

# 厚生労働科学研究費補助金

## 難治性疾患克服研究事業

### 特発性拡張型心筋症の原因解明に関する臨床 研究 (H15-難治-07)

平成 16 年度 総括研究報告書

主任研究者 小室 一成

平成 17 (2005) 年 3 月

# 目 次

I. 総括研究報告書	
特発性拡張型心筋症の原因解明に関する臨床研究-----	1
小室 一成	
II. 分担研究報告書	
1. 拡張型心筋症心臓片の提供-----	7
須磨 久善	
2. DNChip による解析-----	9
油谷 浩幸	
3. 心臓の組織的解析-----	11
寺崎 文生	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	14
IV. 研究成果の刊行物・別刷-----	19

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

特発性拡張型心筋症の原因解明に関する臨床研究

主任研究者 小室一成 千葉大学大学院医学研究院循環病態医科学 教授

研究要旨

特発性拡張型心筋症に対して行われた心臓縮小形成術（バチスタ手術）により得られた不全心筋を用いて遺伝子発現を網羅的に解析した。その結果に基づき平成 15 年度までには、不全心で発現の低下していた遺伝子群についてマウスモデルを作成して検討し、それらが心不全病態生理に重要であることを示唆した。平成 16 年度はそれらの解析を進めるとともに、新たに油谷らが同定した不全心で発現亢進のみられる遺伝子群についてのマウスモデルの作成・解析を行い、それらの心不全増悪因子としての意義を示唆するデータを得ている。寺崎らは、心筋細胞変性・細胞死に対する自己食食（autophagy）やユビキチン-プロテアソーム系（ubiquitin-proteasome system）などのタンパク質分解系の関与について解析を進め、それらの亢進に心筋内の酸化タンパクの集積が重要であることを明らかにした。また須磨らは平成 15 年度には、炎症性サイトカインの発現亢進と抗炎症性サイトカインの発現低下が特発性拡張型心筋症の予後不良因子であることを確認していたが、平成 16 年度にはその原因のひとつとして coxsackie B virus の持続性感染の関与を示唆した。寺崎らのデータや須磨らのデータは DNA chip やマウスの解析で得られた結果と密接に関連している可能性も示唆されたことから、今回同定された遺伝子群は、今後特発性拡張型心筋症を含めた心不全治療のターゲットとなりうると思われた。

影響を及ぼす可能性のある因子についても検索した。

（倫理面への配慮）

A. 研究目的

特発性拡張型心筋症の原因は未だ不明である。本研究では、心臓縮小手術（バチスタ手術）にて得られた不全心筋を用いて網羅的な遺伝子発現解析、病理解析を行う。その結果得られた情報をもとにマウスモデルを作成し、特発性拡張型心筋症の原因遺伝子の同定を目指すとともに心不全病態生理の解明を行う。

B. 研究方法

心臓縮小手術（バチスタ手術）にて得られた不全心筋から RNA サンプルを調整し、DNA chip 解析を行った。その結果によって得られたいくつかの遺伝子についてはマウスモデルを作成し、心不全病態生理への関与を検討した。不全心筋の病理学的検討も行った。また、一部のサンプルを利用してこれらの遺伝子発現に

すべての研究対象者に研究目的と方法につき説明を行い、承諾を得た。マウスは動物愛護の精神にのっとり、各施設の動物実験取り扱い規約に厳密に従って実験に用いた。

C. 研究結果

インフォームドコンセントを得、バチスタ手術の際に切除した症例の不全心筋サンプルを準備した。平成 15 年度には炎症性サイトカインの発現亢進と抗炎症性サイトカインの発現低下が特発性拡張型心筋症の予後不良因子であることを確認していたが、平成 16 年度にはその原因として DNA virus、RNA virus を含めた virus 感染について特発性拡張型心筋症と虚血性心疾患サンプルを用いて検索した。その結果、replicative な coxsackie B virus の持続性感染が特発性拡張型心筋症の

みで認められることが明らかとなった。

以前病理学的検討によって、自己食食 (autophagy) やユビキチン-プロテアソーム系 (ubiquitin-proteasome system) などのタンパク質分解系が特発性拡張型心筋症において認められる心筋細胞変性・細胞死に関与していることを報告した。平成 16 年度にはさらに詳細に検討した結果、特発性拡張型心筋症の変性心筋細胞において核近傍の細胞質にユビキチン高度陽性の顆粒の集簇が観察され、これらの顆粒は酸化タンパク質を標識する抗体に対しても陽性を示すことが分かった。また核酸の酸化の指標である 8OHdG はコントロール心筋に比べ特発性拡張型心筋症患者心筋において染色性が高度であった。

不全心筋の DNA chip 解析では、100 前後の遺伝子においてその発現の有意な変化が明らかとなった。不全心で発現の低下していた主な遺伝子として、心筋特異的転写因子 Csx/Nkx2.5、増殖因子受容体 EFGR、酸化分子制御因子 HSF-1 などをすでに報告した。平成 16 年度にはさらに発現の低下していた遺伝子として神経増殖因子、血管増殖因子を、発現の亢進していた遺伝子として、酸化酵素 12-lipoxygenase や autophagy 関連遺伝子が確認された。

Csx/Nkx2.5 や抑制型 EGFR のマウスモデル、HSF-1 の過剰発現マウスの解析については以前に報告した。平成 16 年度、抑制型 EGFR のマウスモデルをさらに解析した結果、ミトコンドリアの異常がみられ、その病理学的所見も特発性拡張型心筋症にきわめて類似していることが分かった。また HSF-1 の過剰発現マウスにおいては、心筋梗塞後リモデリングや圧負荷による心機能低下を抑制しうることを報告したが、さらにそのノックアウトの解析によって HSF-1 が生理的な肥大にも重要であることが分かった。さらに酸化酵素 12-lipoxygenase のノックアウトマウスの解析も開始し、12-lipoxygenase が心不全増悪因子として重要であることが明らかとなった。DNA chip において autophagy 関連遺伝子の発現亢進が認められたことや寺崎らの病理

学的検討結果から、autophagic cell death 誘導マウスモデルを作成した。その結果、autophagic cell death 誘導後、拡張型心筋症様の病態を示すことが確認された。

