

図3 慢性疲労症候群患者血球 RNA の発現プロファイル

赤色がCFS I、黄色がCFS IIIの患者群、水色は健常対照群である

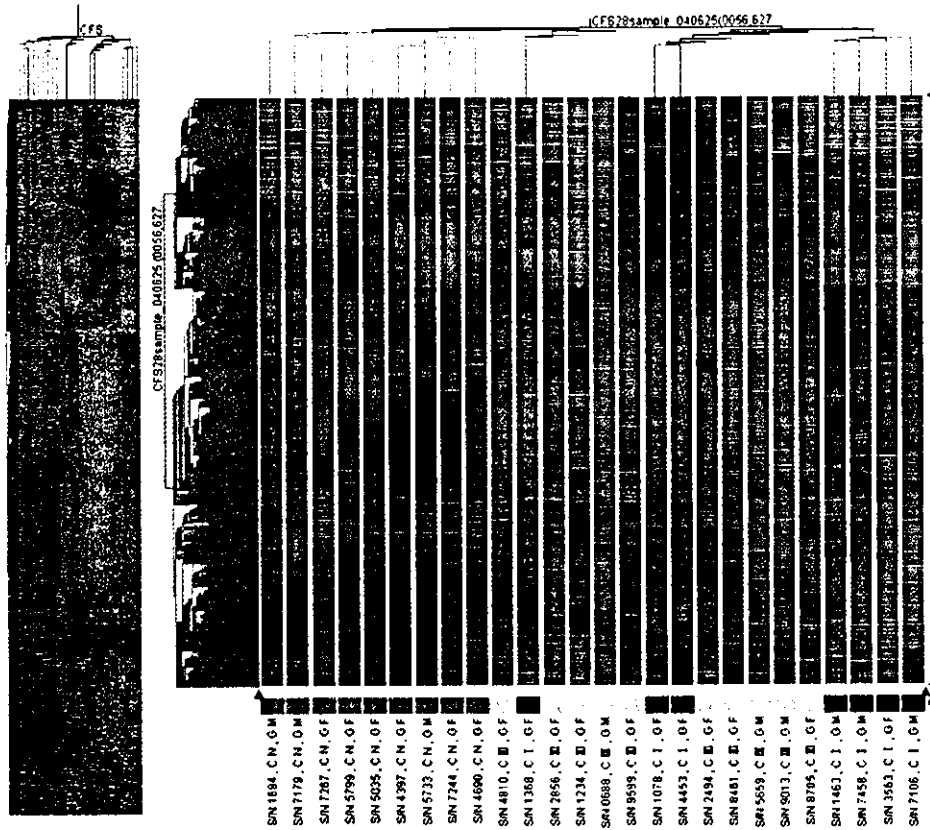
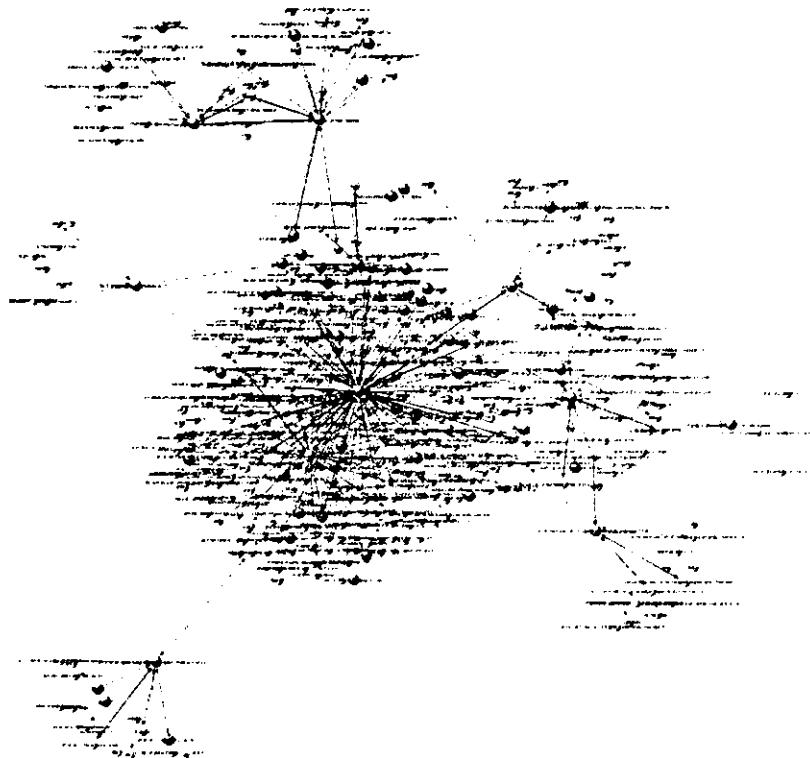


図4 CFS 患者群で高発現する遺伝子群の相互作用



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患対策研究事業）
分担研究報告書

知的統合による遺伝子、蛋白質相互作用探索の研究

分担研究者 井原茂男 東京大学先端科学技術研究センター教授

研究要旨

遺伝子発現プロファイル解析を進める上で、絶えず更新されるゲノムおよび遺伝子の配列情報、遺伝子機能のアノテーション情報、さらには文献情報などの知識を統合化した情報処理基盤の構築を進めた。マイクロアレイ解析からの疾患遺伝子探索を簡便にする目的で、トランスクリプトームデータベースのコンテンツを利用しつつ、プローブ情報をもとに文献情報から相互作用パートナーを探索し、得られた相互作用パートナーの蛋白質からさらなる相互作用パートナーを再帰的に探索できる文献情報処理によるネットワーク構築の技術開発を行なった。

A. 研究目的

遺伝子発現プロファイル情報あるいは、トランスクリプトーム情報は、動的な情報であるだけでなく絶えず更新されるゲノムおよび遺伝子の配列情報、さらには文献情報などの知識を統合化することによってはじめて意味付けが可能となる。そこで昨年は、ゲノムおよび遺伝子配列情報、遺伝子機能のアノテーション情報、さらには文献情報などの知識を統合化する情報処理基盤の構築を試みてきた。従来の実験データの整備と統合を進め、ヒトの正常臓器、ヒト正常培養細胞にしばり疾患データを解析するための参照データとして、トランスクリプトームデータベースのコンテンツを充実させ遺伝子発現データベース基盤として、公開用データベース及び共同研究データ共有データベースの2種類の環境を構築した。本年も、急速に研究が活発化し様々な可能性が広がってきた SVM (Support Vector Machines) に焦点をあて、遺伝子探索のためのより進んだ情報解析技術を開発した。さらに疾患を対象に、詳細な意味抽

出のために文献情報をもとにプローブ情報から相互作用パートナーを探索し、得られた相互作用パートナーの蛋白質からさらなる相互作用パートナーを再帰的に探索できる文献情報処理によるネットワーク構築の技術開発を行った。

B. 研究方法

ヒト正常臓器あるいは細胞株について、GeneChip (Affymetrix 社製) U133 アレイを用いたトランスクリプトーム解析実験データに対し、情報解析するためのデータベースを中心とする情報処理基盤を構築し、情報処理解析ツールを作成しつつ、技術開発を行い、検証を行う。特に、文献情報から、単に名前が同時に現れる共起性ではなく、自然言語処理を用い蛋白質名と相互作用関係を表す動詞を含んだ二項関係を抽出し、探索すべき遺伝子あるいは蛋白質の相互作用パートナーを再帰的に探索するアプローチを採用した。

