

厚生労働科学研究費補助金
再生医療等研究事業

骨・軟骨・関節疾患を標的とした
CNP-guanylyl cyclase-B systemの
トランスレーショナルリサーチ

平成19年度 総括・分担研究報告書

平成20年（2008）3月

主任研究者 中 尾 一 和

目 次

I. 総括研究報告

骨・軟骨・関節疾患を標的とした CNP-guanylyl cyclase-B system の
トランスレーショナルリサーチに関する研究

中尾一和 ----- 1

II. 分担研究報告

1. 新規 CNP 賦活化療法の開発に関する研究

寒川賢治 ----- 7

2. マウスを用いた骨伸長障害に対する CNP/GC-B 系賦活化の展開研究

八十田明宏 ----- 11

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 16

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 21

厚生労働科学研究費補助金（再生医療等研究事業）
平成19年度総括研究報告書

骨・軟骨・関節疾患を標的とした CNP-guanylyl cyclase-B system のトランスレーショナルリサーチ
に関する研究

主任研究者：中尾 一和（京都大学大学院医学研究科 教授）

主任および分担研究者は約 20 年間にわたり、一貫して新規生理活性ペプチドの単離同定とその生理的・臨床的意義の解明に向けた研究を実践し、その成果を踏まえた臨床応用を展開してきた。特にナトリウム利尿ペプチドファミリー（ANP、BNP、CNP）の発見と心臓ホルモンとしての ANP、BNP の基礎研究ならびにその臨床応用は国際的にも最高レベルの評価を得ている。主任研究者によって達成された心不全の診断法としての ANP と BNP の測定法の開発、急性心不全の治療薬として ANP の臨床応用は、基礎研究の成果を臨床応用に発展させるトランスレーショナルリサーチのわが国における成功の一例と考えられている。更に、主任研究者はこれまでの遺伝子改変動物を用いた検討から、内軟骨性骨化において CNP とその受容体である guanylyl cyclase B (GC-B) が重要であり、CNP および GC-B ノックアウトマウスでは成長板軟骨の発育障害の結果、椎骨や四肢長管骨の著しい伸長障害が起こること、逆に軟骨に CNP を過剰発現するトランスジェニックマウスでは成長板軟骨の増大の結果、四肢長管骨の過伸長をきたすことを発見した。この発見を契機として低身長をきたす疾患である Maroteaux 型遠位中間肢異形成症が GC-B の不活性型遺伝子変異が原因であることが発見され、ヒトの骨系統疾患における CNP/GC-B 系の重要性が認識されるに至っている。以上の知見を踏まえて、主任および分担研究者はヒトゲノム・再生医療研究費を得て CNP/GC-B 系の骨・軟骨・関節軟骨を標的とした展開研究（トランスレーショナルリサーチ）を開始した。まず、内軟骨性骨化の異常によりおこる代表的疾患、軟骨無形成症のモデルマウスにおける四肢体幹の短縮が、軟骨における CNP の過剰発現により正常レベルまで改善することを明らかにした。更に CNP の軟骨細胞への作用は、軟骨無形成症の原因である 3 型 FGF 受容体の活性型遺伝子変異による MAP キナーゼ経路の活性化を抑制し、基質産生の増加により成長板軟骨を増大させることによることを明らかにした (Nat Med, 10;80, 2004)。本研究は、骨・軟骨における CNP/GC-B 系の機能的意義とその分子機構を解明し、骨、軟骨、関節を標的とする CNP/GC-B 系のトランスレーショナルリサーチを推進するものである。

分担研究者

寒川 賢治

（国立循環器病センター研究所 所長）

八十田 明宏

（京都大学大学院医学研究科 助教）

A. 研究目的

主任および分担研究者は、これまでナトリウム利尿ペプチドファミリーのトランスレーショナルリサーチを遂行し、ANP・BNP/GC-A 系の心臓血管ホルモンとしての意義の解明、診断薬、心不全治療薬としての臨床応用に成功してきた。更に本研究は CNP/GC-B 系の極めて強力な骨伸長促進作用と、関節軟骨に対する肥大化作用の発見を踏まえて、骨、軟骨、関節疾患における CNP/GC-B 系

の意義を解明し、新規治療薬としての臨床応用を実現するトランスレーショナルリサーチである。本研究により、未だ有効な治療法の確立されていない軟骨無形成症を含む先天性骨軟骨疾患のみならず、長寿社会において増加している変形性関節症等の関節軟骨病変に対する新規治療法の開発につながることを期待され、社会的意義は極めて大きい。CNP は 22 個のアミノ酸からなる内因性ペプチドであるが、一般的に内因性生理活性ペプチドは毒性や副作用の少ない生体内分子であることより、臨床応用に際する安全性が極めて高い。また、BMP-2, BMP-7, FGF 等の骨、軟骨増殖因子と比較しても安価であり、医療経済的にも期待される。血中または関節液中 CNP 濃度の測定は軟骨マーカーとして骨系統疾患の診断、変形

性関節症の進行度の診断へ臨床応用が期待できる。また、CNPの基本特許、CNPの骨、軟骨、関節疾患への用途特許は主任および分担研究者によるものであり、我国の知的財産である。以上のような状況を踏まえ、今年度は昨年度に引き続きCNP/GC-B系賦活化に関するさらなる展開、およびよりCNPの臨床使用を念頭においた具体的な投与モデルを、骨系統疾患モデルマウスを用いて検討し、さらなる研究をすすめた。

B. 研究方法

昨年度に引き続いてCNP投与モデルとして、循環血液中のCNP濃度を上昇させるserum amyloid P component (SAP) promoterを用いたCNP過剰発現トランスジェニック(SAP-CNP-Tg)マウス、および野生型マウスに対する合成CNP投与を用いた解析を継続した。まず、マウス血中CNP濃度測定法を確立し、両モデルにおける血中CNP濃度測定をおこなって、正常マウスと比較した。さらに、骨系統疾患の代表的疾患である軟骨無形成症のモデルマウスを用いて、血中CNP濃度上昇の骨伸長障害に対する効果を検討した。すなわち、活性変異型FGFR3を軟骨に過剰発現させた軟骨無形成症モデルマウス(Achマウス)の血中CNP濃度を、AchマウスとSAP-CNP-Tgマウスとの交配実験、およびAchマウスに対する合成CNP投与により上昇させ、軟X線写真や組織学的所見を用いてその骨伸長障害に対する治療効果を解析した。

また、昨年度のC受容体を介したCNP/GC-B系賦活化の解析に引き続き、新たなGC-B賦活化法として、血中BNP濃度上昇の効果をSAPプロモーターを用いたBNPトランスジェニックマウス(SAP-BNP-Tgマウス)を用いて検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては京都大学動物実験委員会、および国立循環器病センター研究所動物実験委員会に申請し、承認を得ている(MedKyo01094)。組み替えDNA実験計画について京都大学の承認を得ている。ヒトの血液、CNP関連遺伝子解析に関しては患者、その他関係者の人権及び利益の保護の取扱いについて十分配慮した研究計画書を作製し、京都大学大学院医