#### D. 考察

特発性拡張型心筋症の原因として virus の持続性感染の関与が示唆されているが、多くの症例で網羅的に検討した報告は少ない。本研究によって特発性拡張型心筋症の心臓には持続性の virus 感染が特異的にみられることが明らかとなった。Virus の持続感染は炎症性サイトカインの発現変化だけでなく、その他の心不全増悪因子の発現亢進例えば、酸化酵素 12-lipoxygenase や autophagy 関連遺伝子などにも関与している可能性がある。

特発性拡張型心筋症の変性心筋細胞においては、ユビキチン-プロテアソーム系が亢進し、ユビキチン陽性顆粒の集簇が観察されると同時に種々の酸化タンパク質の集積がみられることが分かった。すなわち、特発性拡張型心筋症の心筋細胞においては、酸化タンパク質が増加し、それらの凝集したものがタンパク分解系の基質となり病態生理に関与していることが示唆された。これらの結果は、不全心における酸化酵素 12-lipoxygenase や autophagy 関連遺伝子の発現亢進に合致する結果であると考えられた。

DNA chip を用いた網羅的遺伝子発現の解析とそれらに基づくマウスモデルの作成・解析によって、すでにいくつかの心不全関連遺伝子が同定され、今後治療のターゲットとなりうると考えられた。また抑制型 EGFR のマウスモデルや autophagic cell death 誘導マウスモデルは、特発性拡張型心筋症にきわめて類似した病態を示すことから、治療薬の開発にも重要なモデルとなりうる。

#### E. 結論

不全心筋を用いた網羅的な遺伝子発現解析と病理学的解析、分子生物学的解析、あるいは発生工学を応用

した総合的な解析は、特発性拡張型心筋症の原因遺伝子の同定や心不全病態生理の解明に有用である。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) Ohtsuka, M., Takano, H., Suzuki, M., Zou, Y., Akazawa, H., Tamagawa, M., Wakimoto, K., Nakaya, H., Komuro, I. Role of  $\text{Na}^{\text{+}}\text{-Ca}^{\text{2+}}$  exchanger in myocardial ischemia/reperfusion injury: evaluation using a heterozygous  $\text{Na}^{\text{+}}\text{-Ca}^{\text{2+}}$  exchanger knockout mouse model. *Biochem Biophys Res Commun* 314: 849-853, 2004.

(2) Miyauchi, H., Minamino, T., Tateno, K., Kunieda, T., Toko, H., Komuro, I. Akt negatively regulates the in vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway. *EMBO J* 23: 212-220, 2004.

(3) Matsuura, K., Nagai, T., Nishigaki, N., Oyama, T., Nishi, J., Wada, H., Sano, M., Toko, H., Akazawa, H., Sato, T., Nakaya, H., Kasanuki, H., Komuro, I. Adult cardiac Sca-1 positive cells differentiate into beating cardiomyocytes. *J Biol Chem* 279:11384-11391, 2004.

(4) Ohsawa, Y., Toko, H., Katsura, M., Morimoto, K., Yamada, H., Ichikawa, Y., Murakami, T., Ohkuma, S., Komuro, I., Sunada, Y. Overexpression of P104L mutant caveolin-3 in mice develops hypertrophic cardiomyopathy with enhanced contractility in association with increased endothelial nitric oxide synthase activity. *Hum Mol Genet* 13: 151-157, 2004.

(5) Funabashi, N., Sekine, T., Komuro, I. Patency of the left subclavian artery following implantation of stent graft to rectify a stenosis, as demonstrated by multislice computed tomography. *Heart* 90:362, 2004.

(6) Minamino, T., Miyauchi, H., Tateno, K., Kunieda, T., Komuro, I. Akt-induced Cellular Senescence: Implication

for Human Disease. *Cell Cycle* 3:449-451, 2004.

(7) Ohtsuka, M., Takano, H., Zou, Y., Toko, H., Akazawa, H., Qin, Y., Suzuki, M., Hasegawa, H., Nakaya, H., Komuro, I. Cytokine therapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization. *FASEB J* 18:851-853, 2004.

(8) Toko, H., Zou, Y., Minamino, T., Sakamoto, M., Sano, M., Harada, M., Nagai, T., Sugaya, T., Terasaki, F., Kitaura, Y., Komuro, I. Angiotensin II Type 1a Receptor Is Involved in Cell Infiltration, Cytokine Production, and Neovascularization in Infarcted Myocardium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:664-670, 2004.

(9) Minamino, T., Miyauchi, H., Yoshida, T., Tateno, K., Kunieda, T., Komuro, I. Vascular cell senescence and vascular aging. *J Mol Cell Cardiol* 36:175-183, 2004.

(10) Akazawa, H., Kudoh, S., Mochizuki, N., Takekoshi, N., Takano, H., Nagai, T., Komuro, I. A novel LIM protein Cal promotes cardiac differentiation by association with CSX/NKX2-5. *J Cell Biol* 164:395-405, 2004

(11) Kasai, H., Yao, A., Oyama, T., Hasegawa, H., Akazawa, H., Toko, H., Nagai, T., Kinugawa, K., Kohmoto, O., Maruyama, K., Takahashi, T., Nagai, R., Miyawaki, A., Komuro, I. Direct measurement of  $\text{Ca}^{\text{2+}}$  concentration in the SR of living cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 314:1014-1020, 2004.

(12) Zou, Y., Akazawa, H., Qin, Y., Sano, M., Takano, H., Minamino, T., Makita, N., Iwanaga, K., Zhu, W., Kudoh, S., Toko, H., Tamura, K., Kihara, M., Nagai, T., Fukamizu, A., Umemura, S., Iiri, T., Fujita, T., Komuro, I. Mechanical stress activates angiotensin II type 1 receptor without the involvement of angiotensin II. *Nat Cell Biol* 6:499-506, 2004.