(倫理面への配慮)

厚生労働省の「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」、

3省庁合同の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日文科省、厚労省・経済省告示第一号）に従い指針に適合する倫理委員会の承認を得、各臨床機関において患者からの血液あるいは組織試料等の匿名化をはかった試料に対して得られた遺伝子発現解析実験データに対して情報処理解析を行う。

C. 研究結果

遺伝子、蛋白質、化合物などの生物医学関係の多くの情報が文献情報として電子化、データベース化されている。文献データベースで最も大きく広く使われているMedlineには膨大なデータが蓄積されているのでそこに含まれている抄録600万件を利用できるようなシステムをまず構築した。一方で、入手可能なデータベースから疾患解析に必要な用語を抽出した。次に、文献から必要な情報を信頼度高く抽出し、分かりやすい形で表示する自然言語処理技術を応用した文献検索システムの構築をPCクラスター上で行った。脊椎動物に対して蛋白質・遺伝子名辞書の用語の数を二十万件にまで拡大した。相互作用を表す動詞を整備することにより、2対の蛋白質・遺伝子名の相互作用を文献から抽出することにより、疾患遺伝子探索を試みられるようにした。

実際のインターフェースを図1～4に示す。PPAR alphaをクエリーとして最左欄に記入すると相互作用パートナーが表示される。図1の中央欄に総相互作用が288、相互作用パートナーが162個得られた。この理由は同じ蛋白質間であっても、相互作用をする動詞が異なるためである。例えば、PPAR alphaはRXR alphaとinteract相互作用しているが、同じくPPAR alphaはRXR alphaとactiveパートナーとしてserveする相互作用をしている。PPAR alphaの相互作用パートナーを並べると図2の形のPPAR alphaを中心としたピンク色の

ネットワークが得られる。

次に、相互作用パートナーとして出力されたretinoic acid receptor rxr alpha (RXR alpha)、Cox-2を図3にあるようにクエリーとして選択し、再帰的に計算をすると、図4のようなネットワークが得られる。

D. 考察

ユーザビリティの向上を考慮して再帰計算のできる文献情報処理技術を開発・改良した。相互作用の抽出のための技術として相互作用を記述する文章の鋳型を用いた抽出方法と、統計的分析に基づく抽出法を組み合わせ用い、さらに文章の鋳型を用いた抽出方法において、DIPREアルゴリズムを応用することにより自動化を図った。さらに相互作用を表す単語のオントロジーの導入により相互作用の分類を可能とした。その結果、図4の内容を詳細に検討することが可能となった。例えば、以下に示すように相互作用の内容が検証できる：

(1) 得られた相互作用、蛋白質について検証する。2回目のクエリーであるCox-2にのみ相互作用する蛋白質としては、P38 MAPKがあり、

P38 MAPK *inhibit* Cox-2
の相互作用をもっている。

(2) 2回目のクエリーであるCox-2とRXR alphaの間にも蛋白質MAPK1が存在し、相互作用としては、

・RXR *interact* MAPK1
・MAPK1 *induce* Cox-2
があった。

(3) またRXRとPPAR alphaの間にも蛋白質HNF-4が存在し、相互作用としては、

・HNF-4 *enhance* PPAR alpha
・RXR *compete* HNF-4
となる。

(4) また、PPAR alphaとCox-2の間にも蛋白質gene c-jun proteinが存在し、

・PPAR alpha *interact* gene c-jun protein

・ gene c-jun protein *inhibit* Cox-2
の相互作用をもっていた。

(5) さらにCox-2とRXR alpha、PPAR alpha
の3つの間をつなぐものとしてIL-6があり、

- ・ RXR *inhibit* IL-6
- ・ IL-6 *induce* Cox-2
- ・ PPAR alpha *inhibit* IL-6

の相互作用をもっていた。

本技術開発が網羅性に主体をおいたこと
にもよるが、もともとの人間が記述する
文章におけるシノニムが混乱しているた
め正答率は、85%以下にとどまった。

E. 結論

本年度は、GeneChip (Affymetrix 社製)
U133 アレイのデータを解析対象とした
再帰計算ができる文献情報システムを作
成した。従来の文献検索ではできないよ
うなクエリー間での相互作用パートナー
の探索などで威力を発揮すると思われる。
また本研究では様々な相互作用を扱った
が、蛋白質同士の結合で重要な bind およ
び interact に相互作用を限定すれば、相
互作用パートナーとして蛋白質同士が物
理的に相互作用する状態を表すことがで
きる。

今後は様々な解析を積極的に行い、プロ
グラム、データにおけるシノニムエラー、
機械学習に起因するエラーを取り除き、
早期公開をめざすとともに、様々な技術
を融合化することによって知識ベースの
より進んだシステムの構築をめざす。

F. 健康危険情報

情報処理技術につき特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Komura D, H. Nakamura, S. Tsutsumi, H. Aburatani and S. Ihara. Multidimensional Support Vector Machines for visualization of gene expression data" *Bioinformatics*, 2005 (in press).

2. Komura D, H. Nakamura, S. Tsutsumi, H. Aburatani and S. Ihara, "Incorporating prior Knowledge into clustering of gene expression profiles", *International Conference on Genome Informatics*, 15, P036 1- 2 (2004).

2. 学会発表

1. Sigeo Ihara "Protein interaction networks from literature mining" *American Physical Society March Meeting, (Invited) (March 21-25, 2005, Los Angeles, US)*.
2. Naoko S. Nishikawa, Jun'ichi, Shingo Tuji, Rikako Suzuki, Shogo Yamamoto, Hiroyuki Aburatani and Sigeo Ihara, "Analysis of Drug Response Pathways by Literature Mining Network" *Cold Spring Harbor Laboratory, Pharmacogenomics*, 88 (Nov 18-21, 2004, New York, US).
3. Sigeo Ihara, Naoko S. Nishikawa, Yoshihiro Ohta, Koji Abe, Shingo Tsuji, Shuichi Tsutsumi, Jun'ichi Kitakami, Shogo Yamamoto, and Hiroyuki Aburatani, "Networking Transcriptional Regulation by Literature Mining" *Joint Cold Spring Harbor Laboratory/Wellcome Trust Conference, Genome Informatics*, 53 (Sept 22-26, 2004, Cambridge, UK).
4. Sigeo Ihara, Naoko S. Nishikawa, Yoshihiro Ohta, Koji Abe, Shingo Tsuji, Shuichi Tsutsumi, Shogo Yamamoto, and Hiroyuki Aburatani, "Pathway Analysis in Genomics" *Cold Spring Harbor Laboratory, The Biology of Genomes*, 88 (May 12-16, 2004, New York, US).