学研究科・医の倫理委員会の承認を得ている(G20-3)。

C. 研究結果

1. 骨系統疾患モデルマウスに対する血中CNP濃度上昇の効果の検討

野生型マウスに対して体外式ポンプによりCNPを持続静注することにより、投与量依存性の血中CNP濃度の上昇がLC-MS法にて確認された。また、昨年度までにCNP投与モデルとしてのSAP-CNP-Tgマウスの作製をおこない、CNPノックアウトマウスとの交配実験によってCNP欠損状態における骨伸長障害の改善効果を確認したが、ラジオイムノアッセイ法によりSAP-CNP-Tgマウス血中CNP濃度が野生型マウスと比較して有意に上昇していることが確認された。この結果をもとに、Achマウスに対するSAP-CNP-Tgマウスの交配実験によりAchマウスの血中CNP濃度を上昇させるダブルトランスジェニック(Ach/SAP-CNP-Tg)マウスを作製したところ、Achマウスに認められた成長板軟骨幅の狭小化は改善し、内軟骨性骨化により形成される骨の伸長障害は回復した。さらに、Achマウスに対して合成CNPを投与することにより、Achマウスの骨伸長障害は野生型マウスとほぼ同程度まで改善した。

2. その他のCNP/GC-B系賦活化法の開発

CNPノックアウトマウスとSAP-BNP-Tgマウスを交配させることによってSAP-BNP-TgかつCNPノックアウトマウスを作成し、CNP欠損状態におけるBNPの骨伸長促進効果を検討したところ、SAP-BNP-TgかつCNPノックアウトマウスにおいて、野生型マウスには及ばないものの、CNPノックアウトマウスと比較して有意な骨伸長促進が確認された。組織学的解析にても、狭小化したCNPノックアウトマウス成長板の改善が示された。

D. 考察

本年度は前年度までの臨床応用に直接繋がる研究をさらに展開した。まず、前年度に確立した2つの血中濃度上昇のためのアプローチについての基礎検討をさらにすすめたうえで、これらの手法を用いて、疾患モデルマウス(軟骨無形成症モデルマウス)に対する効果を検討し、臨床展開を推進した。その結果、循環血中CNP濃度の上昇

により軟骨無形成症モデルマウスにおける骨伸長障害が改善し、薬物としての CNP の全身投与が軟骨無形成症をはじめとする骨系統疾患に有効であることが強く示唆された。

一方でCNP/GC-B系賦活化のための基礎検討も継続しており、本年度は CNP より血中半減期の長いナトリウム利尿ペプチドファミリーのメンバーであり、GC-B に対するリガンドとして作用しうる BNP の内軟骨性骨化による骨伸長促進作用について検討した。予想通り、BNP にも CNP より弱いものの、骨伸長促進作用が確認され、BNP が GC-B 賦活化のためのひとつの候補として臨床応用されうる可能性が示された。

E. 結論

本年度の昨年度に引き続く展開研究により、骨・軟骨疾患をターゲットとした CNP/GC-B 系のトランスレーショナルリサーチがさらに推進された。より効率的な投与方法の確立を目指した CNP 投与以外の CNP/GC-B 系賦活化のための基礎検討や、関節軟骨に関する更なる展開研究は必要であるが、今後早期の臨床使用がおこなわれることも期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. K. Moriyama, T. Tagami, T. Usui, M. Naruse, T. Nambu, Y. Hataya, N. Kanamoto, Y. Li, A. Yasoda, H. Arai, and K. Nakao. Antithyroid drugs inhibit thyroid hormone receptor-mediated transcription. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92:1066-1072, 2007.
2. T. Ishii, H. Masuzaki, T. Tanaka, N. Arai, S. Yasue, N. Kobayashi, T. Tomita, M. Noguchi, J. Fujikura, K. Ebihara, K. Hosoda, and K. Nakao. Augmentation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in LPS-activated J774.1 macrophages - Role of 11 β -HSD1 in pro-inflammatory properties in macrophages. *FEBS Lett.* 581:0349-354, 2007.
3. T. Majima, Y. Komatsu, A. Fukao, K. Ninomiya, T. Matsumura, and K. Nakao. Short-term effects of atorvastatin on bone turnover in male patients with hypercholesterolemia. *Endocr. J.* 54:145-151, 2007.
4. S. Kuratomi, A. Kuratomi, K. Kuwahara, T. Ishii, K. Nakao, Y. Saito, and M. Takano. NRSF regulates the developmental and hypertrophic changes of HCN4 transcription in rat cardiac myocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 353:67-73, 2007.
5. K. Ebihara, T. Kusakabe, M. Hirata, H. Masuzaki, F. Miyanaga, N. Kobayashi, T. Tanaka, H. Chusho, T. Miyazawa, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Ogawa, AM Depaoli, M. Fukushima, and K. Nakao. Efficacy and safety of leptin-replacement therapy and possible mechanisms of leptin actions in patients with generalized lipodystrophy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92:532-541, 2007.
6. T. Tanaka, H. Masuzaki, S. Yasue, K. Ebihara, T. Shiuchi, T. Ishii, N. Arai, M. Hirata, H. Yamamoto, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Minokoshi and K. Nakao. Central Melanocortin Signaling Restores Skeletal Muscle AMP-Activated Protein Kinase Phosphorylation in Mice Fed a High-Fat Diet. *Cell Metab.* 55:395-402, 2007.
7. M. Sone, H. Itoh, K. Yamahara, J. Yamashita, T. Yurugi-Kobayashi, A. Nonoguchi, Y. Suzuki, T-H. Chao, N. Sawada, Y. Fukunaga, K. Miyashia, K. Park, N. Oyamada, N. Sawada, D. Taura, N. Tamura, Y. Kondo, S. Nito, H. Suemori, N. Nakatsuji, S. Nishikawa, and K. Nakao. Pathway for differentiation of human embryonic stem cells to vascular cell components and their potential for vascular regeneration. *Arterioscler. Throm. Vasc. Biol.* 27:2127-2134, 2007.
8. M. Nakanishi, M. Harada, E. Tadamura, H. Kotani, R. Kawakami, K. Kuwahara, Y. Nakagawa, S. Usami, H. Kinoshita, M. Fujiwara, K. Hosoda, K. Ueshima, and K. Nakao. Mitochondrial cardiomyopathy evaluated with cardiac magnetic resonance. *Circulation* 116:e25-e26, 2007.
9. H. Iwakura, T. Akamizu, H. Ariyasu, T. Irako, K. Hosoda, K. Nakao, and K. Kangawa. Effects of ghrelin administration on decreased growth hormone status in obese animals. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293:e819-e825, 2007.
10. K. Sawai, M. Mukoyama, K. Mori, M. Kasahara, M. Koshikawa, H. Yokoi, T. Yoshioka, Y. Ogawa, A. Sugawara, H. Nishiyama, S. Yamada, T. Kuwahara, M.A. Saleem, K. Shiota, O. Ogawa, M. Miyazato, K. Kangawa, and K. Nakao. Expression of CCN1 (CYR61) in developing, normal, and diseased human kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 293:F1363-F1372, 2007.
11. H. Yokoi, M. Mukoyama, K. Mori, M. Kasahara, T. Suganami, K. Sawai, T. Yoshioka, Y. Saito, Y.

