版 植物ホルモンのシグナル伝達」p.112-124 細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ 20 秀潤社

2. 学会発表

1) 国際学会招待講演

Kuchitsu, K., Kadota, K., Kurusu, T., Ogasawara, Y. (2004) Roles of NADPH oxidase, voltage-gated Ca²⁺ channel and the cell cycle in “programmed” cell

death and innate immunity in plants. 4th International Peroxidase Meeting joint with 10th Myeloperoxidase Meeting.

2) 国内学会招待講演

東 克己、高澤 涼子、吉森 篤史、郷 達明、田沼 靖一、朽津 和幸 植物、動物、菌類に存在する inhibitor of apoptosis proteinの新規パラログはヒト培養細胞のアポトーシスを抑制する 第77回日本生化学会大会 ワークショップ「植物の情報伝達」

朽津 和幸 (2004) 植物の生体防御シグナル伝達系におけるカルシウムイオンの役割と細胞死・細胞周期のクロストーク 京都大学宇治キャンパスセミナー

朽津 和幸(2004) 植物の生体防御シグナル伝達系におけるカルシウムイオンの役割と細胞死・細胞周期のクロストーク 第 10 回北海道大学 Plant Science Seminar

朽津 和幸(2004) 感染シグナル誘導性過敏感細胞死の情報伝達と細胞周期制御機構の解析 公開シンポジウム「植物-病原微生物の分子応答機構の解明-耐病性作物の創出に向けて-」

朽津 和幸(2004) ストレス応答・細胞死情報伝達過程のバイオイメージング ナノメディシン公開シンポジウム「ナノバイオイメージングで切り開く先端的生体機能解析ー血管炎と微小循環血流障害における分子生理機能を解き明かすー」

来須孝光、朽津和幸 (2004)植物の感染防御応答シグナル伝達とカルシウムチャネル 日本植物生理学会若手セミナー

3) 学会発表

朽津和幸 植物の膜電位依存性Ca²⁺チャネル

- ルの生理機能と進化 基礎生物学研究所形質統御実験施設ワークショップ ヒメツリガネゴケの生物学
- 中星明日美、朽津和幸 ヒメツリガネゴケの膜電位依存性Ca²⁺チャンネル同定と機能解析 基礎生物学研究所形質統御実験施設ワークショップ ヒメツリガネゴケの生物学
- 鈴木七緒、奈良雅之、湯本史明、加藤有介、永田宏次、大橋祐子、朽津和幸、坂本章、田之倉優 赤外分光法によるタバコ由来カルモジュリンのCa²⁺結合に関する研究 第31回生体分子科学討論会
- Kuchitsu, K., Kurusu, T., Kadota, Y. (2004) Identification of putative voltage-dependent Ca²⁺ permeable channels playing a key role in elicitor-induced programmed cell death in plants. International Workshop on Plant Membrane Biology
- 門田康弘、藤井伸介、渡辺崇、東克己、武藤尚志、朽津和幸 感染防御シグナル伝達系の細胞周期依存性 植物細胞周期シンポジウム
- 大野良子、内宮博文、朽津和幸、梅田正明 シロイヌナズナのCDK活性を制御するキナーゼ群の機能解析 植物細胞周期シンポジウム
- 朽津和幸、来須孝光、門田康弘 植物のストレス応答シグナル伝達に関するCa²⁺チャンネルの同定と機能解析 日本植物細胞分子生物学会
- 中川 陽子、門田 康弘、桧垣 匠、東 克己、武藤 尚志、朽津 和幸 サリチル酸によるタバコ培養細胞BY-2の感染シグナル応答性の制御 日本植物学会第68回大会
- 朽津 和幸、門田 康弘、来須 孝光 感染シグナルシグナル伝達に関するカルシウムチャンネルの同定と機能解析 日本植物学会第68回大会
- 朽津 和幸、来須 孝光、古市 卓也、武藤 尚志、門田 康弘 Identification of putative voltage-dependent Ca²⁺ permeable channels playing a key role in elicitor-induced defense responses and programmed cell death in tobacco BY-2 cells. International workshop "Cell and Molecular Biology of Tobacco BY-2 cells"
- 門田 康弘、渡辺 崇、藤井 伸介、東 克己、佐野 俊夫、長田 敏行、馳澤 盛一郎 Crosstalk between elicitor-induced cell death and cell cycle regulation in tobacco BY-2 cells. International workshop "Cell and Molecular Biology of Tobacco BY-2 cells"
- 東 克己、高澤 涼子、吉森 篤史、郷 達明、田沼 靖一、朽津 和幸 Novel putative paralogs of inhibitor of apoptosis protein present in plants, fungi and animals inhibit apoptosis in human cells. 第77回日本生化学会大会
- 来須 孝光、矢柄 寿一、宮尾 安藝雄、廣近 洋彦、朽津 和幸 イネの感染防御応答に関するカルシウムチャンネルの同定と機能解析 「植物-病原微生物」若手研究会
- 賀屋 秀隆、東 克己、二瓶 晋、高澤 涼子、田沼 靖一、朽津 和幸 (2004) 比較ゲノム解析により見出された動植物の新奇プログラム細胞死関連因子の機能解析