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
文献検索のインターフェイスに関し、
特許出願の予定。
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1 クエリー1回目のインターフェース

Protein Search		Interaction Search		Pathway Builder		Recursive	
(k)	Previous Query	Protein		(k)	Next Query		
0	Peroxisome proliferator activated receptor alpha	Peroxisome proliferator activated receptor gamma	<input checked="" type="checkbox"/>	0	Peroxisome proliferator activated receptor alpha		
		Acyl coa oxidase	<input type="checkbox"/>		GO		
		Ppa	<input type="checkbox"/>				
		Retinoic acid receptor rxr alpha	<input type="checkbox"/>				
		Thulin precursor	<input type="checkbox"/>				
		Endothelin-1-precursor	<input type="checkbox"/>				
		Mitochondrial brown fat uncoupling protein-1	<input type="checkbox"/>				
		Cox-2	<input type="checkbox"/>				
		Retinoid x receptor	<input type="checkbox"/>				
		Stat-6-b	<input type="checkbox"/>				
		Lipoprotein lipase precursor	<input type="checkbox"/>				
		Rx	<input type="checkbox"/>				
		Ucp-2	<input type="checkbox"/>				
		Apolipoprotein a i precursor	<input type="checkbox"/>				
		Tumor necrosis factor precursor	<input type="checkbox"/>				
		Mitochondrial uncoupling protein-3	<input type="checkbox"/>				

PPAR alphaをクエリーとして最左欄に記入すると相互作用パートナーが表示される。中央欄に総相互作用が288、相互作用パートナーが162個得られた。この理由は同じ蛋白質間であっても、相互作用をする動詞が異なるためである。例えば、PPAR alphaはRXR alphaとinteract相互作用しているが、同じくPPAR alphaはRXR alphaとactiveパートナーとしてserveする相互作用をしている。

図2 相互作用パートナーのネットワーク

PPAR alphaの相互作用パートナーを並べるとPPAR alphaを中心としたピンク色のネットワークが得られる。

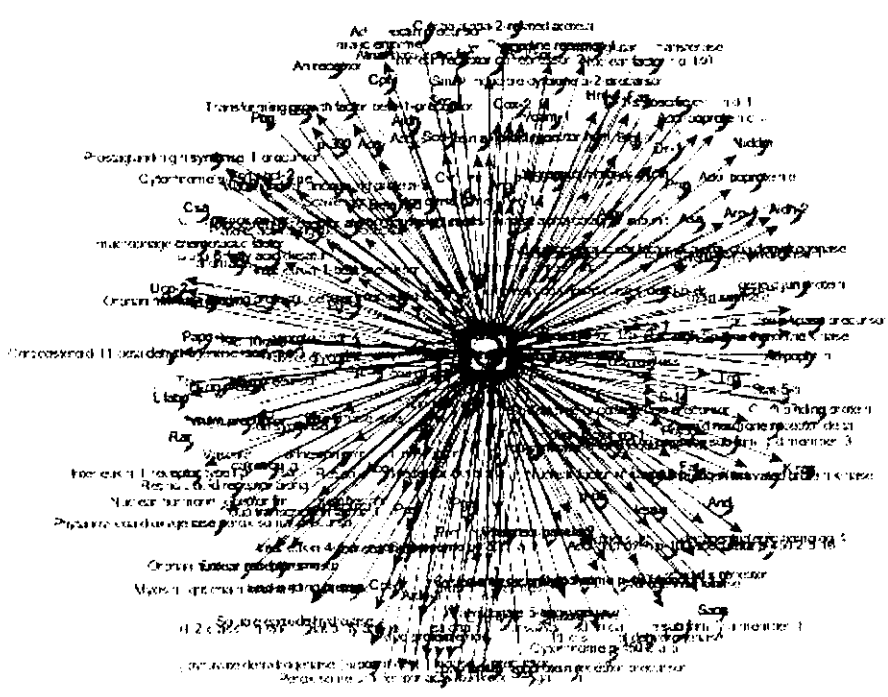


図3 クエリー2回目のインターフェース

Previous Query		Protein		Next Query	
<input checked="" type="checkbox"/>	Retinoic acid receptor alpha	<input checked="" type="checkbox"/>	Retinoic acid receptor alpha	<input type="checkbox"/>	Retinoic acid receptor alpha
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Acyl coa oxidase	<input type="checkbox"/>	Cox-2
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Pde	<input type="checkbox"/>	Rar
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Retinoic acid receptor ra alpha	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	hauin precursor	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Endothelin-1 precursor	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Mitochondrial brown fat uncoupling protein-1	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Cox-2	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Retroviral receptor	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Stat-5-b	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Lipoprotein lipase precursor	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Rar	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Ucp-2	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Acyl-cooxidase precursor	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Tumor necrosis factor precursor	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Mitochondrial uncoupling protein-3	<input type="checkbox"/>	

相互作用パートナーとして出力された retinoic acid receptor rxr alpha (RXR alpha)、Cox-2 をクエリーとして選択した