(13) Ogihara, T., Asano, T., Katagiri, H., Sakoda, H., Anai, M., Shojima, N., Ono, H., Fujishiro, M., Kushiyama, A., Fukushima, Y., Kikuchi, M., Noguchi, N., Aburatani, H., Gotoh, Y., Komuro, I., Fujita, T. Oxidative stress induces

- insulin resistance by activating the nuclear factor-kappaB pathway and disrupting normal subcellular distribution of phosphatidylinositol 3-kinase. *Diabetologia* 47:794-805, 2004.
- (14) Takano, H., Hasegawa, H., Zou, Y. and Komuro, I. Pleiotropic Actions of PPAR Activators Thiazolidinediones in Cardiovascular Diseases. *Current Pharmaceutical Design* 10:2779-2786, 2004.
- (15) Minamino, T., Miyauchi, H., Yoshida, T., Tateno, K., Komuro, I. The role of vascular cell senescence in atherosclerosis: antisenesence as a novel therapeutic strategy for vascular aging. *Curr Vasc Pharmacol* 2:141-148, 2004.
- (16) Funabashi, N., Ishida, A., Yoshida, K., Komuro, I. Images in cardiovascular medicine. Double aortic arch with a compressed trachea demonstrated by multislice computed tomography. *Circulation* 110:e68-e69, 2004.
- (17) Hayashi, D., Kudoh, S., Shiojima, I., Zou, Y., Harada, K., Shimoyama, M., Imai, Y., Monzen, K., Yamazaki, T., Yazaki, Y., Nagai, R., Komuro, I. Atrial natriuretic peptide inhibits cardiomyocyte hypertrophy through mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. *Biochem Biophys Res Commun* 322:310-319, 2004.
- (18) Teramoto K, Daimon M, Hasegawa R, Toyoda T, Sekine T, Kawata T, Yoshida K, Komuro I. Acute effect of oral vitamin C on coronary circulation in young healthy smokers. *Am Heart J*: 148:300-305, 2004.
- (19) Funabashi, N., Kobayashi, Y., Kudo, M., Asano, M., Teramoto, K., Komuro, I., Rubin, G.D. New method of measuring coronary diameter by electron-beam computed tomographic angiography using adjusted thresholds determined by calibration with aortic opacity. *Circ J* 68:769-777, 2004.
- (20) Akazawa, H., Komazaki, S., Shimomura, H., Terasaki, F., Zou, Y., Takano, H., Nagai, T., Komuro I. Diphtheria toxin-induced autophagic cardiomyocyte death plays a pathogenic role in mouse model of heart failure. *J Biol Chem* 279:41095-41103, 2004.
- (21) Ikeda Y, Imai Y, Kumagai H, Nosaka T, Morikawa Y, Hisaoka T, Manabe I, Maemura K, Nakaoka T, Imamura T, Miyazono K, Komuro I, Nagai R, Kitamura T. Vasorin, a transforming growth factor beta-binding protein expressed in vascular smooth muscle cells, modulates the arterial response to injury in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:10732-10737, 2004.
- (22) Yamamoto, M., Komiyama, N., Koizumi, T., Nameki, M., Yamamoto, Y., Toyoda, T., Okuno, T., Tateno, K., Sano, K., Himi, T., Kuriyama, N., Namikawa, S., Yokoyama, M., Komuro, I. Usefulness of rapid quantitative measurement of myoglobin and troponin T in early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circ J* 68:639-644, 2004.
- (23) Toyoda, T., Akasaka, T., Watanabe, N., Akiyama, M., Neishi, Y., Kume, T., Komuro, I., Yoshida K. Evaluation of abnormal motion of interventricular septum after coronary artery bypass grafting operation: assessment by ultrasonic strain rate imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 17:711-716, 2004
- (24) Matsuura, K., Wada, H., Nagai, T., Iijima, Y., Minamino, T., Sano, M., Akazawa, H., Molckentin J.D, Kasanuki, H., and Komuro, I. Cardiomyocytes fuse with surrounding non-cardiomyocytes and re-enter the cell cycle. *J Cell Biol* 167:351-363, 2004.
- (25) Naito, A.T., Minamino, T., Tateno, K., Nagai, T., Komuro, I. Steroid-responsive thromboangiitis obliterans. *Lancet* 364:1098, 2004.
- (26) Komuro, I., Ohtsuka, M. Forefront of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger studies: role of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger—lessons from knockout mice. *J Pharmacol Sci* 96:23-26, 2004.
- (27) Toyoda, T., Baba, H., Akasaka, T., Akiyama, M., Neishi, Y., Tomita, J., Sukmawan, R., Koyama, Y., Watanabe, N., Tamano, S., Shinomura, R., Komuro, I., Yoshida, K. Assessment of regional myocardial strain by a novel

automated tracking system from digital image files. *J Am Soc Echocardiogr* 17:1234-1238, 2004.

(28) Iwanaga, K., Takano, H., Ohtsuka, M., Hasegawa, H., Zou, Y., Qin, Y., Odaka, K., Hiroshima, K., Tadokoro, H., Komuro, I. Effects of G-CSF on cardiac remodeling after acute myocardial infarction in swine. *Biochem Biophys Res Commun* 325:1353-1359, 2004.

(29) Iwamoto, T., Kita, S., Zhang, J., Blaustein, M.P., Arai, Y., Yoshida, S., Wakimoto, K., Komuro, I. Katsuragi, T. Salt-sensitive hypertension is triggered by Ca(2+) entry via Na(+)/Ca(2+) exchanger type-1 in vascular smooth muscle. *Nat Med* 10:1193-1199, 2004.

(30) Harada, M., Qin, Y., Takano, H., Minamino, T., Zou, Y., Toko, H., Ohtsuka, M., Matsuura, K., Sano, M., Nishi, J., Akazawa, H., Kunieda, T., Zhu, W., Hasegawa, H., Kunisada, K., Nagai, T., Nakaya, H., Yamauchi-Takahara, K., Komuro, I. G-CSF prevents cardiac Remodeling after myocardial infarction by activating Jak/Stat in cardiomyocytes. *Nat Med* 11:305-311, 2005.

(31) Takita J, Ishii M, Tsutsumi S, Tanaka Y, Kato K, Toyoda Y, Hanad R, Yamamoto K, Hayashi Y, Aburatani H. Gene expression profiling and identification of novel prognostic marker genes in neuroblastoma. *Genes Chromosomes Cancer* 40:120-132, 2004.

(32) Matsuo K, Galson DL, Zhao C, Peng L, Laplace C, Wang KZ, Bachler MA, Amano H, Aburatani H. Ishikawa H, Wagner EF. NFAT rescues osteoclastogenesis in precursors lacking c-Fos. *J Biol Chem* 279:26475-26480, 2004.