- 「植物-病原微生物」若手研究会
 新井 修、濱本 宏、朽津 和幸 (2004) タンパク質性感染シグナルにより誘導されるタバコ実生の細胞死過程における細胞質カルシウムイオン動態の解析「植物-病原微生物」若手研究会
- 中川 陽子、門田康弘、桧垣匠、東克己、武藤尚志、朽津和幸 (2004) サリチル酸によるタバコ培養細胞BY-2の感染シグナル応答性の制御「植物-病原微生物」若手研究会
- Kuchitsu, K., Kurusu, T., Kadota, Y. (2004) Identification of putative voltage-dependent Ca^{2+} permeable channels playing a key role in elicitor-induced programmed cell death in plants. The 6th International Symposium on Plant Responses to Air Pollution and Global Changes: from Molecular Biology to Plant Production and Ecosystem.
- Kuchitsu, K., Kadota, K., Kurusu, T., Ogasawara, Y. (2004) Roles of voltage-gated Ca^{2+} channel and cell cycle regulatory machinery in programmed cell death and innate immunity in plants. 4th International Peroxidase Meeting joint with 10th Myeloperoxidase Meeting.
- Ogasawara, Y., Kadota, Y., Hiraoka, G., Yamagoe, S., Suzuki, K., Kuchitsu, K. (2004) Synergistic activation of a plant NADPH oxidase by Ca^{2+} and protein phosphorylation. 4th International Peroxidase Meeting joint with 10th Myeloperoxidase Meeting.
- 北畑信隆、藤原誠、朽津和幸、吉田茂男、浅見忠男 (2004) アブシシン酸内生量の変動を指標とした受容体型リン酸化酵素変異体の追究 日本植物化学調節学会第39回大会
- 朽津 和幸、来須 孝光、濱田 淳平、門田康弘 (2004) 植物の感染防御応答シグナル伝達に関与する Ca^{2+} の同定と細胞膜における局在性の解析 第13回日本バイオイメージング学会学術集会
- 青木 優和、山崎 大樹、星野 航、吉田茂男、浅見 忠男、朽津 和幸 (2004) イメージング法による植物のストレスホルモン(アブシジン酸)受容部位の特性解析 第13回日本バイオイメージング学会学術集会
- 朽津 和幸 イネのシグナル伝達系に関与する膜電位依存性カルシウムチャネルの単離と機能解析 公開シンポジウム「21世紀に期待される植物科学研究」
- 朽津 和幸、来須 孝光、門田 康弘 植物の環境ストレスの認識と応答に関与するカルシウムチャネルの同定と機能解析 第3回環境シンポジウム
- 大野 良子、門田 康弘、朽津 和幸 植物の環境ストレス応答と細胞周期制御機構の関係第3回環境シンポジウム
- 朽津 和幸 動植物のプログラム細胞死の比較ゲノム科学的解析に基づく、新規アポトーシス制御因子の探索 公開シンポジウム「ゲノム創薬のフロンティアを探る」
- 東 克己、高澤涼子、賀屋秀隆、二瓶 晋、田沼靖一、朽津和幸 植物におけるapoptosis 関連遺伝子の探索と機能解析 日本植物生理学会大会
- 小笠原 よう子、平岡 吾朗、山越 智、鈴木