図4 さらに相互作用パートナーのネットワーク

黄色の球の束の中心が2段目のクエリーとして選んだ蛋白質、その周りの黄色の球は2段目のクエリーと相互作用する蛋白質、ピンクの球は1段目のクエリーおよび

その結果得られた相互作用パートナーである。

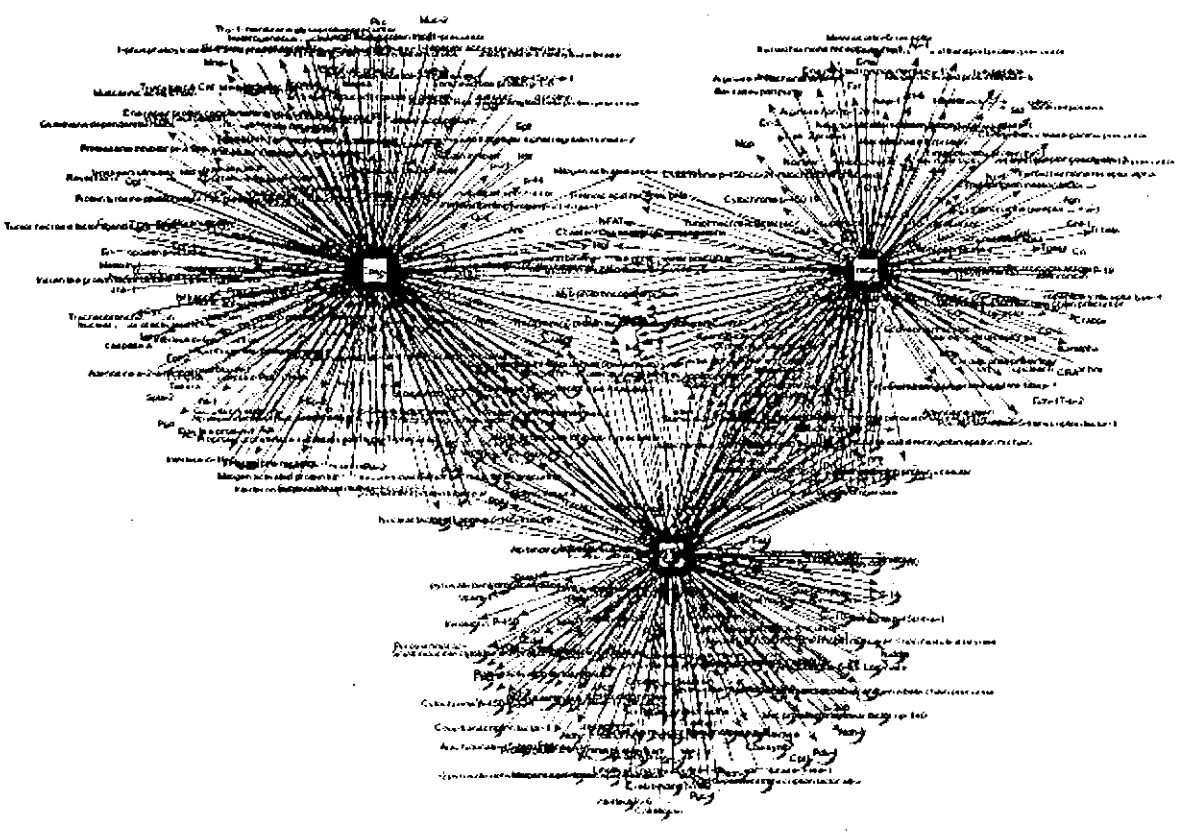


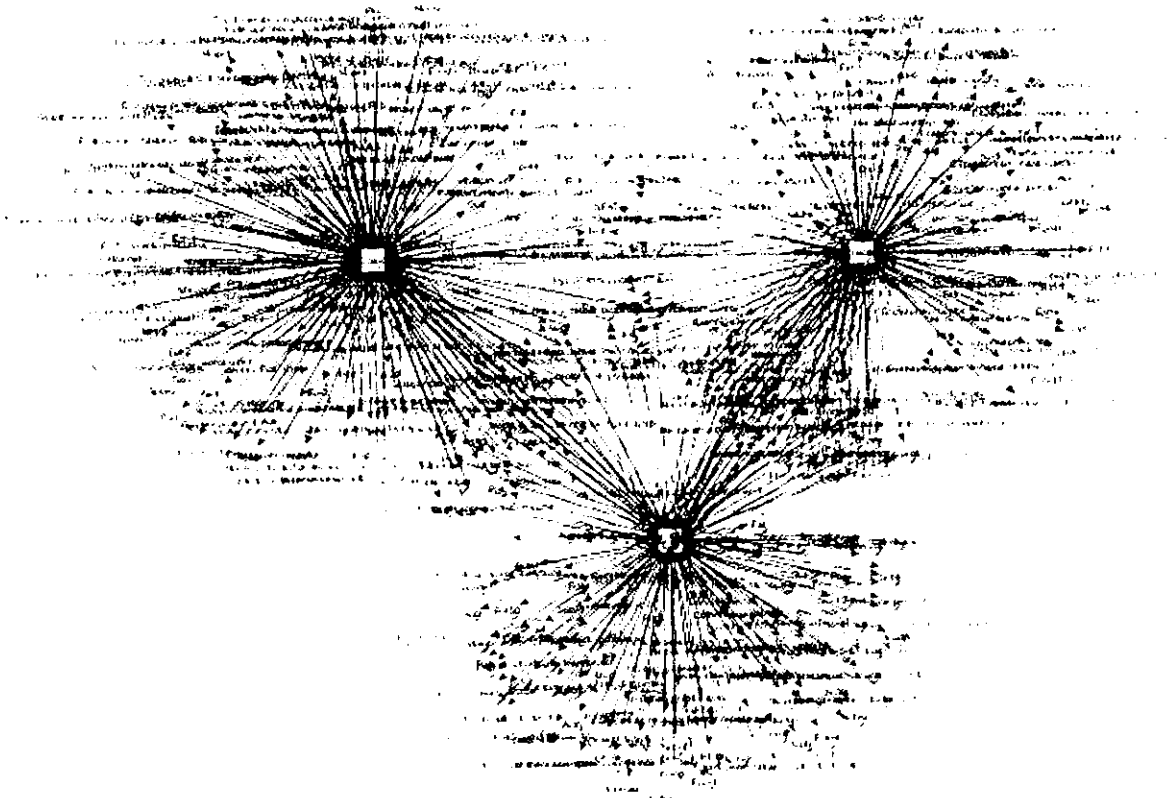
図3 クエリー2回目のインターフェース

Protein Search		Interaction Search		Pathway Builder		Recursive	
(k)	Previous Query	Protein	(k)	Next Query			
0	Peroxisome proliferator activated receptor alpha	<input checked="" type="checkbox"/> Peroxisome proliferator activated receptor gamma	0	Peroxisome proliferator activated receptor alpha	<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Acyl coa oxidase	1	Retinoic acid receptor rxr alpha	<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Ppa	1	Cox-2	<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Retinoic acid receptor rxr alpha	00		<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Insulin precursor			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Endothelin-1-precursor			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Mitochondrial brown fat uncoupling protein-1			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Cox-2			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Retinoid x receptor			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Stat-5-b			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Lipoprotein lipase precursor			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Ror			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Ucp-2			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Apolipoprotein a1 precursor			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Tumor necrosis factor precursor			<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/> Mitochondrial uncoupling protein-3			<input type="checkbox"/>		

相互作用パートナーとして出力された retinoic acid receptor rxr alpha (RXR alpha)、Cox-2 をクエリーとして選択した

図4 さらになる相互作用パートナーのネットワーク

黄色の球の束の中心が2段目のクエリーとして選んだ蛋白質、その周りの黄色の球は2段目のクエリーと相互作用する蛋白質、ピンクの球は1段目のクエリーおよびその結果得られた相互作用パートナーである。



特発性心筋症の解析に関する研究

分担研究者 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 本研究は特発性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、特発性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。本年度は不全心で発現の亢進していた酸化酵素12-lipoxygenaseについて、マウスモデルを作成し詳細に検討した結果、心不全の発症に深く関与していることが明らかとなった。今後、12-lipoxygenaseをターゲットとした新たな心不全治療の開発が期待される。

A. 研究目的

特発性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。

（倫理面への配慮）

術前に、切除された心筋を研究目的に使用させていただくことが可能かどうかを患者本人に説明し承諾を得た。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50例（内拡張型心筋症は30例）の不全心筋サンプルを準備した。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。

本年度は、不全心で発現の亢進していた遺伝子である酸化酵素12-lipoxygenaseに注目しマウスモデルなどを用いて解析を進めた。まず培養系の実験では、12-lipoxygenaseの活性が低酸素によって誘導されること、その活性上昇が心筋細胞のアポトーシスを誘導することを確認することができた。12-lipoxygenaseノックアウトでは、心筋梗塞後のアポトーシス抑制、線維化、リモデリングの縮小がみられた。

D. 考察

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、いくつかの心不全関連遺伝子が同定された。心不全増悪因子として同定された酸化酵素12-lipoxygenaseはこれまで血球系での役割は検討されていたが、心臓における役割は知られていなかった。本研究により心筋細胞における12-lipoxygenase

が心不全の病態生理に深く関わっていることが明らかとなった。

E. 結論

不全心筋を用いた網羅的な遺伝子発現解析は、特発性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。心不全増悪因子として同定された酸化酵素12-lipoxygenaseは今後心不全治療の新たなターゲットとなりうる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Minamino, T., Miyauchi, H., Yoshida, T., Tateno, K., Komuro, I. The role of vascular cell senescence in atherosclerosis: antisenescence as a novel therapeutic strategy for vascular aging. *Curr Vasc Pharmacol* 2:141-148, 2004.
2. 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.