(33) Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, Midorikawa Y, Yamamoto S, Ihara S, Tokita S, Iwanari H, Ito Y, Nakano K, Nezu J, Tsunoda H, Yoshino T, Ohizumi I, Tsuchiya M, Ohnishi S, Makuuchi M, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H. Identification of Soluble Amino Terminal Fragment of Glypican-3 as a Serological Marker for Early Stage Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Research*

64:2418-2423, 2004.

(34) Joo A, Aburatani H. Morii E, Iba H, Yoshimura A. STAT3 MITF cooperatively induce cellular transformation through upregulation of c-fos expression. *Oncogene* 23:726-734, 2004.

(35) Athanasuleas CL, Buckberg GD, Stanley AW, Siler W, Dor V, Di Donato M, Menicanti L, Almeida de Oliveira S, Beyersdorf F, Kron IL, Suma H. Kouchoukos NT, Moore W, McCarthy PM, Oz MC, Fontan F, Scott ML, Accola KA; RESTORE group. Surgical ventricular restoration in the treatment of congestive heart failure due to post-infarction ventricular dilation. *J Am Coll Cardiol* 44:1439-1445, 2004.

(36) Horii T, Tambara K, Nishimura K, Suma H. Komeda M. Residual fibrosis affects a long-term result of left ventricular volume reduction surgery for dilated cardiomyopathy in a rat experimental study. *Eur J Cardiothorac Surg* 26:1174-1179, 2004.

(37) Fujioka S, Kitaura Y, Deguchi H, Shimizu A, Isomura T, Suma H. Sabbah HN. Evidence of viral infection in the myocardium of American and Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 94:602-605, 2004.

(38) Ueyama K, Bing G, Tabata Y, Ozeki M, Doi K, Nishimura K, Suma H. Komeda M. Development of biologic coronary artery bypass grafting in a rabbit model: revival of a classic concept with modern biotechnology. *J Thorac Cardiovasc Surg* 127:1608-1615, 2004.

## 2. 学会発表

小室 一成

(1) 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会ランチョンセミナー(平成 16 年 3 月 27 日～29 日、東京) 学術集会ランチョンセミナー「Inverse agonist としての ARB」

(2) 第 65 回冠循環器談話会(平成 16 年 3 月 28 日、東

京)「心筋障害と心不全」

(3) 日本内科学会北陸支部主催第 32 回生涯教育講演会(平成 16 年 6 月 6 日、石川)「心不全治療の新たな展望」

(4) 日本心臓病学会アドバンスコース・ランチョンセミナー(平成 16 年 6 月 20 日、東京)「Cardiovascular continuum における ARB の有用性～Inverse Agonist の可能性～」

(5) 第 77 回日本内分泌学会ランチョンセミナー(平成 16 年 6 月 24 日、京都)「心臓におけるアルドステロンの作用機構」

(6) 第 80 回日本獣医循環器学会学術集会(平成 16 年 6 月 27 日、東京)「心臓の発生と再生」

(7) 第 52 回日本心臓病学会学術集会(平成 16 年 9 月 14 日、京都)「心臓障害における AT1 受容体の役割とその新しい活性化機構」

(8) 第 52 回日本心臓病学会学術集会ファイアースайд・シンポジウム(平成 16 年 9 月 14 日、京都)「21 世紀における慢性心不全治療の新展開」

(9) 第 32 回日本救急医学会総会・ランチョンセミナー(平成 16 年 10 月 27 日、千葉)「慢性心不全治療法の進歩と将来展望」

(10) 第 8 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会・ランチョンセミナー(平成 16 年 11 月 25 日、宮崎)「THE VALUE Study」

(寺崎文生)

(11)The ubiquitin-proteasome system is enhanced in degenerated cardiomyocytes of dilated cardiomyopathy.

第 68 回日本循環器学会 2004 年 3 月

(12)The Ubiquitin-Proteasome System is Enhanced in Degenerating Cardiomyocytes of Dilated Cardiomyopathy 第 8 回日本心不全学会 2004 年 9 月

(13)Ubiquitin-proteasome system is enhanced

in protective response to oxidative stress in cardiomyocytes of dilated cardiomyopathy.

第 69 回日本循環器学会 2005 年 3 月

(須磨久善)

(14)須磨久善:「慢性冠動脈疾患:PCI と低侵襲冠動脈バイパスの選択」第 52 回日本心臓病学会学術集会、平成 16 年 6 月 14 日、京都。

(海外)

(1) Komuro I. Expert Workshop Asia Pacific Novel Aspects of Endothelial Dysfunction. (January 12-15, 2004, Singapore, China) Introduction of Telomere Restores Endothelial Dysfunction Associated with Aging.

(2) Komuro I. 2004 International Society for Heart Research World Congress. (August 6-11, 2004, Brisbane, Australia) A novel mechanism of AT1 activation.

(3) Komuro I. The La-Jolla-Capri (Rome)-Research Conference. (October 1-3, 2004, Capri, Italy) G-CSF prevents left ventricular remodeling after myocardial infarction.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- |           |      |
|-----------|------|
| 1. 特許取得   | 該当なし |
| 2. 実用新案登録 | 該当なし |
| 3. その他    | 該当なし |



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

拡張型心筋症心臓片の提供

分担研究者 須磨久善 葉山ハートセンター 院長

研究要旨

炎症性のサイトカインが心不全の発症、進展に関与していることが示唆されている。平成 15 年度に我々は、手術で得られた心筋サンプルを用いて不全心におけるサイトカインの発現を調べ、その臨床的意義について検証し、炎症性サイトカインの発現亢進と抗炎症性サイトカインの発現低下は特発性拡張型心筋症の予後不良因子であることを示唆した。特発性拡張型心筋症の原因として virus の持続性感染の関与が示唆されているが、多くの症例で網羅的に検討した報告は少ない。そこで本年度は炎症を惹起させる原因としての virus 感染について検討した。その結果、特発性拡張型心筋症の心臓には持続性の virus 感染が特異的にみられ、炎症性サイトカインの発現変化だけでなく、その他の心不全増悪因子の発現亢進などにも関与している可能性があることが示唆された。