和男、朽津 和幸 活性酸素発生に関与する NADPH oxidase は Ca^{2+} の結合とリン酸化により相乗的に活性化される

日本植物生理学会大会

朽津 和幸、来須 孝光、中星 明日美、門田 康弘 膜電位依存性 Ca^{2+} チャンネル TPC1 ファミリーの分布と生理機能 日本植物生理学会大会

大野 良子、門田 康弘、藤井 伸介、朽津 和幸 感染シグナル誘導性プログラム細胞死の細胞周期による調節 日本植物生理学会大会

Morishita, A., Amikura, K., Shinkawa, R., Nakatani, H., Oda, A., Toyomasu, T., Nakamura, T., Kuchitsu, K., Ishikawa, M. (2005) Partial characterization of rice plants overexpressing RAB24. 日本植物生理学会大会

斉藤 涼子、福田 直子、大宮 あけみ、伊藤 佳央、小関 良宏、朽津 和幸、中山真義 ペチュニアの覆輪形成に関与するフラボノイド系色素の生合成制御

3. 知的財産権の出願・登録状況

発明の名称: アポトーシス抑制剤

特許出願年月日: 平成16年8月24日

出願番号: 特願2004-244305

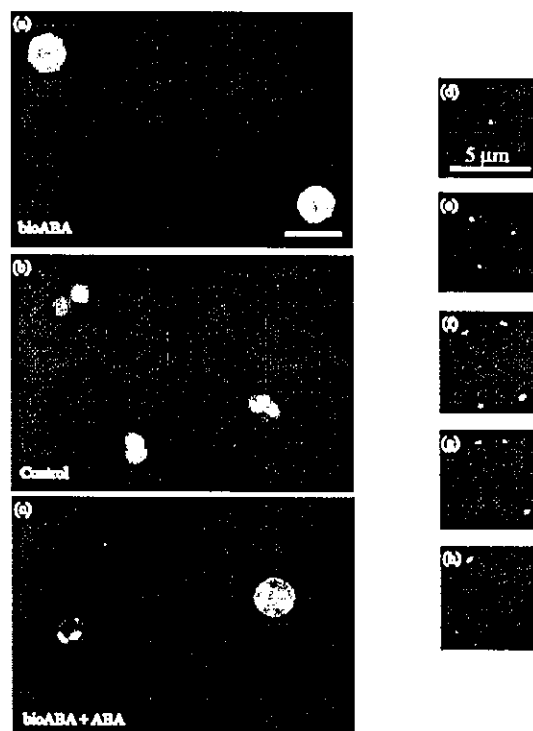


図1 ナノ分子プローブを用いて、シロイヌナズナプロトプラスト表層のアブシジン酸受容部位を生きたまま非破壊的に可視化した。(d)-(h)は共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡を用いた断層像。

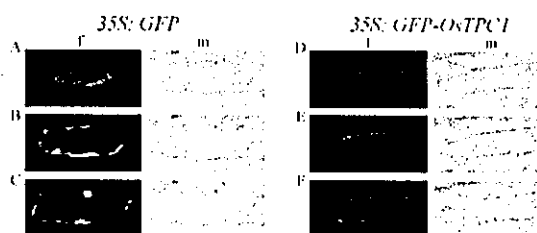


図2 GFP 融合タンパク質を用いて、新規細胞膜 Ca^{2+} チャンネル OsTPC1 の細胞内局在性を生きたまま非破壊的に可視化した。(共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡を用いた断層像)