2. 学会発表

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.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

福山型筋ジストロフィーと長期記憶に関連したラット海馬遺伝子の解析

分担研究者 戸田 達史 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究協力者 谷口真理子 大阪大学大学院医学系研究科 大学院生

研究要旨

ヒト筋特異的 DNA チップを用いて福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）の病態解析をした。その結果、FCMD では、筋成熟の最終段階で発現の上昇する遺伝子群（MYH7, MRF4）の発現低下が見られ、また Agrin や AchR など神経性分化因子の遺伝子発現が著しく上昇していた。また筋線維及び神経筋接合部に電顕的に著しい成熟障害が FCMD 及び α ジストログリカノパチーにみられたことより、筋分化障害や神経筋接合部異常が疾患の病態をつくる重要な原因である可能性を見出した。ラット海馬による解析では、長期記憶との関連の深い、海馬 CA1 領域での LTP 誘発刺激後における経時的遺伝子発現を 統計学的解析手法を用い、長期記憶に関連した機能的遺伝子群を見出した。

A 研究目的

福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）、II型滑脳症を伴う常染色体劣性遺伝性神経筋疾患である。我々は以前 FCMD の原因遺伝子である *fukutin* を同定した。*fukutin* は筋細胞膜上の α -dystroglycan (α DG) の糖鎖修飾に関する糖転移酵素と推定されている。その一連の糖転移酵素に変異が同定されている muscle-eye-brain 病、Walker-Warburg 症候群、LARGE においても、同様の症状をきたし、 α -dystroglycanopathy (α -DGpathy) と総称される。FCMD 患者の筋線維は他の筋ジストロフィーに比べ未熟である一方で、筋線維の再生は活発でないことが知られているが、その詳細に関し遺伝子レベルでの変化はわかっていない。

また、長期記憶の成立に新規遺伝子の発現が関与することは示唆されているが、詳細な遺伝子発現の変化にはまだ未知の部分が大きい。

B 研究方法、研究結果

今回我々は FCMD 患者の骨格筋を独自に

開発した cDNA マイクロアレイにより発現解析を行い、また α -DGpathy の一疾患である LARGE 変異モデルマウス (*myd* マウス) を用い、 α -DGpathy における発現解析及び病態解析を行った。FCMD 及び *myd* の筋線維では筋分化過程後期に発現する転写因子である *myf6* や *myosin heavy chain2,7* の発現低下をきたし、また電顕画像において、筋細胞の核及び筋線維の成熟障害を呈した。また神経筋接合部では免疫染色および電顕的観察において、著しい異常像を認め、正常ではおこる α DG の凝集も見られなかった。

また、長期記憶に関する解析では、長期記憶との関連が示唆されている LTP をラット海馬 CA1 に誘発し経時的遺伝子発現の変化（10分、30分、60分後）を GeneChip (Affymetrix 社) にて網羅的に解析を行った。また統計学的手法を用いて発現の変化の著しい遺伝子群の空間的、機能的解析及びパスウェイ分析を行った。結果、LTP 誘発後 10分後より 30分後にかけて著しい遺伝子発現の変化が見られ、それらには糖鎖修飾酵素、

細胞骨格、Rab family、ECM 成分、に関連する遺伝子が特異的に関与していることが見出された。またパスイエイ分析では *c-myc* が遺伝子発現の変化のあった転写カスケードに関与している可能性が示唆された。

(倫理面への配慮) 患者筋組織収集は、遺伝子解析に関する十分なインフォームドコンセントを文書でとった上で行った。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文科省・厚労省・経済省告示第1号)」を遵守した。研究対象者に対するプライバシーの保護など、人権擁護上の問題についても十分に配慮した。また、本研究は大阪大学倫理委員会による承認を得ている。

C 考察

神経筋接合部由来の筋分化シグナルが基底膜障害により不完全となり、筋線維の成熟障害を起こすことが、 α -DGpathy の重要な病態生理である可能性が FCMD の発現解析を通じて示唆された。

また、ラット海馬 CA1 領域では、長期記憶成立には 10 分後、30 分後での遺伝子発現の変化が著しいこと、またその変化にはある機能的遺伝子群の変化が関与していると考えられた。

D 結論

FCMD では、原因遺伝子フクチンのコードするフクチン蛋白の機能喪失により、筋細胞膜の α ジストログリカンが糖鎖修飾を受けず、そのため筋基底膜成分のラミニンとの結合が弱くなるため、筋基底膜の破綻が生じる。その結果、 α ジストログリカンが機能的に作用する筋細胞膜及び神経筋接合部の分化遅延をもたらした FCMD、及び α -DGpathy の病態を作り出していると考えられた。また、ラット海馬 CA1 領域では、経時的かつ網羅的な遺伝子発現解析をすることで、多次元解析が可能となり、長期記憶に関連する機能的遺伝子群やそのパスイエイが抽出された。

E 健康危険情報

なし

F 研究発表

1. Maraganore DM, Lesnick TG, Elbaz A, Chartier-Harlin M-C, Gasser T, Kravtsov R, Hattori N, Mellick GD, Quattrone A, Satoh J, Toda T, Wang J, Ioannidis JPA, de Andrade M, Rocca WA, the UCHL1 Global Genetics Consortium. UCHL1 is a Parkinson's disease susceptibility gene. *Ann Neurol* 55:512-521, 2004
2. Popiel HA, Nagai Y, Onodera O, Inui T, Fujikake N, Urade Y, Strittmatter WJ, Burke JR, Ichikawa A, Toda T. Disruption of the toxic conformation of the expanded polyglutamine stretch leads to suppression of aggregate formation and cytotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 317:1200-1206, 2004
3. Akasaka-Manyu K, Manyu H, Kobayashi K, Toda T, Endo T. Structure-function analysis of human protein O-linked mannosyltransferase 1, POMGnT1. *Biochem Biophys Res Commun* 320:39-44, 2004
4. Longman C, Mercuri E, Cowan F, Allsop J, Brockington M, Jimenez-Mallebrera C, Kumar S, Rutherford M, Toda T, Muntoni F. Antenatal and postnatal brain magnetic resonance imaging in muscle-eye-brain disease. *Arch Neurol* 61:1301-1306, 2004
5. Kurahashi H, Inagaki H, Yamada K, Ohye T, Taniguchi M, Emanuel BS, Toda T. Cruciform DNA structure underlies the etiology for palindrome-mediated human chromosomal translocations. *J Biol Chem* 279:35377-35383, 2004
6. Hatano Y, Li Y, Sato K, Asakawa S, Yamamura Y, Tomiyama H, Yoshino H, Asahina M, Kobayashi S, Hassin-Baer S, Lu CS, Ng AR, Rosales RL, Shimizu N, Toda T, Mizuno Y, Hattori N. Novel PINK1 mutations in early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 56:424-427, 2004
7. Ohtake H, Limprasert P, Fan Y, Onodera O, Kakita A, Takahashi H, Bonner LT, Tsuang

- DW, Murray IV, Lee VM, Trojanowski JQ, Ishikawa A, Idezuka J, Murata M, Toda T, Bird TD, Leverenz JB, Tsuji S, La Spada AR. b-synuclein gene alterations in dementia with Lewy bodies. *Neurology* 63:805-811, 2004
8. Hatano Y, Sato K, Eibol B, Yoshino H, Yamamura Y, Bonifati V, Shinotoh H, Asahina M, Kobayashi S, Ng AR, Rosales RL, Hassin-Baer S, Shinar Y, Lu CS, Chang HC, Wu-Chou YH, Atac FB, Kobayashi T, Toda T, Mizuno Y, Hattori N. PARK6-linked autosomal recessive early-onset parkinsonism in Asian populations. *Neurology* 63:1482-1485, 2004
9. Kariya S, Hirano M, Nagai Y, Furiya Y, Fujikake N, Toda T, Ueno S. Humanin attenuates apoptosis induced by DRPLA proteins with expanded polyglutamine stretches. *J Mol Neurosci* (in press)
10. Kurahashi H, Taniguchi M, Meno C, Taniguchi Y, Takeda S, Horie M, Otani H, Toda T. Basement membrane fragility underlies embryonic lethality in fukutin-null mice. *Neurobiol Dis* (in press)
11. Li Y, Tomiyama H, Sato K, Hatano Y, Yoshino H, Atsumi M, Kitaguchi M, Sasaki S, Kawaguchi S, Miyajima H, Toda T, Mizuno Y, Hattori N. Clinicogenetic study of PINK1 mutations in autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Neurology* (in press)
- G 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患研究事業）
分担研究報告書