- Ogawa, T. Kuwabara, A. Sugawara, and K. Nakao. Overexpression of connective tissue growth factor in podocytes worsens diabetic nephropathy in mice. *Kidney Int.* 73:446-55, 2007.
12. K. Mori, and K. Nakao. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. *Kidney Int.* 71:967-970, 2007.
 13. J. Fujikura, K. Hosoda, Y. Kawaguchi, M. Noguchi, H. Iwakura, S. Odori, E. Mori, T. Tomita, M. Hirata, K. Ebihara, H. Masuzaki, A. Fukuda, K. Furuyama, K. Tanigaki, D. Yabe, and K. Nakao. Rbp-j regulates expansion of pancreatic epithelial cells and their differentiation into exocrine cells during mouse development. *Dev Dyn.* 236:2779-2791, 2007.
 14. M. Noguchi, K. Hosoda, J. Fujikura, M. Fujimoto, H. Iwakura, T. Tomita, T. Ishii, N. Arai, M. Hirata, K. Ebihara, H. Masuzaki, H. Itoh, S. Narumiya, and K. Nakao. Genetic and pharmacological inhibition of Rho-associated kinase II enhances adipogenesis. *J Biol Chem.* 282:29574-29583, 2007.
 15. N. Arai, H. Masuzaki, T. Tanaka, T. Ishii, S. Yasue, N. Kobayashi, T. Tomita, M. Noguchi, T. Kusakabe, J. Fujikura, K. Ebihara, M. Hirata, K. Hosoda, T. Hayashi, H. Sawai, Y. Minokoshi, and K. Nakao. Ceramide and AMP-activated Protein Kinase are Two Novel Regulators of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Expression and Activity in Cultured Preadipocytes. *Endocrinology.* 148:5268-77, 2007.
 16. S. Nakano, Y. Inada, H. Masuzaki, T. Tanaka, S. Yasue, T. Ishii, N. Arai, K. Ebihara, K. Hosoda, K. Maruyama, Y. Yamazaki, N. Shibata, and K. Nakao. Bezafibrate regulates the expression and enzyme activity of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in murine adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 292:E1213-22, 2007.
 17. L. Miyamoto, T. Toyoda, T. Hayashi, S. Yonemitsu, M. Nakano, S. Tanaka, K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Hosoda, Y. Ogawa, G. Inoue, T. Fushiki, and K. Nakao. Effect of acute activation of 5'-AMP-activated protein kinase on glycogen regulation in isolated rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 102:1007-13, 2007.
 18. K. Park, H. Itoh, K. Yamahara, M. Sone, K. Miyashita, N. Oyamada, N. Sawada, D. Taura, M. Inuzuka, T. Sonoyama, H. Tsujimoto, Y. Fukunaga, N. Tamura, and K. Nakao. Therapeutic potential of atrial natriuretic peptide administration on peripheral arterial diseases. *Endocrinology.* 149:48-91, 2007.
 19. T. Ogihara, K. Nakao, T. Fukui, K. Fukiyama, K. Ueshima, K. Oba, T. Sato, T. Saruta, for the CASE-J Trial Group. Effects of candesartan compared with amlodipine for treatment of hypertensive patients with high cardiovascular risks in CASE-J trial. *Hypertension* 51:393-398, 2008
- ## 2. 学会発表
- ### 国内学会
1. 中尾一和、日本で実施された大規模臨床試験の意義、JMCV (Japan Metabolic & CV) Forum、2007年(平成19年)4月6日(大阪市)
 2. 中尾一和、Metabolic Syndromeと肥満—MONK研究とCASE-J研究から学んだこと—、第27回日本医学会総会 パネルディスカッション メタボリックシンドローム I、2007年(平成19年)4月7日(大阪市)
 3. 中尾一和、現代病としてのメタボリックシンドロームの意義と問題点、第31回東海プロスタグランディン研究会、2007年(平成19年)4月14日(名古屋市)
 4. 中尾一和、高血圧とメタボリックシンドロームのEBMとトランスレーショナルリサーチ、第8回KK21抗老化・高血圧研究会、2007年(平成19年)4月20日(大阪市)
 5. 中尾一和、生活習慣病の予防・治療戦略とWiiに関する討論会、生活習慣病増加の背景と取組み、2007年(平成19年)4月23日(京都市)
 6. 中尾一和、臨床研究の重要性、内分泌代謝内科集中セミナー、2007年(平成19年)4月24日(京都市)
 7. 中尾一和、メタボリックシンドロームの意義と問題点 OCFR研究会、2007年(平成19年)4月27日(那覇市)
 8. 中尾一和、メタボリックシンドロームの臨床的意義、INSPIRE ME IAA キックオフミーティング、2007年(平成19年)5月20日(東京都)
 9. 中尾一和、メタボリックシンドロームの意義と問題点、第43回日本循環器病予防学会、2007年(平成19年)5月26日(大津市)
 10. 中尾一和、21世紀の日本人の高血圧症と肥満—Lessons from CASE-J—、第80回日本内分泌学会総会ランチョンセミナー、2007年(平成19年)6月14日(東京都)
 11. 中尾一和、21世紀の臨床研究—メタボリックシンドロームの意義と問題点—、第8回群馬県抹消血管病態研究会、2007年(平成19年)6月22日(前橋市)
 12. 中尾一和、Clinical Implication of Metabolic Syndrome and Adiposience、The 1st Hypertension and Metabolic Syndrome Symposium、2007年(平成19年)6月23日

(大阪市)