A. 研究目的

重症心不全を伴う心筋症に対して各種の薬剤治療が試みられているが今なお心移植の必要性は高い。しかし移植治療の特殊性に基づく種々の制約により、移植を望む全ての人々に必要な時にいつでも提供出来る訳ではない。このような状況の下で、薬剤治療の限界と臓器置換との大きな間隙を埋めるべく自己心修復手術が注目され、左室部分切除術、心室内パッチ形成術、僧帽弁修復術などが試みられている。我々は以前より特発性拡張型心筋症を含めた重症心不全患者に対し左室縮小手術を行っており良好な成績をおさめているが、長期予後の改善に関しては未だに不良である。平成 15 年度は手術で得られた心筋サンプルを用いて不全心におけるサイトカインの発現を調べ、その臨床的意義について検証し、特発性拡張型心筋症の病態生理には心臓における炎症性サイトカインと抗炎症性サイトカインの発現のバランスが重要であり、術後臨床経過の予後にも関与している可能性があることを示唆した。一方、以前より特発性拡張型心筋症の病態生理に virus 感染が関与していることが示唆されている。そこで本

年度は炎症を惹起させる原因としての virus 感染について検討した。

B. 研究方法

左室縮小形成術を受けた特発性拡張型心筋症患者 47 例を対象とした。対照には虚血性心疾患サンプル 28 例を用いた。左室縮小形成術時切除心筋の一部を光顕的に検索した。DNA virus については通常の genomic PCR によって、RNA virus については RT PCR によって検討した。それぞれのサンプルの少なくとも 5 か所について検討した。

（倫理面への配慮）

すべての研究対象者に研究目的と方法につき説明を行い、承諾を得た。

C. 研究結果

特発性拡張型心筋症から得られたサンプルにて PCR を行ったところ、adenovirus、parvovirus、herpes virus、EB virus などの DNA virus については全く検出されなかった。Mumps、influenza virus などの RNA virus も検

出されなかったが、*entovirus* である *coxsackie B virus* が32%の頻度で検出された。特に *minus-strand viral RNA* が検出されていることから、心筋内で *replication* がおこなわれていることが示唆された。これらに対して虚血性心疾患サンプルでは、*coxsackie B virus* を含めたすべての *virus* が検出されなかった。

#### D. 考察

特発性拡張型心筋症の原因として *virus* の持続性感染の関与が示唆されているが、多くの症例で網羅的に検討した報告は少ない。本研究で DNA *virus*、RNA *virus* を含めた検索を特発性拡張型心筋症と虚血性心疾患サンプルについて行ったところ、*replicative* な *coxsackie B virus* が特発性拡張型心筋症のみで認められることが明らかとなった。*Virus* の持続感染は様々な炎症を惹起することが知られていることから、昨年度我々が報告したサイトカインの発現バランスの変化やその他の心不全関連遺伝子の発現にも関与している可能性がある。

#### E. 結論

特発性拡張型心筋症の心臓には持続性の *virus* 感染が特異的にみられ、炎症性サイトカインの発現変化だけでなく、その他の心不全増悪因子の発現亢進などにも関与している可能性がある。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) Athanasuleas CL, Buckberg GD, Stanley AW, Siler W, Dor V, Di Donato M, Menicanti L, Almeida de Oliveira S, Beyersdorf F, Kron IL, Suma H, Kouchoukos NT, Moore W, McCarthy PM, Oz MC, Fontan F, Scott ML, Accola KA; RESTORE group. Surgical ventricular restoration in the treatment of congestive heart failure due to post-infarction

ventricular dilation. *J Am Coll Cardiol* 44:1439-1445, 2004.

(2) Horii T, Tambara K, Nishimura K, Suma H, Komeda M. Residual fibrosis affects a long-term result of left ventricular volume reduction surgery for dilated cardiomyopathy in a rat experimental study. *Eur J Cardiothorac Surg* 26:1174-1179, 2004.

(3) Fujioka S, Kitaura Y, Deguchi H, Shimizu A, Isomura T, Suma H, Sabbah HN. Evidence of viral infection in the myocardium of American and Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 94:602-605, 2004.

(4) Ueyama K, Bing G, Tabata Y, Ozeki M, Doi K, Nishimura K, Suma H, Komeda M. Development of biologic coronary artery bypass grafting in a rabbit model: revival of a classic concept with modern biotechnology.

*J Thorac Cardiovasc Surg* 127:1608-1615, 2004.

#### 2. 学会発表

・須磨久善：「慢性冠動脈疾患:PCI と低侵襲冠動脈バイパスの選択」第 52 回日本心臓病学会学術集会、平成 16 年 6 月 14 日、京都。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

DNA chip による解析

分担研究者 油谷浩幸 東京大学国際・産学共同センター

ゲノム科学・機能ゲノミクス 教授

## 研究要旨

特発性拡張型心筋症は一部の原因遺伝子が解ってきたものの大部分は原因不明である。そこで本研究では特発性拡張型心筋症に対して行われた心臓縮小形成術（バチスタ手術）により得られた不全心筋を用いて遺伝子発現を網羅的に解析（DNA chip 解析）することによって、特発性拡張型心筋症あるいは心不全発症の分子機序を明らかにすることを目的とした。平成 15 年度の解析の結果、心筋保護作用があると報告されている遺伝子を含めた発現低下遺伝子群とアポトーシス促進因子を含んだ発現増加遺伝子群を確認したが、本年度はさらにサンプルの解析をすすめた。その結果、心不全防御因子として神経増殖因子、血管新生関連因子を、心不全増悪因子として酸化酵素 12-lipoxygenase、オートファジー関連遺伝子を同定した。これらの遺伝子の改変マウス作成や遺伝子発現と臨床データとの関連の検討は、新たな心不全治療のターゲット開発の基盤研究となりうると考えられる。

### A. 研究目的

特発性拡張型心筋症は一部の原因遺伝子が解ってきたものの大部分は原因不明であり、また原因遺伝子が判明したものでも、その遺伝子の変異により収縮不全をきたす分子機序については未だ不明である。また、欧米における心不全のほとんどは虚血性であり、拡張型心筋症は少ないことより、多数の拡張型心筋症の不全心筋を用いた網羅的な遺伝子発現の解析は行われていない。分担研究者の須磨は 10 年以上前より特発性拡張型心筋症に対する心不全治療として積極的にバチスタ手術を行っており、現在既に解析可能な心筋片が 50 以上となっている。バチスタ手術で得られる心筋片は大変新鮮であることより、RNA の分解が少なく、DNAchip 解析には最適である。そこでこれらのサンプルを用いて遺伝子発現を網羅的に解析することによって、特発性拡張型心筋症あるいは心不全発症の分子機序を明らかにする。