難治性水疱性疾患およびその他の難治性皮膚疾患における
罹患組織の遺伝子発現プロファイルに関する研究

分担研究者 古江増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学教授

研究協力者 占部和敬 九州大学大学院医学研究院皮膚科学助教授
師井洋一 九州大学大学院医学研究院皮膚科学講師

研究要旨

本研究は、天疱瘡や類天疱瘡などの難治性水疱性疾患の罹患組織中の遺伝子発現を、種々の難治性皮膚疾患（乾癬、皮膚炎、腫瘍など）での遺伝子発現と比較検討することによって、これら難治性皮膚疾患の病態形成機序を明らかにすることを目的としている。今年度は、その解析の結果、乾癬における Stat3 の発現上昇、ヒト乳頭腫ウイルス発癌における P16 ならびに hTERT 蛋白の発現上昇などを明らかにした。

A. 研究目的

天疱瘡や類天疱瘡などの難治性水疱性疾患は表皮細胞の接着装置に対する自己免疫性疾患である。ステロイド内服や血漿交換療法、免疫抑制剤内服などの治療が用いられ、予後はある程度改善されてきている。しかしながら種々の治療に抵抗し死に至るケースも多い。天疱瘡ではデスモゾームを構成するデスモグレインに対する自己抗体が、類天疱瘡ではヘミデスモゾームを構成する BPAG などに対する自己抗体が産生されることは分かっているが、水疱形成を引き起こす病態については未だ不明の点が多い。本研究では、天疱瘡や類天疱瘡などの難治性水疱性疾患の罹患組織中の遺伝子発現を、種々の難治性皮膚疾患（乾癬、皮膚炎、腫瘍など）での遺伝子発現と比較検討することによって、これら難治性皮膚疾患の病態形成機序を明らかにするとともに、新たな治療法の開発に寄与したい。

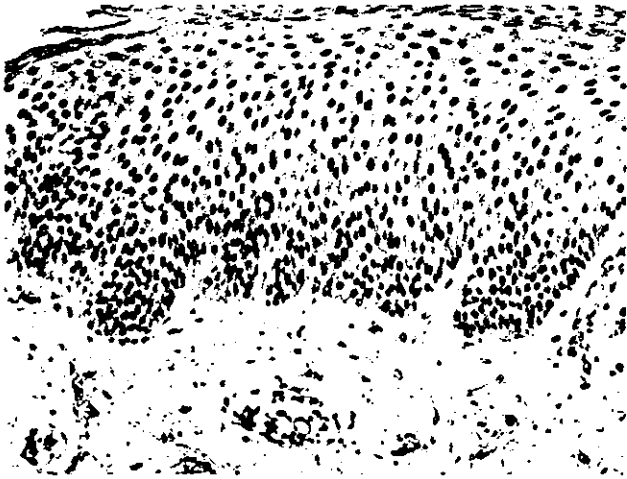
B. 方法

- 1) 天疱瘡や類天疱瘡をはじめ、コントロールとして種々の難治性皮膚疾患（乾癬、皮膚炎、腫瘍など）の病変部および健常部を採取し mRNA を得て、GeneChip 解析に加え、スライド方式の Amersham 社の CodeLink アレイにて、遺伝子発現パターンを比較する。
- 2) 解析によって得られた遺伝子発現プロファイルの違いが病態形成にどのように関与するのかを、表皮細胞、免疫担当細胞、線維芽細胞の培養系を用いて、再確認を行い、キーとなる新規の機序や分子を明らかにする。

C. 結果および D. 考察

今年度は、天疱瘡および類天疱瘡における新治験は得ることはできなかったが、1) 乾癬における Stat3 の発現上昇、2) ヒト乳頭腫ウイルス発癌における P16 ならびに hTERT 蛋白の発現上昇、の 2 点を明らかにした。乾癬表皮の核内で Stat3 が高発現していること

は表皮の過増殖を引き起こす病態形成に密接に関与していると考えられた(下図、乾癬表皮の Stat3 発現亢進) (Brit J Dermatol in press)。



またヒト乳頭腫ウイルス(HPV)の中の high risk 型は上皮細胞に感染すると高い発癌性を有することが知られている。我々は high risk HPV の感染によって癌化した表皮細胞は、p16 および Human telomerase reverse transcriptase (hTERT)を高発現していることを見出した(投稿中)。このことは p16 および hTERT の高発現は HPV 癌化のよい指標となることを示している。

E. 結論

今後もプロファイル解析を進め遺伝子発現に関する難治性皮膚疾患プロファイル一覧表を作成するとともに、様々な皮膚疾患における病態解析をさらに進めていきたい。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

1. Moroi Y, Yu B, Urabe K, Koga T, Nakahara T, Dainichi T, Uchi H, Furue M. Effects of MAPK inhibitors on CCR4-mediated chemotaxis against thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17). *J Dermatol Sci.* 36:186-8, 2004.
2. Nakahara T, Koga T, Fukagawa S, Uchi H, Furue M. Intermittent topical corticosteroid/tacrolimus sequential therapy improves lichenification and chronic papules more efficiently than intermittent topical corticosteroid/emollient sequential therapy in patients with atopic dermatitis. *J Dermatol* 31:524-8, 2004.
3. Nakahara T, Uchi H, Urabe K, Chen Q, Furue M, Moroi Y. Role of c-Jun N-terminal kinase on lipopolysaccharide induced maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Int Immunol.* 16:1701-9, 2004.
4. Nakazono-Kusaba A, Takahashi-Yanaga F, Miwa Y, Morimoto S, Furue M, Sasaguri T. PKC412 induces apoptosis through a caspase-dependent mechanism in human keloid-derived fibroblasts. *Eur J Pharmacol.* 497:155-60, 2004.
5. Zhang M, Ishii K, Hisaeda H, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Li Y, Obata C, Furue M, Himeno K. Ubiquitin-fusion degradation pathway plays an indispensable role in naked DNA vaccination with a chimeric gene encoding a syngeneic cytotoxic T lymphocyte epitope of melanocyte and green fluorescent protein. *Immunology.* 112:567-74, 2004.
6. Moroi Y, Fujita S, Fukagawa S, Mashino T, Goto T, Masuda T, Urabe K, Kubo K, Matsui H, Kagawa S, Kuroyanagi Y, Furue M. Clinical evaluation of allogeneic cultured dermal substitutes for intractable skin ulcers after tumor resection. *Eur J Dermatol* 14:172-6, 2004.
7. Furue M, Terao H, Moroi Y, Koga T, Kubota Y, Nakayama J, Furukawa F, Tanaka Y, Katayama I, Kinukawa N, Nose Y, Urabe K. Dosage and adverse effects of topical