13. 中尾一和、21世紀の臨床研究、第13回成人病の成因・病態の解明に関する研究会、2007年(平成19年)7月1日(軽井沢市)
 14. 中尾一和、我国のメタボリックシンドロームと高血圧の治療戦略-CASE-Jが示したもの-、プロプレス発売8周年記念学術講演会、2007年(平成19年)7月6日(宮崎市)
 15. 中尾一和、メタボリックシンドロームの臨床的意義と今後の課題、第4回和歌山メタボリックシンドローム研究会、2007年(平成19年)7月7日(和歌山市)
 16. 中尾一和、我国のメタボリックシンドロームと高血圧の治療戦略-CASE-Jが示したもの-、第9回山形県ARB研究会、2007年(平成19年)7月11日(山形市)
 17. 中尾一和、現代病であるメタボリック症候群の意義と今後の課題、ゼチーア新発売記念講演会、2007年(平成19年)7月13日(奈良市)
 18. 中尾一和、我国のメタボリックシンドロームと高血圧の治療戦略~CASE-Jが示したもの~、プロプレス発売8周年記念学術講演会、2007年(平成19年)7月24日(大分市)
 19. 中尾一和、現代病であるメタボリックシンドロームの意義と今後の課題、福島ホルモンカンファレンス、2007年(平成19年)8月4日(福島市)
 20. 中尾一和、我国のメタボリックシンドロームと高血圧の治療戦略~CASE-Jが示したもの~、プロプレス発売8周年記念学術講演会、2007年(平成19年)8月9日(仙台市)
 21. 中尾一和、メタボリックシンドロームの臨床的意義と展望、循環器・脂質代謝webカンファレンス、2007年(平成19年)8月23日(大阪市)
 22. 中尾一和、メタボリックシンドロームと高血圧、全国CASE-Jサミット 基調講演、2007年(平成19年)8月25日(東京都)
 23. 中尾一和、内分泌機能とバイオマーカー-生活習慣病を標的として-、第56回高分子討論会、2007年(平成19年)9月19日(名古屋市)
 24. 中尾一和、心臓血管ホルモンのトランスレショナルリサーチ、第一三共 Sponsored Research Program、2007年(平成19年)10月5日(東京都)
 25. 中尾一和、肥満症及びメタボリックシンドロームと高血圧-Lessons from CASE-J sub-analysis、第12回武田高血圧シンポジウム、2007年(平成19年)10月6日(大阪市)
 26. 中尾一和、メタボリックシンドロームの意義と今後の課題、第19回岡山生活習慣病懇話会、2007年(平成19年)10月16日(岡山市)
 27. 中尾一和、生活習慣病(メタボリックシンドローム)と青谿書院、琵琶湖疏水、第2回八高会親睦総会、2007年(平成19年)10月20日(養父市)
 28. 中尾一和、肥満と臨床研究、第29回日本臨床栄養学会総会・第28回日本臨床栄養協会総会、2007年(平成19年)11月18日(京都市)
 29. 中尾一和、メタボリックシンドロームの成因と治療、第35回内科学の展望、2007年(平成19年)11月18日(神戸市)
 30. 中尾一和、メタボリックシンドロームの意義と今後の課題、京都府薬剤師会・京都府病院薬剤師会学術講演会、2007年(平成19年)11月22日(京都市)
 31. 中尾一和、我国のメタボリックシンドロームと高血圧の治療戦略~CASE-Jが示したもの~、21世紀の日本人における降圧療法、2007年(平成19年)11月27日(川越市)
 32. 中尾一和、メタボリックシンドロームの臨床的意義と今後の課題、第5回メタボリックシンドロームを考える-実地医家の為の予防と治療の観点から-、2007年(平成19年)11月30日(小山市)
 33. 中尾一和、内分泌代謝学と臨床研究-メタボリックシンドロームを具体例に-、第98回北九州内分泌研究会、2007年(平成19年)12月4日(北九州市)
 34. 中尾一和、メタボリック症候群の臨床的意義と今後の課題、平成20年度日本内科学会生涯教育講演会、2008年(平成20年)2月3日(大阪市)
 35. 中尾一和、内分泌代謝学と臨床研究、第8回日本内分泌学会中国支部学術集会 特別講演、2008年(平成20年)3月1日(米子市)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許
 1. 特願 2004-107871
GC-B (guanyryl cyclase B)を活性化する分子を用いた身長増加用組成物
 2. 特願 2004-107924
GC-B (guanyryl cyclase B)を活性化する分子を用いた変形性関節症および関節炎治療剤または予防剤
 3. 特願 2004-25631
内皮細胞分化増殖方法
 4. 特願 2004-184138

- 霊長類動物胚性幹細胞から発生初期血管内皮細胞の製造方法及びその細胞の使用
5. 特願 2002-248232
NRSE及びNRSFの利用法
 6. 特願 2001-310322
軟骨無形成症治療剤
 7. 特願 2001-301586
軟骨無形成症治療剤
 8. 特許 3267893
- 自己免疫疾患の診断薬
9. 特許 3343866
ハムスター脳のナトリウム利尿ペプチド
 10. 特許 2036732
 α -hANP を認識するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ
2. 実用新案登録
なし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療等研究事業）
平成19年度分担研究報告書

新規 CNP 賦活化療法の開発に関する研究

分担研究者：寒川 賢治（国立循環器病センター研究所 所長）

内因性生理活性ペプチドは生体内分子であり、臨床応用にあたって毒性や副作用が少ないという利点を持つ。一方、生体内において分解を受けやすい等の問題点もあり、その克服はペプチド創薬における重要なポイントである。CNP/GC-B系の極めて強力な骨伸長促進作用を臨床応用するにあたり、長時間作用型ペプチド製剤の開発、非ペプチド性GC-Bアゴニストの開発とならんでペプチド製剤であるCNPのdrug delivery systemの開発が期待される所以である。分担研究者はこれまでナトリウム利尿ペプチドファミリーの発見からトランスレーショナルリサーチの推進にまで携わり、ANP・BNP/GC-A系の心臓血管ホルモンとしての意義の解明、診断薬、心不全治療薬としての臨床応用に成功してきた。本研究においては、もうひとつのナトリウム利尿ペプチド系であるCNP/GC-B系の骨伸長促進作用および関節軟骨肥大化作用を骨・軟骨・関節疾患に臨床展開するにあたっての新たな賦活化療法の開発を担当する。本年度は小ペプチドとして血中半減期の短いCNPの弱点を克服するアゴニストの候補としてBNPに着目し、血中BNP濃度が上昇するトランスジェニックマウスを用いた内軟骨性骨化による骨伸長促進作用の可能性について検討した。

A. 研究目的

分担研究者はこれまでナトリウム利尿ペプチドファミリーの発見からトランスレーショナルリサーチまでを推進し、ANP・BNP/GC-A系の心臓血管ホルモンとしての意義の解明、診断薬、心不全治療薬としての臨床応用に成功してきた。更に本研究はCNP/GC-B系の極めて強力な骨伸長促進作用と、関節軟骨に対する肥大化作用の発見を踏まえて、骨・軟骨・関節疾患におけるCNP/GC-B系の意義を解明し、新規治療薬としての臨床応用を実現するトランスレーショナルリサーチである。本研究が、骨伸長障害を主徴とし、未だ有効な薬物治療の確立されていない骨系統疾患や、長寿社会において増加している変形性関節症等の関節軟骨病変に対する新規治療法の開発につながることを期待され、その社会的意義は極めて大きい。CNPは22個のアミノ酸からなる内因性ペプチドであるため安全性においても問題点は少なく、BMP-2, BMP-7, FGF等の骨、軟骨増殖因子と比較して安価であるため医療経済的にも期待される。血中または関節液中CNP濃度の測定は軟骨マーカーとして骨系統疾患の診断、変形性関節症の進行度の診断へ臨床応用が期待できる。また、CNPの基本特許、CNPの骨、軟骨、関節疾患への用途特許は分担研究者と主任研究者による

ものである。昨年度は新たなCNP/GC-B賦活法の探索として、クリアランス受容体の意義について検討したが、本年度はすでに薬剤として臨床使用されており、CNPより安定性で勝るナトリウム利尿ペプチドファミリーのメンバーであるBNPのGC-Bに対するアゴニスト作用について遺伝子組換えマウスを用いた解析をおこなった。

B. 研究方法

BNPのGC-Bに対するアゴニスト作用についての解析

肝臓における導入遺伝子の発現を可能とし、その血中濃度を上昇させるSAPプロモーターを用いたBNPトランスジェニックマウス(SAP-BNP-Tgマウス)において、GC-Bを介した骨の過伸長を認めることを主任研究者らはすでに報告しているが(*Endocrinology* 2000)、今回CNPノックアウトマウスとSAP-BNP-Tgマウスとの交配実験によって、CNP欠損状態における、BNPの内軟骨性骨化による骨伸長に対する効果を検討した。すなわち、CNPヘテロノックアウトマウスとSAP-BNP-Tgマウスを交配することによってCNPヘテロノックアウトマウスかつSAP-BNP-Tgマウスを作製し、さらにこのマウスとCNPヘテロノックアウトマウスを交配さ

せることによって CNP ホモノックアウト (CNP KO) かつ SAP-BNP-Tg マウス (CNP KO/SAP-BNP-Tg マウス) を作製して、その内軟骨性骨化により規定される骨伸長状態を軟 X 線写真や組織学的手法により解析し、CNP KO マウスあるいは野生型マウスと比較した。さらに、CNP KO マウス胎仔脛骨器官培養に BNP を添加し、その効果を解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては国立循環器病センター研究所動物実験委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