### B. 研究方法

左室縮小形成術を受けた特発性拡張型心筋症患者 30 例を対象とした。対照には正常組織所見を示した心筋生検サンプルを用いた。RNA の抽出にはグアニジンフェノール法を用いた。Chip 解析には、Affymetric 社製ヒト Gene Chip を用いて解析した。

（倫理面への配慮）

すべての研究対象者に研究目的と方法につき説明を行い、承諾を得た。

### C. 研究結果

不全心を用いて DNAchip 解析をした結果、100 前後の遺伝子においてその発現が大きく変化していることが確認された。平成 15 年度までの解析にて不全心で発現の低下していた主な遺伝子としては心筋特異的転写因子 Csx/Nkx2.5、増殖因子受容体 FGFR や EGFR、カベオラの形成に重要な caveolin-3、抗酸化分子制御因子 HSF-1 などが確認された。これに対して、不全心にて発現の亢進していた主な遺伝子としては、アポトーシス促進因子 AIF が確認された。本年度はさらに心不全防御因子として神経増殖因子、血管新生関連因

子を、心不全増悪因子として酸化酵素 12-lipoxygenase、オートファジー関連遺伝子を同定した。

#### D. 考察

特発性拡張型心筋症の不全心筋では、様々な遺伝子の発現パターンが変化していることが明らかとなった。不全心で発現低下のみられた心筋特異的転写因子 Csx/Nkx2.5 については小室らがすでに報告しているように心筋保護作用があり、一部の拡張型心筋症の病態生理に重要である可能性が示唆された。平成 15 年度までに我々が同定した心不全防御因子である増殖因子受容体 EGFR や抗酸化分子制御因子 HSF-1 については小室らがマウスモデルを作成・解析した。昨年度小室らは、EGFR を抑制すると心不全になることを報告していたが、その詳細な解析により病態がきわめて拡張型心筋症に類似していることが明らかとなっている。また、HSF-1 過剰発現マウスにおいて、心筋梗塞後リモデリングや圧負荷による心機能低下を抑制しうる事が小室らにより報告されていたが、そのノックアウトの解析によって生理的な肥大にも HSF-1 が重要であることも明らかとなりつつある。以上のように本研究に用いられた網羅的な遺伝子発現の解析は信頼性があり、より特異的で重要な遺伝子を同定できる可能性があると考えられた。

#### E. 結論

多数の拡張型心筋症の不全心筋を用いた網羅的な遺伝子発現の解析は非常に有用であり、得られた結果をマウスモデルにて解析することによって特発性拡張型心筋症あるいは心不全発症の分子機序を明らかにしうる事が示唆された。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Takita J, Ishii M, Tsutsumi S, Tanaka Y, Kato K, Toyoda Y, Hanad R, Yamamoto K, Hayashi Y, Aburatani H. Gene expression profiling and identification of novel prognostic marker genes in neuroblastoma. *Genes Chromosomes Cancer* 40:120-132, 2004.
- (2) Matsuo K, Galson DL, Zhao C, Peng L, Laplace C, Wang KZ, Bachler MA, Amano H, Aburatani H, Ishikawa H, Wagner EF. NFAT rescues osteoclastogenesis in precursors lacking c-Fos. *J Biol Chem* 279:26475-26480, 2004.
- (3) Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, Midorikawa Y, Yamamoto S, Ihara S, Tokita S, Iwanari H, Ito Y, Nakano K, Nezu J, Tsunoda H, Yoshino T, Ohizumi I, Tsuchiya M, Ohnishi S, Makuuchi M, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H. Identification of Soluble Amino Terminal Fragment of Glypican-3 as a Serological Marker for Early Stage Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Research* 64:2418-2423, 2004.
- (4) Joo A, Aburatani H, Morii E, Iba H, Yoshimura A. STAT3 MITF cooperatively induce cellular transformation through upregulation of c-fos expression. *Oncogene* 23:726-734, 2004.

##### 2. 学会発表

該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

## 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

### 分担研究報告書

#### 心臓の組織的解析

分担研究者 寺崎 文生 大阪医科大学第三内科 講師

#### 研究要旨

特発性拡張型心筋症の進行過程において心筋細胞変性や細胞死が証明され、さらに近年、心筋細胞変性・細胞死に自己貪食（autophagy）やユビキチン-プロテアソーム系（ubiquitin-proteasome system）などのタンパク質分解系が関与している可能性が報告されている。前回（平成 15 年度）、我々は特発性拡張型心筋症患者心筋においてユビキチン-プロテアソーム系の発現が亢進していることを報告した。しかし、それらのタンパク質分解系が亢進する理由やそれにより分解される基質については未だ明らかではない。そこで、今回、心筋細胞変性・細胞死におけるユビキチン-プロテアソーム系の発現と酸化ストレスとの関連に焦点をあて、心臓縮小形成術（バチスタ手術）で切除した不全心筋の免疫組織学的検索を行った。その結果、特発性拡張型心筋症の変性心筋細胞においてユビキチン-プロテアソーム系が亢進し、ユビキチン陽性顆粒の集簇が観察されると同時に種々の酸化タンパク質の集積が観察された。不全心の進展過程において発生する酸化物質が心筋細胞変性に関与し、酸化ストレスによって生成される酸化タンパク質がユビキチン-プロテアソーム系の基質となっている可能性が考えられる。

#### A. 研究目的

特発性拡張型心筋症（以下 DCM）における不全心筋において酸化などの種々のストレスが増加し、細胞内のシグナル伝達など細胞の恒常性に悪影響を及ぼすことが明らかとなっている。そのような恒常性の破綻は心筋細胞の変性や細胞死に関与し、不全心の増悪因子となる。近年、ユビキチン-プロテアソーム系がシグナル伝達などに関与する短寿命タンパク質の分解に主たる役割を果たし、細胞の恒常性維持に重要であることが示されている。さらに、ユビキチン-プロテアソーム系が種々