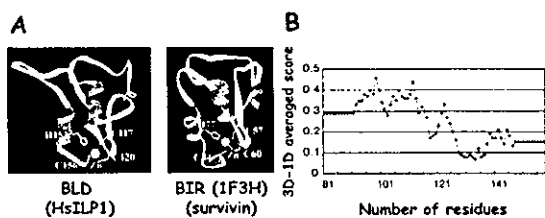


図3 ヒトの新規細胞死制御因子 HsILP1 の推定立体構造

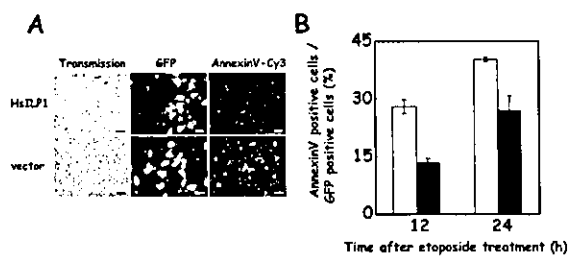


図4 ナノ分子プローブによる可視化法を用いた、新規細胞死制御因子 HsILP のアポトーシス抑制活性の解析

平成16年度 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 |
|---|---|---|--|----------------------------|-----------------------|------|----------|
| Hirose Y, Sekizuka E, Nakadate H, Ozawa T, Minamitani H, Oshio C, Ishii H | Role of oxidative stress in interaction between endothelial cells and platelets in diabetes | H Ishii, M Suematsu, K Tanishita, Suzuki H | Organ Microcirculation - A gateway to diagnostic and therapeutic interventions | Springer-Verlag | 東京 | 2005 | 239-241 |
| 上野太郎 多田隈尚史 船津高志 | 1分子イメージングによるシャペロン研究 | 小椋光、遠藤斗志也、森正敬、吉田賢右 | 細胞における蛋白質の一生 | 共立出版 | 東京 | 2005 | in press |
| 中山俊憲 | T細胞の分化成熟 キーワードで理解する免疫学イラストマップ | 鳥山一 | アレルギー・免疫 別冊 | 羊土社 | 東京 | 2004 | |
| 中山俊憲、 橋本香保子 | 内外性リガンド認識とIL-12による自然免疫系と獲得免疫系の橋渡し—NKT細胞活性化の新しい分子機構 | | Annual Review 免疫2005 | 中外医学社 | 東京 | 2004 | 88-92 |
| 永田宏次、 田之倉優 | タンパク質の発現 | 今中忠行 | ゲノミクス・プロテオミクスの新展開—生物情報の解析と応用— | エヌ・ティー・エス | 東京 | 2004 | 534-538 |
| Kato Y, Ito M, Kawai K, Nagata K, Lee W C, Tanokura M | Determinants of ligand specificity in groups I and IVWW domains. | Yagasaki K, Miura Y, Hattori M, Nomura Y | Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects13 | Kluwer Academic Publishers | Dordrecht Netherlands | 2004 | 31-35 |
| 来須孝光、 朽津和幸 | アブシジン酸のシグナル伝達とイオンチャネル | | 植物ホルモンのシグナル伝達 | 秀潤社 | 東京 | 2004 | in press |
| 来須孝光、 朽津和幸 | アブシジン酸情報伝達とイオンチャネル | | 植物ホルモンのシグナル伝達 | 秀潤社 | 東京 | 2004 | in press |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表雑誌 | 巻・号 | ページ | 出版年 |
|---|--|------------------------------|--------|-----------|------|
| 南谷晴之、塚田孝祐 | 臓器血流と酸素代謝の光・イメージング解析 | 医学のあゆみ | 210(3) | 200-204 | 2004 |
| Hirose Y, Nakadate H, Gokan H, Minamitani H, Sekizuka E, Oshio C, Izumida T, Sakamoto N, Shimozawa M, Yoshikawa T | Enhanced platelet aggregability in diabetic patients established by laser light scattering method | Microcirculation Annual | 20 | 49-50 | 2004 |
| Nakadate H, Sekizuka E, Oshio C, Hirose Y, Gokan H, Minamitani H | The effect of shear stress on the accelerated adhesion of diabetic platelets | Microcirculation Annual | 20 | 51-52 | 2004 |
| Shibuya N, Iwata Y, Minamitani H, Ushiyama A, Ohkubo C | Blood flow dynamics and intravascular oxygen tension of tumor microvessels in photodynamic therapy | Microcirculation Annual | 20 | 87-88 | 2004 |