成長曲線から、CNP KO/SAP-BNP-Tg マウスにおいて、野生型マウスには及ばないものの、CNP KO マウスと比較して有意な吻臀長の増大が確認された(図1)。

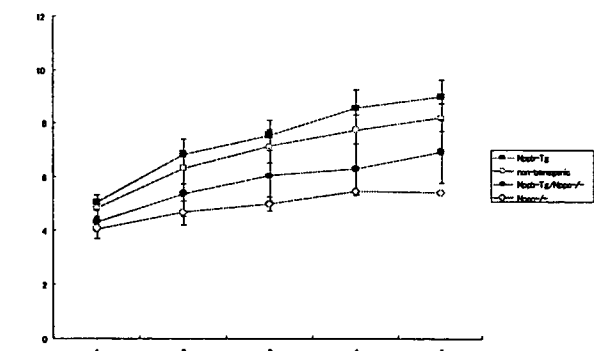
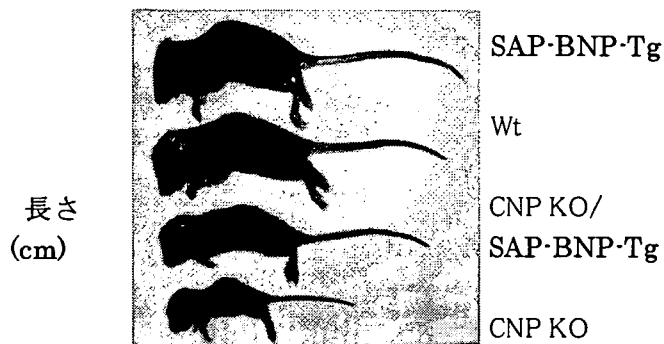


図1. 各遺伝子型マウスの外観(上段、2週齢)と成長曲線軟(下段)

軟 X 線写真による各骨の計測においても、CNP KO/SAP-BNP-Tg マウスでは、野生型マウスには及ばないものの、CNP KO マウスよりも内軟骨性骨化により形成される各骨長の増大が確認された(図2)。さらに組織学的解析により、CNP KO マウスに認

められた成長板軟骨幅の狭小化が CNP KO/SAP-BNP-Tg マウスにおいて改善した。

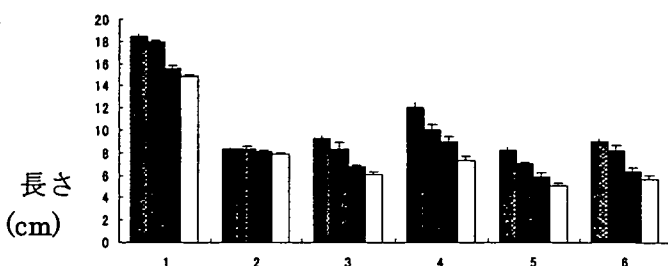


図2. 軟 X 線写真による各骨の長さの比較

1. 頭蓋骨前後径、2. 頭蓋骨横径、3. 脛骨、4. 上腕骨、5. 尺骨、6. 大腿骨

各カラムは左から SAP-BNP-Tg、Wt、CNP KO/SAP-BNP-Tg、CNP KO マウス

また、器官培養において、合成 BNP は濃度依存性に培養 CNP ノックアウトマウス胎仔脛骨の伸長を促進した (図3)。

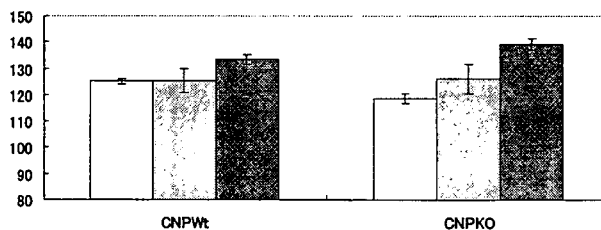


図3. CNP ノックアウトマウス胎仔脛骨器官培養における BNP の効果

Y 軸は実験開始時からの伸び率 (%)。各カラムは左より vehicle 添加群、BNP $10^{-7}M$ 添加群、同 $10^{-6}M$ 添加群

D. 考察

本年度の研究において、CNP/GC-B 系賦活化のストラテジーとしての BNP 投与の意義が検討された。BNP は CNP より大型のペプチドであり、血中半減期が長く安定である利点を持つ。また、実際海外では心不全の治療薬として使用されていることから、安全性においても問題はない。今回の検討で CNP 欠損状態において BNP が内軟骨性骨化により形成される骨の伸長を促進することが示された。

E. 結論

内因性生理活性ペプチドは生体内分子であり、臨床応用にあたって毒性や副作用が少ないという利点を持つ。一方、生体内において分解を受けやすい等の問題点もあり、その克服はペプチド創薬における重要なポイントである。CNP/GC-B系の極めて強力な骨伸長促進作用を臨床応用するにあたり、長時間作用型ペプチド製剤の開発、非ペプチド性GC-Bアゴニストの開発が期待されるが、今回すでに臨床使用をされており、血中半減期の問題を改善する薬物として、BNPがCNP/GC-B系の賦活化に対して臨床的に有効である可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 発表

1. 論文発表

1. Obata H, Yanagawa B, Tanaka K, Ohnishi S, Kataoka M, Miyahara Y, Ishibashi-Ueda H, Kodama M, Aizawa Y, Kangawa K, Nagaya N. CNP infusion attenuates cardiac dysfunction and inflammation in myocarditis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007, 356:60-6.
2. Nishida H, Horio T, Suzuki Y, Iwashima Y, Kamide K, Kangawa K, Kawano Y. Plasma adrenomedullin as an independent predictor of future cardiovascular events in high-risk patients: Comparison with C-reactive protein and adiponectin. *Peptides.* 2007, 29:599-605.
3. Ichikawa-Shindo Y, Sakurai T, Kamiyoshi A, Kawate H, Iinuma N, Yoshizawa T, Koyama T, Fukuchi J, Iimuro S, Moriyama N, Kawakami H, Murata T, Kangawa K, Nagai R, Shindo T. The GPCR modulator protein RAMP2 is essential for angiogenesis and vascular integrity. *J Clin Invest.* 2008, 118:29-39.
4. Obata H, Sakai Y, Ohnishi S, Takeshita S, Mori H, Kodama M, Kangawa K, Aizawa Y, Nagaya N. Single injection of a sustained-release prostacyclin analog improves pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008, 177:195-201.
5. Kojima M, Kangawa K. Structure and function of ghrelin. *Seikagaku.* 79:853-67, 2007.
6. Schwenke DO, Pearson JT, Kangawa K, Umetani K, Shirai M. Changes in macrovessel pulmonary blood flow distribution following chronic hypoxia: assessed using synchrotron radiation microangiography. *J Appl Physiol.* 2008, 104:88-96.
7. Sato S, Hanada R, Kimura A, Abe T, Matsumoto T, Iwasaki M, Inose H, Ida T, Mieda M, Takeuchi Y, Fukumoto S, Fujita T, Kato S, Kangawa K, Kojima M, Shinomiya K, Takeda S. Central control of bone remodeling by neuromedin U. *Nat Med.* 2007, 213:1234-40.
8. Miyazato M, Mori K, Ida T, Kojima M, Murakami N, Kangawa K. Identification and functional analysis of a novel ligand for G protein-coupled receptor, Neuromedin S. *Regul Pept.* 2008, 145:37-41.
9. Sakamoto T, Mori K, Nakahara K, Miyazato M, Kangawa K, Sameshima H, Murakami N. Neuromedin S exerts an antidiuretic action in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007, 361:457-61.
10. Yanagawa B, Kataoka M, Ohnishi S, Kodama M, Tanaka K, Miyahara Y, Ishibashi-Ueda H, Aizawa Y, Kangawa K, Nagaya N. Infusion of adrenomedullin improves acute myocarditis via attenuation of myocardial inflammation and edema. *Cardiovasc Res.* 2007, 76:110-8.
11. Itoh T, Obata H, Murakami S, Hamada K, Kangawa K, Kimura H, Nagaya N. Adrenomedullin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007, 293:L446-52.
12. Yoshihara F, Ernst A, Morgenthaler NG, Horio T, Nakamura S, Nakahama H, Nakata H, Bergmann A, Kangawa K, Kawano Y. Midregional proadrenomedullin reflects cardiac dysfunction in haemodialysis patients with cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2007, 22:2263-8.
13. Watanabe K, Nishikimi T, Takamuro M, Yasuda K, Ishikawa Y, Tanabe S, Yamada O, Yagihara T, Suga S, Kangawa K, Matsuoka H, Echigo S. Possible role of adrenomedullin in the regulation of Fontan circulation: mature form of plasma adrenomedullin is extracted in the lung in patients with Fontan procedure. *Regul Pept.* 2007, 141:129-34.
14. Schwenke DO, Pearson JT, Tsuchimochi H, Kangawa K, Shirai M. Pulmonary vascular reactivity of spontaneously hypertensive rats is exacerbated in response to the central administration of exogenous nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007, 34:88-94.
15. Pearson JT, Shirai M, Yokoyama C, Tsuchimochi H, Schwenke DO, Shimouchi A, Kangawa K, Tanabe T. Alpha2-adrenoreceptor mediated sympathoinhibition of heart rate during acute hypoxia is diminished in conscious