のストレスにより破綻すると、処理できないタンパク質が蓄積し細胞死を引き起こすことがある。前回（平成 15 年度）我々は DCM 患者心筋においてユビキチン-プロテアソーム系の発現が亢進し、とくに変性した心筋細胞において顕著で、陽性所見が核近傍に集簇することを報告した。しかし、そのようなユビキチン-プロテアソーム系が強く反応する基質タンパク質については未だ明らかになっていない。

そこで、今回、心筋細胞変性・細胞死におけるユビキチン-プロテアソーム系の発現と

酸化ストレスとの関連に焦点をあて、心臓縮小形成術（バチスタ手術）で切除した不全心筋の免疫組織学的検索を行った。

## B. 研究方法

左室縮小形成術を受けた DCM 患者 19 例を対象とした。左室縮小形成術時切除心筋の一部を光顕的に検索した。また、ユビキチンおよびプロテアソームに対する抗体を用いた免疫組織化学染色を行いユビキチンおよびプロテアソームの発現と局在を検討した。さらに、酸化タンパク質を標識する各種抗体（抗 hydroxynonenal (HNE) 抗体、抗 hydroxyhexenal (HHE) 抗体、抗 methylglyoxal (MG) 抗体、抗 acrolein (ACR) 抗体）や核酸の酸化の指標である 8-OHdG を用いて免疫染色を行いその発現と局在を検討した。

なお、研究対象者に研究目的と方法につき説明を行い承諾を得た。対照には正常剖検心 4 例を用いた。

## C. 研究結果

正常心筋においては、ユビキチンおよびプロテアソームの発現は軽度であった。DCM 心筋の組織学的検索では、光顕的に細胞質内の空胞形成や筋原線維の粗少化、核の変形などの変性所見を示す心筋細胞を認めた。これらの変性心筋細胞において、核近傍の細胞質にユビキチン高度陽性の顆粒の集簇が観察された。変性心筋細胞において核近傍に集簇するユビキチン高度陽性の顆粒は酸化タンパク質を標識する抗体に対しても陽性を示した（図 1）。核酸の酸化の指標である 8OHdG はコントロール心筋に比べ DCM 患者心筋において染色性が高度であった。

## D. 考 察

細胞は生理的な環境において転写因子などの種々のタンパク質を細胞内の恒常性の維持のために合成している。一方、ユビキチン-プロテアソーム系はそれらの短寿命タンパク質の選択的タンパク分解に寄与し、細胞の恒常性維持に必要不可欠である。

病的な不全心筋において心筋細胞の変性や脱落が観察される。我々は、心筋細胞において、ネクローシスやアポトーシス以外に自己食食（autophagy）を主体とする心筋細胞変性が認められ、一部の變性心筋細胞は多数の自己食食空胞を伴い細胞死（autophagic cell death）に陥ることを報告した。今回、DCM 患者心筋の心筋細胞変性に伴ってユビキチンおよびプロテアソームの高度発現が認められたことより、心筋細胞変性に、長寿命タンパク質の処理系である自己食食（autophagy）以外にも短寿命タンパク質の処理系であるユビキチン-プロテアソーム系が関与している可能性が示唆された。

近年、不全心筋細胞において酸化ストレスなどの細胞内ストレスが増大していることが報告されており、折りたたみ不全タンパク質（misfolded proteins）の増加に伴ってユビキチン-プロテアソーム系が代償機転として亢進し、不全心筋細胞の機能および形態の恒常性維持を行っているものと推察される。事実、核近傍に集簇するユビキチン高度陽性の顆粒は酸化タンパク質を標識する抗体でも陽性像を示した。酸化タンパク質は、折りたたみ不全（misfolding）を起こしタンパク質の凝集体を作ることがあり、ユビキチン-プロテアソーム系がそのようなタンパク質凝集体を処理すべく亢進している可能性が考えられる。しかしながら、ユビキチン-プロテアソーム系の破綻あるいは折りたたみ不全タンパク質の蓄積が直接的に心筋細胞死に繋がるか否か、また自己食食細胞死（autophagic cell

death) やアポトーシスとの関連などについて今後の検討が必要である。

#### E. 結 論

DCM の心筋細胞変性において、核近傍にユビキチン高度陽性の顆粒の集簇が観察され、それらは酸化タンパク質を標識する抗体でも陽性像を示した。DCM の心筋細胞において酸化タンパク質が増加し、それらの凝集したものがユビキチン・プロテアソーム系 (ubiquitin-proteasome system) の基質となっていることが示唆された。

#### F. 健康危険情報 該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表 該当なし

##### 2. 学会発表

1) Lysosomal destruction of cardiomyocytes in patients with dilated cardiomyopathy.

第 3 回日本心不全学会 1999 年 10 月

2) 拡張型心筋症患者心筋における ubiquitin-proteasome 系の免疫組織化学的検索.

第 35 回日本臨床電子顕微鏡学会 2003 年 10 月

3) The ubiquitin-proteasome system is enhanced in degenerated cardiomyocytes of dilated

cardiomyopathy.

第 68 回日本循環器学会 2004 年 3 月

4) The Ubiquitin-Proteasome System is Enhanced in Degenerating Cardiomyocytes of Dilated Cardiomyopathy

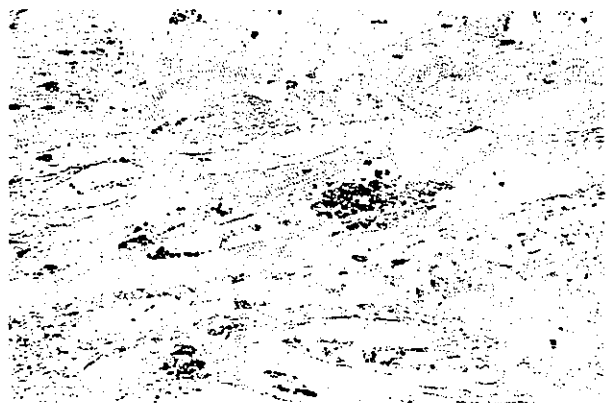
第 8 回日本心不全学会 2004 年 9 月

5) Ubiquitin-proteasome system is enhanced in protective response to oxidative stress in cardiomyocytes of dilated cardiomyopathy.