| Terao S, Sekizuka E, Ishikawa M, Yamaguchi N, Minamitani H, Kawase T | Color imaging of platelets and leukocytes labeled with different fluorescent material in brain pial vessels of C57Bl/6 mouse | Microcirculation Annual | 20 | 99-100 | 2004 |
| Nagao T, Murayama K, Koshio O, Ohno H, Miura N, Takahashi K, Mabuchi A, Minamitani H, Suzuki K | 腎臓血管傷害のイメージング | Pharma Medica | 22(5) | 185-189 | 2004 |
| Tsukada K, Sekizuka E, Oshio C, Tsujioka K, Minamitani H | Red blood cell velocity and oxygen tension measurement in cerebral microvessels by double wavelength photoexcitation | J. Appl. Physiol. | 96 | 196-197 | 2004 |
| Ovejero C, Cavard C, Perianin A, Hakvoort T, Vermeulen J, Godard C, Fabre M, Chafey P, Suzuki K | Identification of the leukocyte cell-derived chemotaxin2 (LECT2) as a direct target gene of s-catenin in the liver | Hepatology | 40 | 167-176 | 2004 |
| Saito T, Okumura A, Watanabe H, Asano M, Ishida-Okawara A, Sakagami J, Sudo K, Hatano-Yokoe Y, Abo T, Iwakura Y, Suzuki K | Increase of Hepatic NKT cells in LECT2-deficient mice contributes to severe concanavalinA-induced hepatitis | J. Immunol. | 173 | 579-585 | 2004 |
| Suzuki, S., Honma K, Matsuyama T, Suzuki K, Toriyama K, Yamamoto K, Miyazaki K, Nakamura M, Yu k, Kumatori A | Critical roles of interferon regulatory factor-4 in CD11b high CD8 dendritic cell development | Proc. Natl. Acad. Sci. | 101 | 8981-8986 | 2004 |
| Ishida-Okawara, A., Ito-Ihara T, Muso E, Ono T, Saiga K, Nemoto K, Suzuki, K. | Neutrophil contribution to the crescentic glomerulonephritis in SCG/Kj mice | Nephrol. Dial. Transplant. | 19 | 1708-1715 | 2004 |
| Ohashi Y, Kameoka Y, Persad A S, Kohi F, Yamagoe S, Hashimoto K, Suzuki K | Novel missense mutation found in Japanese patient with myeloperoxidase deficiency | Gene | 327 | 195-200 | 2004 |
| Hoshino A, Hanaki K, Suzuki K, Yamamoto K | Applications of T-lymphoma labeled with fluorescent quantum dots to cell tracing markers in mouse body | Biochem. Biophys. Res. Comm. | 314 | 46-53 | 2004 |
| Hoshino A, Fujioka K, Oku T, Nakayama S, Suga M, Yamaguchi Y, Suzuki K, Yamamoto K | Quantum dots targeted to the assigned organelle in living cells | Microbiol. Immunol. | 48 | 985-994 | 2004 |