prostacyclin synthase deficient mice. *Pflugers Arch.* 2007, 454:29-39.

16. Ohnishi S, Yanagawa B, Tanaka K, Miyahara Y, Obata H, Kataoka M, Kodama M, Ishibashi-Ueda H, Kangawa K, Kitamura S, Nagaya N. Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates myocardial injury and dysfunction in a rat model of acute myocarditis. *J Mol Cell Cardiol.* 2007, 42:88-97.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

国内特許 4 件

国際特許 3 件

厚生労働科学研究費補助金（再生医療等研究事業）
平成19年度分担研究報告書

マウスを用いた骨伸長障害に対する CNP/GC-B 系賦活化の展開研究

分担研究者：八十田 明宏（京都大学大学院医学研究科 助教）

ナトリウム利尿ペプチドファミリーは、これまで水電解質代謝調節など循環器系における重要性が証明されており、特に ANP・BNP/GC-A システムについては、ANP、BNP がそれぞれ心房および心室から分泌される循環ホルモンとして心不全や心肥大の最も鋭敏な生化学的マーカーとなること、さらに ANP および BNP が急性心不全の治療薬として有効であることが報告されてきた。以前よりナトリウム利尿ペプチドファミリーのうち CNP は骨軟骨由来の細胞にも存在し、作用することが知られていたが、serum amyloid P-component promoter を用いて肝臓で BNP を過剰発現し、血中 BNP 濃度が上昇するトランスジェニックマウスが予想しなかった著明な骨伸長を呈したことより、はじめてナトリウム利尿ペプチドファミリーの全く新しい作用としての骨伸長促進作用が明らかとなった。その後、器官培養系を用いて直接ナトリウム利尿ペプチドファミリーの骨伸長に対する作用を検討した結果、ナトリウム利尿ペプチドファミリーのうち CNP が最も強い骨伸長促進作用をもち、実際、骨軟骨組織に CNP のみが発現していることが確認された。続いて作成された CNP 遺伝子欠損マウスでは骨の伸長障害が、軟骨特異的に CNP を過剰発現するトランスジェニックマウスでは骨の伸長促進が認められ、ANP、BNP、GC-A の各遺伝子欠損マウスに骨格異常が認められないこととあわせて骨の伸長促進には CNP/GC-B 系が重要であることが明らかとなった。以上のように明らかにされた CNP/GC-B 系賦活化の骨伸長促進作用に関して、それを臨床展開するためのより具体的な方法についての研究を推進した。

A. 研究目的

ナトリウム利尿ペプチドファミリーは3種類の内因性リガンド、心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)、脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)によって構成される。ANP、BNPはそれぞれ主に心房、心室から生合成、分泌され、共通の受容体であるA型グアニル酸シクラーゼ(guanylyl cyclase-A, GC-A)を介して、利尿作用、ナトリウム利尿作用、

血管平滑筋弛緩作用に基づく血圧降下作用、さらにはアルドステロン分泌抑制作用など、多彩な生物作用を発現する。一方、局所因子として作用する CNP およびその受容体 B 型グアニル酸シクラーゼ (guanylyl cyclase-B, GC-B) は重要な内軟骨性骨化調節因子であり、その賦活化により骨伸長を強力に促進することが遺伝子改変マウスを用いた解析から明らかとなってきた。当該研究はこの作用を骨・軟骨・関節疾患に適

応するトランスレーショナルリサーチであるが、特にその骨伸長促進作用に注目した骨伸長障害への臨床展開はその中心をなす。昨年度まで CNP/GC-B 系賦活化のための具体的な方法についての研究をすすめたが、今年度はし、さらに疾患モデルマウスを用いた解析をおこなった。

B. 研究方法

1. CNP/GC-B系賦活化のための血中CNP濃度上昇モデルの解析

昨年度に引き続いて CNP 投与モデルとして、循環血液中の CNP 濃度を上昇させる serum amyloid P component (SAP) promoter を用いた CNP 過剰発現トランスジェニック (SAP-CNP-Tg) マウス、および野生型マウスに対する合成 CNP 投与についての解析を継続した。すなわち、ラジオイムノアッセイ法や LC-MS 法にてそれぞれの血中 CNP 濃度を測定し、正常血中 CNP 濃度との比較をおこなった。

2. 軟骨無形成症モデルマウスに対する血中 CNP 濃度上昇の効果の検討

活性変異型 FGFR3 を軟骨に過剰発現させた軟骨無形成症モデルマウス (Ach マウス) の血中 CNP 濃度を上昇させることにより、その骨伸長障害に対する効果を検討した。すなわち、Ach マウスと SAP-CNP-Tg マウスとの交配実験、および Ach マウスに対する合成 CNP 投与による効果を軟 X 線写真や組織学的所見により検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては京都大学動物実験委員会に申請し、承認を得ている (MedKyo01094)。組み替え DNA 実験計画について京都大学の承認を得ている。

C. 研究結果

1. CNP/GC-B系賦活化のための血中CNP濃度上昇モデルの解析

野生型マウスに対して体外式ポンプにより CNP を持続静注することにより、投与量依存性の血中 CNP 濃度の上昇が LC-MS 法にて確認された。また、昨年度までに CNP 投与モデルとしての SAP-CNP-Tg マウスの作成をおこない、CNP ノックアウトマウスとの交配実験による CNP ノックアウトマウスにおける内軟骨性骨化による骨伸長障害の改善効果を証明したが、ラジオイムノアッセイ法により SAP-CNP-Tg マウス血中 CNP 濃度が野生型マウスと比較して有意に上昇していることを確認した。