第 69 回日本循環器学会 2005 年 3 月

#### 図 1

DCM 患者心筋 (左室縮小形成術切除標本) の抗 HNE 抗体による免疫染色像。心筋細胞の核近傍に高度陽性の顆粒状物質の集簇が認められる。(×100)



H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Ohtsuka M, Komuro I, et al.	Role of Na <sup>+</sup> -Ca <sup>2+</sup> exchanger in myocardial ischemia/reperfusion injury: evaluation using a heterozygous Na <sup>+</sup> -Ca <sup>2+</sup> exchanger knockout mouse model.	Biochem Biophys Res Commun	314	849-853	2004
Miyauchi H, Komuro I, et al.	Akt negatively regulates the in vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway.	EMBO J	23	212-220	2004
Matsuura K, Komuro I, et al.	Adult cardiac Sca-1 positive cells differentiate into beating cardiomyocytes.	J Biol Chem	279	11384-11391	2004
Ohsawa Y, Komuro I, et al.	Overexpression of P104L mutant caveolin-3 in mice develops hypertrophic cardiomyopathy with enhanced contractility in association with increased endothelial nitric oxide synthase activity.	Hum Mol Genet	13	151-157	2004
Ohtsuka M, Komuro I, et al.	Cytokine therapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization.	FASEB J	18	851-853	2004
Toko H, Komuro I, et al.	Angiotensin II Type 1a Receptor Is Involved in Cell Infiltration, Cytokine Production, and Neovascularization in Infarcted Myocardium.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	24	664-670	2004
Akazawa H, Komuro I, et al.	A novel LIM protein Cal promotes cardiac differentiation by association with CSX/NKX2-5.	J Cell Biol	164	395-405	2004



## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Kasai H, Komuro I, et al.	Direct measurement of Ca <sup>2+</sup> concentration in the SR of living cardiac myocytes.	Biochem Biophys Res Commun	314	1014-1020	2004
Zou Y, Komuro I, et al.	Mechanical stress activates angiotensin II type 1 receptor without the involvement of angiotensin II.	Nat Cell Biol	6	499-506	2004
Ogihara T, Komuro I, et al.	Oxidative stress induces insulin resistance by activating the nuclear factor-kappaB pathway and disrupting normal subcellular distribution of phosphatidylinositol 3-kinase.	Diabetologia	47	794-805	2004
Funabashi N, Komuro I, et al.	Images in cardiovascular medicine. Double aortic arch with a compressed trachea demonstrated by multislice computed tomography.	Circulation	110	e68-e69	2004
Hayashi D, Komuro I, et al.	Atrial natriuretic peptide inhibits cardiomyocyte hypertrophy through mitogen-activated protein kinase phosphatase-1.	Biochem Biophys Res Commun	322	310-319	2004
Funabashi N, Komuro I, et al.	New method of measuring coronary diameter by electron-beam computed tomographic angiography using adjusted thresholds determined by calibration with aortic opacity.	Circ J	68	769-777	2004

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Akazawa H, Komuro I, et al.	Diphtheria toxin-induced autophagic cardiomyocyte death plays a pathogenic role in mouse model of heart failure.	J Biol Chem	279	41095-41103	2004
Ikeda Y, Komuro I, et al.	Vasorin, a transforming growth factor beta-binding protein expressed in vascular smooth muscle cells, modulates the arterial response to injury in vivo.	Proc Natl Acad Sci U S A	101	10732-10737	2004
Matsuura K, Komuro I, et al.	Cardiomyocytes fuse with surrounding non-cardiomyocytes and re-enter the cell cycle.	J Cell Biol	167	351-363	2004
Naito, A.T, Komuro I, et al.	Steroid-responsive thromboangiitis obliterans.	Lancet	364	1098	2004
Iwanaga K, Komuro I, et al.	Effects of G-CSF on cardiac remodeling after acute myocardial infarction in swine.	Biochem Biophys Res Commun	325	1353-1359	2004
Iwamoto T, Komuro I, et al.	Salt-sensitive hypertension is triggered by Ca(2+) entry via Na(+)/Ca(2+) exchanger type-1 in vascular smooth muscle.	Nat Med	10	1193-1199	2004
Minamino T, Komuro I, et al.	Vascular cell senescence and vascular aging.	J Mol Cell Cardiol	36	175-183	2004
Minamino T, Komuro I, et al.	Akt-induced Cellular Senescence: Implication for Human Disease.	Cell Cycle	3	449-451	2004
Komuro I, Ohtsuka M.	Forefront of Na+/Ca2+ exchanger studies: role of Na+/Ca2+ exchanger--lessons from knockout mice.	J Pharmacol Sci	96	23-26	2004

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Harada M, Komuro I, et al.	G-CSF prevents cardiac Remodeling after myocardial infarction by activating Jak/Stat in cardiomyocytes.	Nat Med	11	305-311	2005
Horii T, Suma H, et al.	Residual fibrosis affects a long-term result of left ventricular volume reduction surgery for dilated cardiomyopathy in a rat experimental study.	Eur J Cardiothorac Surg	26	1174-1179	2004
Athanasuleas CL, Suma H, et al.	Surgical ventricular restoration in the treatment of congestive heart failure due to post-infarction ventricular dilation.	J Am Coll Cardiol	44	1439-1445	2004
Fujioka S, Suma H, et al.	Evidence of viral infection in the myocardium of American and Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.	Am J Cardiol	94	602-605	2004
Ueyama K, Suma H, et al.	Development of biologic coronary artery bypass grafting in a rabbit model: revival of a classic concept with modern biotechnology.	J Thorac Cardiovasc Surg	127	1608-1615	2004
Takita J, Aburatani H, et al.	Gene expression profiling and identification of novel prognostic marker genes in neuroblastoma	Genes Chromosomes Cancer	40	120-132	2004

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Matsuo K, Aburatani H, et al.	NFAT rescues osteoclastogenesis in precursors lacking c-Fos.	J Biol Chem	279	26475-26480	2004
Hippo Y, Aburatani H, et al.	Identification of Soluble Amino Terminal Fragment of Glypican- 3 as a Serological Maker for Early Stage Hepatocellular Carcinoma.	Cancer Research	64	2418-2423	2004
Joo A, Aburatani H, et al.	STAT3 MITF cooperatively induce cellular transformation through upregulation of c-fos expression	Oncogene	23	726-734	2004