- tacrolimus and steroids in daily management of atopic dermatitis. *J Dermatol.* 31:277-83,2004
8. Masuda T, Furue M, Matsuda T. Photocured, styrenated gelatin-based microspheres for de novo adipogenesis through corelease of basic fibroblast growth factor, insulin, and insulin-like growth factor I. *Tissue Eng* 10:523-35, 2004.
 9. Obata C, Zhang M, Moroi Y, Hisaeda H, Tanaka K, Murata S, Furue M, Himeno K. Formalin-fixed tumor cells effectively induce antitumor immunity both in prophylactic and therapeutic conditions. *J Dermatol Sci.* 34:209-19,2004.
 10. Fujii-Maeda S, Kajiwara K, Ikizawa K, Shinazawa M, Yu B, Koga T, Furue M, Yanagihara Y. Reciprocal regulation of thymus and activation-regulated chemokine/macrophage-derived chemokine production by interleukin (IL)-4/IL-13 and interferon-gamma in HaCaT keratinocytes is mediated by alternations in E-cadherin distribution. *J Invest Dermatol* 122:20-8,2004.
 11. Masuda T, Furue M, Matsuda T. Novel strategy for soft tissue augmentation based on transplantation of fragmented omentum and preadipocytes. *Tissue Eng* 10:1672-83, 2004.
 12. Nakahara T, Urabe K, Fukagawa S, Uchi H, Inaba K, Furue M, Moroi Y. Engagement of human monocyte-derived dendritic cells into interleukin (IL)-12 producers by IL-1b + interferon (IFN)-g. *Clin Exp Immunol* 139:476-82, 2005.
 13. Morita K, Urabe K, Moroi Y, Koga T, Nagai R, Horiuchi S, Furue M. Migration of keratinocytes is impaired on glycosylated collagen I. *Wound Repair Regen* 13:93-101, 2005.
 14. Saeki H, Iizuka H, Mori Y, Akasaka T, Takagi H, Kitajima Y, Tezuka T, Tanaka T, Hide M, Yamamoto S, Hirose Y, Kodama H, Urabe K, Furue M, Kasagi F, Torii H, Nakamura K, Morita E, Tsunemi Y, Tamaki K. Prevalence of atopic dermatitis in Japanese elementary schoolchildren. *Br J Dermatol* 152:110-4, 2005.
 15. Yamaguchi T, Ohshima K, Karube K, Tutiya T, Kawano R, Suefuji H, Shimizu A, Nakayama J, Suzumiya J, Moroi Y, Urabe K, Furue M, Koga T, Kikuchi M. Clinicopathological features of cutaneous lesions of adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Br J Dermatol* 152:76-81, 2005.
 16. Kobayashi J, Inai T, Morita K, Moroi Y, Urabe K, Shibata Y, Furue M. Reciprocal regulation of permeability through a cultured keratinocyte sheet by IFN-gamma and IL-4. *Cytokine* 7:186-9, 2005.
 17. Houjun Liu, Yoichi Moroi, Shinichiro Yasumoto, Hisashi Kokuba, Shinichi Imafuku, Tetsuya Koga, Teiichi Masuda, Yating Tu, Masutaka Furue, Kazunori Urabe. Immunohistochemical localization of activated Stat3 and hTERT protein in psoriasis vulgaris. *Br J Dermatol* in press
2. 学会発表
省略
- H.知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患研究事業）
分担研究報告書

血管内皮細胞における血管疾患（血栓、動脈硬化症）誘発刺激応答に関する研究

分担研究者 南 敬 東京大学先端科学技術研究センター 助教授

研究要旨

血管内皮細胞は、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)、セリンプロテアーゼ Thrombin、腫瘍壊死因子 TNF- α などのアゴニストの存在により活性化される。これらの血管新生関連刺激に伴う遺伝子変動の網羅的探索、時間的制御の比較解析から、これら活性化シグナルは転写カスケードを介して経時的に接着因子、増殖因子の発現誘導へと推移していくことが共通に認められた。そして特に刺激初期においては thrombin と VEGF のシグナルの共通項が大きいこと、VEGF 及び thrombin の共通の反応として転写因子 NF- κ B の活性化が挙げられ、その活性化のネガティブフィードバック因子である DSCR-1 が強力に誘導されてくること、また DSCR-1 が安定に存在した状態では血管新生、炎症を含む内皮の活性化状態を顕著に抑制することが遺伝子発現、機能解析の面から示唆された。

A. 研究目的

動脈硬化、血栓症、病的血管新生等の血管疾患発症の機序を培養細胞系で構築し解明するには、炎症性因子の刺激に応答する血管内皮細胞での遺伝子発現制御機構を綿密に再現し組み立てることが重要である。そこでまず、内皮細胞における刺激応答を包括的に理解するためマイクロアレイを用いてトランスクリプトーム解析を進め、機序解明に呈することを目的とした。

B. 研究方法

生理的な刺激反応を維持し、かつ安定的な供給が見込めるものとしてヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。Sub-confluent HUVEC にトロンピン (1.5U/ml) あるいは tumor necrosis factor (TNF)- α (10ng/ml) vascular endothelial cell growth factor (VEGF) (50ng/ml) を添加し、経時的に total RNA を回収した。網羅的なマイクロアレイ遺伝子解析は Affymetrix の奨める方法に従い行なった。Down syndrome critical region (DSCR)-1 遺伝子

の強制発現系は、自己増幅能欠損型のアデノウイルスを用いて行った。またマウスへの DSCR-1 発現も東京大学動物実験指針にのっとり、行った。

（倫理面への配慮）ヒトゲノム、遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日文科省、厚労省、経産省告知第一号）に従った。また細胞は公表、市販されているものであり、特定の個人に由来するものではなく、利害関係には相当しない。

C. 研究結果

VEGF, thrombin, TNF- α の各種アゴニストで刺激後、1時間（初期）、4時間（中期）、18時間（終期）でのタイムコースでもって内皮細胞における遺伝子発現の変化を網羅的に解析し、比較してみた。その結果、刺激初期においては、3つの因子で共通に誘導されるグループとして、急性期反応として代表的な転写因子 Egr-1, Egr-3, TIEG, Jun B, ATF3 が認められた。中でも Egr-1 は血管内皮細胞において動脈硬化、腫瘍進展に関わる因子とし

て知られている。また NF- κ B 活性化の指標であるフィードバック因子 I- κ B α や A20 (TNF- α induced protein 3)の発現が誘起されており、NF- κ B signal が程度の差があるにしても共通に寄与していることが示された。一方刺激後 4 時間においては、共通に誘導されるものの多くが転写因子からその産物である接着因子や増殖関連因子に移行している。また刺激の終期においては *in vivo* で腫瘍血管内皮特異的に発現するプロテオグリカン ESM-1 の発現が増大してくることが顕著であった。全体的に見て thrombin において誘導される遺伝子群は 4 時間でピークに達するのに対し、VEGF や TNF- α はより遅い時間において多くの遺伝子が各々独立して（共通でなく）誘導される傾向が見いだされた。次に、サイトカイン添加において有意に誘導される遺伝子を時間別に、かつ機能別に分類した。その結果、いずれの場合においても、刺激初期においては、転写因子、シグナル伝達因子の誘導が支配的であり、そのグループは時間の経過と共に減少していく。この転写カスケードの減少に伴い、その応答遺伝子である接着因子やレセプター、増殖性サイトカインが上昇している傾向は共通であった。しかし、詳細にその機能クラスターを見た場合、TNF- α では接着因子/レセプターの発現、そして炎症、凝固関連遺伝子が段階的に誘導されるのに対し、thrombin では緩慢に誘導され、VEGF ではむしろ一定の割合を保って時間的に推移している。またアポトーシス関連遺伝子は TNF- α 刺激で後期に顕著に誘導されているのに対し、VEGF, thrombin では全く誘導されていない。また増殖性サイトカイン、ケモカインの総数は VEGF 刺激が最も多く、次いで thrombin そして TNF- α の順であった。次に各々のアゴニスト誘導遺伝子グループの共通項を探してみた。その結果、1 時間での thrombin と VEGF 刺激での共通誘導遺伝子群が顕著で最も大きい集団であることが見いだされた。さらに両因子で最も高く誘導される遺伝子として DSCR-1 が (VEGF で 22.3