2. 軟骨無形成症モデルマウスに対する血中 CNP 濃度上昇の効果の検討

Ach マウスに対して SAP-CNP-Tg マウスを交配させて Ach マウスの血中 CNP 濃度を上昇させるダブルトランスジェニック (Ach/SAP-CNP-Tg) マウスを作製したところ、このマウスにおいて、Ach マウスに認められた低身長が改善した (図1)。



図1 Ach マウスの低身長に対する SAP-CNP-Tg の効果

上から生後約3ヶ月齢の野生型、Ach マウス、Ach/SAP-CNP-Tg マウスの外観

成長板軟骨幅の狭小化は改善し、内軟骨性骨化により形成される骨の伸長障害は回復した(図2)。さらに、生後約3週齢の Ach マウスに対して合成 CNP を投与することにより、Ach マウスの長さは野生型マウスとほぼ同程度まで改善した(図3)。

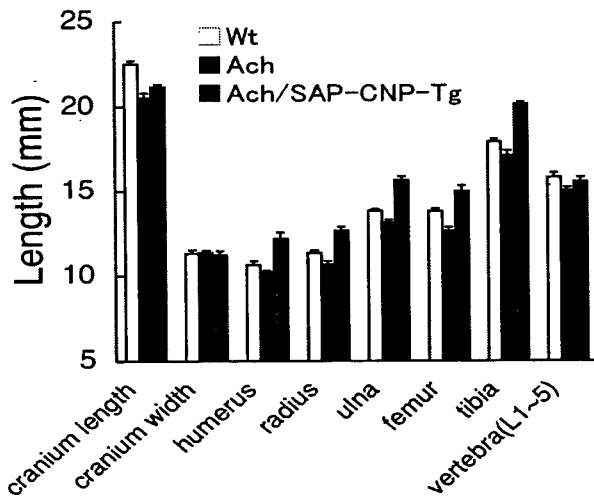


図2 軟 X 線写真による各骨の長さの解析

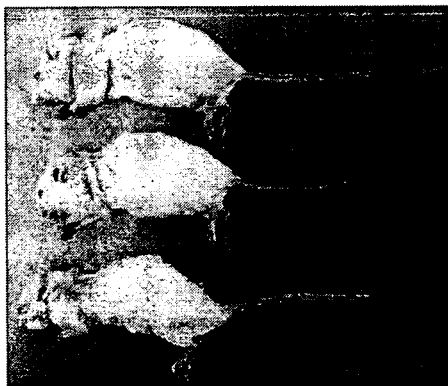


図3 Ach マウスに対する合成 CNP 投与の効果

写真上より野生型+vehicle 投与、Ach マウス+vehicle 投与、Ach マウス+CNP 投与

また、Ach マウスにおいて認められた内軟骨性骨化により形成される骨の伸長障害が、合成

CNP 投与により野生型マウスとほぼ同程度まで回復した。

D. 考察

これまで CNP は局所因子として内軟骨性骨化による骨伸長を促進すると考えられていたが、昨年度までの実験結果により、循環血中 CNP 濃度を遺伝子改変マウス、あるいは体外からの投与によって増大させることにより、骨伸長を促進することが確認された。このことは、臨床的に CNP の全身投与が、骨伸長障害を主徴とする疾患に有効であることを示すものである。本年度はさらに臨床展開をすすめ、前年度に確立した2つの血中濃度上昇のためのアプローチについてのさらに基礎検討をすすめたうえで、これらの手法を用いて疾患モデルマウス(軟骨無形成症モデルマウス)に対する効果を検討した。その結果、循環血中 CNP 濃度の上昇により軟骨無形成症モデルマウスにおける骨伸長障害が改善し、薬物としての CNP の全身投与が軟骨無形成症をはじめとする骨系統疾患に有効であることが強く示唆された。

E. 結論

本研究では、骨伸長障害を主徴とする疾患群(骨系統疾患)に対する CNP の骨伸長促進作用の展開研究をマウスを用いておこなっている。血中 CNP 濃度上昇をきたす2種類の CNP 投与モデルを昨年度までに確立したが、今年度はさらに軟骨無形成症モデルマウスを用いた検討をおこない、いずれの投与モデルにおいてもその骨伸長障害が改善したことから、軟骨無形成症をはじめとする骨系統疾患に CNP 投与が有効であることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 発表

1. 論文発表

なし

1. 学会発表

国際学会

1. Toshihito Fujii, Yasato Komatsu, Akihiro Yasoda, Naohisa Tamura, Tetsuro Yoshioka, Yuko Nakatsuru, Takuo Nambu, Naotetsu Kanamoto, Masako Miura, Kenji Moriyama, Hiroshi Arai, Masashi Mukoyama and Kazuwa Nakao Evaluation of role of Blood-Borne C-type Natriuretic Peptide (CNP) in Endochondral Ossification. The Endocrine Society 89th Annual Meeting, Toronto, CANADA, June 2-5, 2007
2. Yuko Nakatsuru, Akihiro Yasoda, Takuo Nambu, Toshihito Fujii, Go Yamada, Eri Kondo, Masako Miura, Naotetsu Kanamoto, Naohisa Tamura, Hiroshi Arai and Kazuwa Nakao Local CNP Clearance System as a Regulator of CNP-GC-B System for Bone Growth. JBMR Hawaii Convention Center Honolulu, Hawaii, USA, Sept. 16-19, 2007.

国内学会

1. 中津留有子、八十田明宏、藤井寿人、南部拓央、山田 豪、三浦晶子、金本巨哲、森山賢治、小松弥郷、荒井宏司、中尾一和、CNP/GC-B 系の骨伸長作用の賦活化に対する成長板局所の CNP クリアランスの意義、第 80 回日本内分泌学会学術総会、2007/6/14-16、東京
2. 藤井寿人、小松弥郷、八十田明宏、中津留有子、吉岡徹朗、南部拓央、山田豪、金本巨哲、三浦晶子、森山賢治、田村尚久、荒井宏司、向山政志、中尾一和、CNP 投与モデルとしての CNP トランスジェニックマウスは CNP 欠損による骨伸長障害を是正する、第 80 回日本内分泌学会学術総会、2007/6/14-16、東京
3. 南部拓央、荒井宏司、泰江慎太郎、益崎裕章、森本直樹、阪上 浩、中村武