| | | | | | |
|---|---|------------------------------------|------|-----------|------|
| Nagai-Miura N, Shingo Y, Adachi Y, Ishida-Okawara A, Oharaseki T, Takahashi K, Nose S, Suzuki K | Induction of coronary arteritis with administration of CAWS (<i>Candida albicans</i> water-soluble fraction) depending on mouse strain | Immunol. Pharmacol. Immunotoxicol. | 26 | 527-543 | 2004 |
| Kameoka Y, Persad A S, Suzuki K | Genomic variations in myeloperoxidase gene in the Japanese population | Jpn. J. Infect. Dis. | 57 | S12-13 | 2004 |
| Aratani Y, Kura F, Watanabe H, Akagawa H, Takano Y, Suzuki K, Dinauer M C, Maeda N, Koyama H | In vivo role of myeloperoxidase for the host defense | Jpn. J. Infect. Dis. | 57 | S15-16 | 2004 |
| Muso E, Ito-Ihara T, Ono T, Imai E, Yamagata K, Akamatsu A, Suzuki K | Intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangitis with rapidly progressive glomerulonephritis | Jpn. J. Infect. Dis. | 57 | S17-18 | 2004 |
| Shinohara A, Hoshino A, Hanaki K, Suzuki K, Yamamoto K | On the cyto-toxicity caused by quantum dots | Microbiol. Immunol. | 48 | 669-676 | 2004 |
| Ito M, Nagata N, Yumoto F, Yamagoe S, Suzuki K, Adachi K, Tanokura M | ¹ H, ¹³ C, ¹⁵ N response assignments of the cytokine LECT2 | J. Biomolecular NMR | 29 | 543-544 | 2004 |
| Oharaseki T, Kameoka Y, Kura F, Persad A S, Suzuki K, Naoe S | Susceptibility loci to coronary arteritis in animal model of Kawasaki disease induced with <i>Candida albicans</i> -derived substances | Microbiol. Immunol. | | in press | 2005 |
| 鈴木和男 | バイオイメージングが切り開く新たな診断・治療評価技術 | 医学のあゆみ | 210 | 171 | 2004 |
| 長尾朋和、鈴木和男 | 血管炎初期反応のイメージング | 医学のあゆみ | 210 | 196-199 | 2004 |
| 長尾朋和、村山研、越尾修、大野尚仁、三浦典子、高橋啓、馬淵綾子、南谷晴之、鈴木和男 | 腎臓血管傷害のイメージング | Pharma Medica | 22 | 185-189 | 2004 |
| Suzuki T, Nishimaki-Mogami T, Kawai H, Kobayashi T, Shinozaki Y, Sato Y, Hashimoto T, Asakawa Y, Inoue K, Ohno Y, Hayakawa T, Kawanishi T | Screening of novel nuclear receptor agonist by a convenient reporter gene assay system using GFP derivatives | Phytomedicine | | in press | 2005 |
| Tanaka H, Komikado C, Shimada H, Takeda K, Namekata I, Kawanishi T, Shigenobu K | The R(-)enantiomer of efonidipine blocks T-type but not L-type calcium current in guinea-pig ventricular myocardium | J. Pharmacol. Sci. | | in press | 2005 |
| Kawai H, Suzuki T, Kobayashi T, Sakurai H, Ohata H, Honda K, Momose K, Namekata I, Tanaka H, Shigenobu K, Nakamura R, Hayakawa T, Kawanishi T | Simultaneous real-time detection of initiator and effector -caspase activation by double FRET analysis | J. Pharmacol. Sci. | | in press | 2005 |
| Kobayashi T, Kawai H, Suzuki T, Kawanishi T, Hayakawa T | Improved sensitivity of insulin in MALDI-TOF MS by premixing matrix CHCA with transferrin | Rapid Com. In Mass Spec. | 18 | 1156-1160 | 2004 |
| Kawai H, Suzuki T, Kobayashi T, Mizuguchi H, Hayakawa T, Kawanishi T | Simultaneous imaging of initiator/effector caspase activity and mitochondrial membrane potential during cell death in living HeLa cells | Biochem. Biophys. Acta | 1693 | 101-110 | 2004 |
| Hashimoto T, Ohata H, Momose K, Namekata I, | Itch-scratch response induced by lysophosphatidic acid in mice | Pharmacology | 72 | 51-56 | 2004 |