倍、thrombin で 17.7 倍誘導される) が見いだされた。

またこの DSCR-1 の発現誘導機構を分子レベルで解析するため、DSCR-1 プロモーターの活性解析、ゲルシフト解析を行った。その結果内皮細胞においては VEGF, thrombin の刺激共に転写因子 NF-ATc, GATA-2 の活性化を引き起こし、両転写因子が DSCR-1 のプロモーター領域に結合し、相乗的にこの発現誘導を促進することが明らかとなった。

次にこの DSCR-1 が VEGF や thrombin 刺激で一過性に上昇してくるその生理的意義を明らかにするため、アデノウイルスを用いた DSCR-1 の強制発現系を用いて解析を進めた。DSCR-1 はカルシニューリンの活性を阻害するので結果的に NF-AT の核移行が阻害されることが予想される。そこで HUVEC を用いて確かめたところ、VEGF や thrombin 刺激で生じる NF-ATc の核局在が DSCR-1 の安定的発現によって完全に阻害された。NF-AT は内皮細胞において増殖、血管新生を誘発する一つの因子である。そこで DSCR-1 発現による細胞増殖能の変化について FACS でみたところ、細胞周期の S 期が消失し、G0/G1 期が 90%を超える挙動を示した。また積極的にアポトーシスを誘導しないことから、細胞の増殖を G1 期で止めていることが示唆される。またコラーゲンゲル上で管腔形成能を調べてみたところ、VEGF 存在下で誘導される管腔領域は DSCR-1 高発現により約 70% 減少した。次に培養細胞系で得られた DSCR-1 の抗血管新生作用が *in vivo* でもあてはまるのかどうか、マトリゲルをマウス皮下に埋め込む matrigel-plug アッセイを用いて調べてみた。その結果、コントロールアデノウイルス感染ではゲル中に多数の新生毛細血管が見いだされたのに対し、DSCR-1 存在下ではほとんど消失していた。またこの DSCR-1 の阻害活性は活性化型 NF-AT を高発現することによって完全に中和された。さらに DSCR-1 アデノウイルスががんの進展を抑えることができるのか、B16 メラノーマ移植モデルを用い調査

した。その結果、アデノウイルス注射 14 日までの腫瘍の進展はコントロールに比べ、有意に抑制されることがわかった。

この結果から DSCR-1 は抗血管新生作用を示す細胞内因子として位置づけられる。それではこの DSCR-1 遺伝子発現によって血管内皮細胞内でどのような遺伝子変動が生じ、結果的にこのような効果を示すのか解析するため HUVEC にコントロールアデノウイルスあるいは DSCR-1 発現ウイルスを感染させ、VEGF 及び thrombin 刺激の有無で、DSCR-1 による影響が認められる遺伝子を DNA マイクロアレイを 2 回繰り返し行い探索した。その結果、VEGF あるいは thrombin 刺激によって 2 倍以上誘導し、DSCR-1 発現によってその誘導が少なくとも 2 倍以上有意に減少する遺伝子のリストとして全 8794 遺伝子中、24 個が挙げられた。機能別に分類すると、24 個中 10 個が細胞増殖、血管新生に正に作用するものであった。この中には PDGF や Angiopoietin-2, ESM-1 などが含まれている。さらに 24 個中 11 個が炎症に関わる遺伝子であり、著名なものとして、VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, フラクタルカイン、IL-8 などが挙げられた。一方 DSCR-1 のこれらの抗増殖、抗炎症作用に対し反対に作用する遺伝子は全くこの中に含まれていなかった。今度は DSCR-1 存在下で VEGF あるいは thrombin 刺激でもって減少する遺伝子が回復されるもの、及び VEGF, thrombin 刺激によって上昇する遺伝子をさらに上昇させる (super-induction) 群にあてはまる遺伝子を探索してみた。その結果、全部で 16 個の遺伝子がこの範疇に合致した。VEGF に吸着し抗血管新生作用を示す ADAMTS-1 や抗酸化作用を有する HO-1 が上昇 (super-induce) し、また細胞周期のブレーキ役の一つ p21 や抗凝固活性を持つ thrombomodulin の活性化アゴニストに伴う発現減少をブロックできることが特徴的なものとして挙げられた。

D. 考察

内皮細胞の血管新生関連刺激に伴う遺伝子変動の網羅的探索、時間的制御の比較解析から、これら活性化シグナルは転写カスケードを介して経時的に接着因子、増殖因子の発現誘導へと推移していくことは共通であるが、特に早期においては thrombin と VEGF のシグナルの共通項が大きいこと。そして共通の反応として NF-AT の活性化が挙げられ、その活性化のネガティブフィードバック因子である DSCR-1 が強力に誘導されてくること。そして DSCR-1 が安定に存在した状態では血管新生、炎症を含む内皮の活性化状態を顕著に抑制する、しかも細胞内因子であることから、これが将来毒性の少ない新規な抗血管病治療法として用いられることが期待される。

E. 結論

各種血管疾患誘発因子を用いたトランスクリプトーム解析から、遺伝子応答は各種因子で個別に生じる早期の遺伝子応答や多くの共通誘導遺伝子が存在していること。このうち thrombin, VEGF 刺激で共通に最も強く早期に誘導される DSCR-1 は血管内皮細胞活性化のネガティブフィードバック因子として作用し、これを安定的に発現させることによって、血管疾患 (病的血管新生、動脈硬化) に関わる多くの遺伝子の発現抑制をもたらし、この因子が病的状態の緩和に重要な役割をもつことが明らかとなった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Minami, T, Horiuchi, K., Miura, M., Abid, R., Takabe, W., Kohro, T., Ge, X., Aburatani, H., Hamakubo, T., Kodama, T., and Aird, W.C. (2004) VEGF- and thrombin-induced termination factor, down syndrome critical region-1, attenuates endothelial cell

- proliferation and angiogenesis J Biol Chem. 279, 50537-54
2. Minami, T., Murakami, T., Horiuchi, K., Miura, M., Noguchi, T., Miyazaki, J.I., Hamakubo, T., Aird, W.C., and Kodama, T. (2004) Interaction between Hex and GATA transcription factors in vascular endothelial cells inhibits flk-1/KDR-mediated VEGF signaling. J. Biol. Chem. 279, 20626-35
 3. Minami, T., Sugiyama, A., Wu, S.Q., Abid, R., Kodama, T., and Aird, W.C. (2004) Thrombin and Phenotype Modulation of the Endothelium. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 24,41-53.
 4. Abid MR, Guo S, Minami T, Spokes KC, Ueki K, Skurk C, Walsh K, and Aird WC. (2004) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 24:294-300
2. 学会発表
 1. Minami, T., VEGF- and thrombin-induced termination factor, DSCR-1, attenuates endothelial cell proliferation, migration and angiogenesis, Korea-Japan joint symposium on vascular biology (2004)
 2. Minami, T, DSCR-1 attenuates the endothelial cell proliferation, migration, and angiogenesis, Gordon Conference, Proctor school, NH, USA (2004)
- G. 知的財産権の出願、登録状況
1. 特許取得
癌の治療および予防薬. 国内：特願 2004-051116 出願日：2004年2月26日
PCT/JP2005/3032 出願日：2005年2月24日

IV 研究成果の刊行に関する一覧