| | | | | | |
|--|--|-----------------------------------|--------|-----------|------|
| 大幡久之、新岡丈治、 金明淑、安藤さなえ、 山本雅幸、百瀬和享 | メカノセンシタイザーとしてのリゾホスファチ ジンの役割 | 日本薬理学雑誌 | 124 | 329-335 | 2004 |
| 川西徹 | 細胞傷害機構のイメージング | 実験医学 | 22 | 428-429 | 2004 |
| Murayam K, Ohuchi T, Yoshida K, Shibata Y, Sugawara F, Arai T | Protective properties of neoechinulin A against SIN-1-induced neuronal cell death | J. Biochem. | 136 | 81-87 | 2004 |
| 新井孝夫 | モノクローナル抗体をもちいたポリグルタミン 酸化チューブリンの神経細胞内局在 | 実験医学 | 22 | 81-87 | 2004 |
| Okada Y, Suzuki A, Takagi S, Hirai H, Saito R, Adachi A, Ueki M, Fujii T, Arai T | Polyglutamylation of tubulin during differen- tiation of neural precursor cells | Bioimages | | in press | 2005 |
| Ishikawa M, Sekizuka E, Zhang J H, Nanda A, Granger D N | Platelet and leukocyte adhesion in the cerebral microvasculature | Microcirculation Annual | 20 | 63-67 | 2004 |
| Majima T, | Soft X-ray imaging of living cells in water flash contact soft Z-ray microscope | Trends in Analytical Chemistry | 23 | 520-525 | 2004 |
| 眞島利和。雨宮邦昭 | 密着型フラッシュ軟X線顕微鏡 | Radioisotopes | 53 | 245-256 | 2004 |
| Zhang G, Tani T, Zako T, Funatsu T, | The immobilization of DNA on microstructur- ed patterns fabricated by maskless lithogra- phy | Sensors and Actuators B | 97 | 243-248 | 2004 |
| Zhang G., Tani T, Funatsu T, | Patterning of DNA nanostructures on silicon surface by electron beam lithography of self-assembled monolayer | Chem. Comm. | | 786-787 | 2004 |
| Ueno T, Taguchi H, Tadakuma H, Yoshida M, Funatsu T, | GroEL mediates protein folding with a two successive timer mechanism | Molecular Cell | 14 | 423-434 | 2004 |
| Okochi M, Nomura T, Zako T, Iizuka R, Ueda H, Funatsu T, Leroux M, Yohda M | Kinetics and bindingsites for interaction of II chaperonin: contiguous non-native substr- ate and shaperonin binding sites in archaeal prefoldin | J. Biol.Chem. | 279 | 31788-795 | 2004 |
| Tnii T, Hosaka T, Miyake T, Zhang T, Zako T, Funatsu T, Ohdomoari I | Preferential immobilization of biomolecules on silicon microstructure array by means of electron beam lothography on organosilane self-assembled monolayer resist | Appl. Surf. Sci. | 234 | 102-106 | 2004 |
| Zako tT, Funatsu T, Yohda M | Kinetic analysis of interactions between archaeal prefoldin and chaperonin | Recent Res. Develop. Biophys. | 3 | 475-483 | 2004 |
| Koike J., Wakao H., Ishizuka Y., Sato T., Hamaoki M., Seino K., Koseki H., Nakayama T. Taniguchi M. | Bone marrow allograft rejection mediated by a novel murine NK receptor, NKG2I | J. Exp. Med. | 199(1) | 137-143 | 2004 |
| Watanabe, H., Shimizu T Nishihira, J., Abe R., Nakayama T., Taniguchi M., Sabe H., Ishibashi T. Shimizu H. | Ultraviolet A-induced production of matrix metalloproteinase-1 is mediated by macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human dermal fibroblasts | J. Biol. Chem. | 279(3) | 1676-1683 | 2004 |
| Hasegawa A, Cheng X, Kajino K, Berezov A, Murata R, Nakayama T, Yagita H, Murali R, Greene M I | Fas disabling small exocyclic peptide mimetecs limit apoptosis by an unexpected mechanism | Proc. Natl. Acad. Sci. USA | 101 | 6599-6604 | 2004 |