- 寛、宮脇尚志、藤井寿人、中津留有子、金本巨哲、三浦晶子、森山賢治、八十田明宏、細田公則、鈴木茂彦、中尾一和、ヒト肥満症における脂肪組織由来アドレノメデウリン、第 80 回日本内分泌学会学術総会、2007/6/14-16、東京
4. 中津留有子、八十田明宏、藤井寿人、南部拓央、山田豪、三浦晶子、金本巨哲、田村尚久、荒井宏司、中尾一和 ナトリウム利尿ペプチドクリアランス受容体の骨伸長に対する効果の検討 第 25 回日本骨代謝学会学術集会、2007/7/19-21、大阪
5. 藤井寿人、小松弥郷、八十田明宏、中津留有子、吉岡徹朗、南部拓央、山田豪、金本巨哲、三浦晶子、森山賢治、田村尚久、荒井宏司、向山政志、中尾一和 CNP 投与モデルとしての CNP トランスジェニックマウスは CNP 欠損による骨伸長障害を是正する 第 25 回日本骨代謝学会学術集会、第 25 回日本骨代謝学会、2007/7/19-21、大阪
6. 藤井寿人、八十田明宏、中津留有子、近藤絵里、山田豪、南部拓央、吉岡徹朗、金本巨哲、三浦晶子、田村尚久、小松弥郷、向山政志、荒井宏司、中尾一和、遺伝子改変マウスを用いた血中 CNP による骨伸長促進作用の検討、第 34 回 骨・カルシウム代謝研究会、2007/11/9、京都
7. 加藤有希子、八十田明宏、岡阜章憲、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、三浦晶子、金本巨哲、安里亮、荒井宏司、中尾一和、消火器症状、体重減少を主訴とした副甲状腺機能亢進症の一例、第 18 回日本内分泌 update、2008/3/15-16、高知
8. 古賀健一、八十田明宏、土橋一成、森山賢治、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、三浦晶子、金本巨哲、安里亮、荒井宏司、中尾一和、MIBI シンチ陰性かつサブラクシオンシンチ陽性副甲状腺腫の一例、第 18 回日本内分泌 update、2008/3/15-16、高知
9. 濱田哲、金本巨哲、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、有安宏之、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、中尾一和、汎下垂体機能低下症を認め中枢神経悪性リンパ腫を強く疑った一例、第 18 回日本内分泌 update、2008/3/15-16、高知
10. 椽谷真由、八十田明宏、野口直美、山田豪、近藤絵里、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、三浦晶子、金本巨哲、

- 臼井健、荒井宏司、中尾一和、R320C 変異を認めた甲状腺ホルモン不応症 (RTH) の一例、第 18 回日本内分泌 update、2008/3/15-16、高知
11. 森慶太、荒井宏司、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、三浦晶子、金本巨哲、八十田明宏、中尾一和、DKA に偶発性低体温症、横紋筋融解症、急性腎不全等を併発した一例、第 18 回日本内分泌 update、2008/3/15-16、高知
 12. 近藤絵里、鳥居絃子、八十田明宏、中元裕士、山田豪、中津留有子、南部拓央、藤井寿人、金本巨哲、三浦晶子、安里亮、坂口泰人、近藤展行、大久保憲一、荒井宏司、和田洋巳、中尾一和 MIBI-SPECT/CT 画像合成により部位同定し得た縦隔内副甲状腺腫による原発性副甲状腺機能亢進症の一例 第 8 回日本内分泌学会近畿支部学術集会、2007/9./29、京都
 13. 濱田 哲、金本巨哲、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、中尾一和 脳内多発性浸潤病変および汎下垂体機能低下症を認め中枢神経悪性リンパ腫が疑われた 1 例 第 184 回日本内科学会近畿地方会 2007/12/1、京都
 14. 椛谷真由、八十田明宏、野口直美、山田豪、近藤絵里、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、金本巨哲、三浦晶子、臼井健、荒井宏司、中尾一和 R320C 変異を認めた甲状腺ホルモン不応症の一例 第 50 回日本甲状腺学会、2007/11/15-17、神戸
 15. 藤井寿人、小松弥郷、岡山昌弘、八十田明宏、近藤絵里、山田豪、中津留有子、南部拓央、金本巨哲、三浦晶子、荒井宏司、中尾一和 MMI 静注が著効したコンプライアンスが不良なバセドウ病の一例 第 50 回日本甲状腺学会、2007/11/15-17、神戸
 16. 金本巨哲、荒井宏司、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、有安宏之、三浦晶子、八十田明宏、中尾一和 びまん性甲状腺腫を伴う甲状腺中毒症を契機に発見された転移性甲状腺癌の一例 第 50 回日本甲状腺学会、2007/11/15-17、神戸
 17. 濱田 哲、金本巨哲、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、南部拓央、中津留有子、三浦晶子、有安宏之、森山賢治、八十田明宏、荒井宏司、中尾一和、脳内多発性浸潤病変による汎下垂体機能低下症の 1 例、第 40 回間脳下垂体疾患研究会、2007/8/25、京都
 18. 濱田 哲、荒井宏司、田中智洋、丸浜伸一郎、森 潔、藤倉純二、富田 努、葛谷 聡、植村健吾、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、三浦晶子、金本巨哲、森山賢治、八十田明宏、海老原健、平田雅一、益崎裕章、細田公則、高橋良輔、中尾一和、IDDM を合併した抗 GAD 抗体陽性小脳失調症の一例 一免疫グロブリン大量静注療法の効果について一、第 73 回京都内分泌同好会プログラム、2007/9/15、京都
 19. 福田賢英、金本巨哲、長山聡、近藤絵里、山田豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、有安宏之、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、中尾一和 両側副腎腫瘍・結節性甲状腺腫を合併した家族性大腸腺腫症(FAP)の一例 第 74 回京都内分泌同好会、2008/2/16、京都
 20. 近藤絵里、金本巨哲、山田 豪、藤井寿人、中津留有子、南部拓央、有安宏之、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、中尾一和、高橋 潤、橋本信夫、夏井耕之、TSH 産生腺腫の術後に甲状腺中毒症を発症した一例、京都甲状腺研究会、2008/1/26、京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌 (中尾一和、八十田明宏)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
K. Moriyama, T. Tagami, T. Usui, M. Naruse, T. Nambu, Y. Hataya, N. Kanamoto, Y. Li, A. Yasoda, H. Arai, and K. Nakao.	Antithyroid drugs inhibit thyroid hormone receptor-mediated transcription.	J. Clin. Endocrinol. Metab.	92	1066-1072	2007
T. Ishii, H. Masuzaki, T. Tanaka, N. Arai, S. Yasue, N. Kobayashi, T. Tomita, M. Noguchi, J. Fujikura, K. Ebihara, K. Hosoda, and K. Nakao.	Augmentation of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in LPS-activated J774.1 macrophages - Role of 11β -HSD1 in pro-inflammatory properties in macrophages.	FEBS Lett.	581	0349-354	2007
T. Majima, Y. Komatsu, A. Fukao, K. Ninomiya, T. Matsumura, and K. Nakao.	Short-term effects of atorvastatin on bone turnover in male patients with hypercholesterolemia.	Endocr. J.	54	145-151	2007
S. Kuratomi, A. Kuratomi, K. Kuwahara, T. Ishii, K. Nakao, Y. Saito, and M. Takano.	NRSF regulates the developmental and hypertrophic changes of HCN4 transcription in rat cardiac myocytes.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	353	67-73	2007
K. Ebihara, T. Kusakabe, M. Hirata, H. Masuzaki, F. Miyanaga, N. Kobayashi, T. Tanaka, H. Chusho, T. Miyazawa, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Ogawa, M. Depaoli, M. Fukushima, and K. Nakao.	Efficacy and safety of leptin-replacement therapy and possible mechanisms of leptin actions in patients with generalized lipodystrophy.	J. Clin. Endocrinol. Metab.	92	532-541	2007
T. Tanaka, H. Masuzaki, S. Yasue, K. Ebihara, T. Shiuchi, T. Ishii, N. Arai, M. Hirata, H. Yamamoto, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Minokoshi, and K. Nakao.	Central Melanocortin Signaling Restores Skeletal Muscle AMP-Activated Protein Kinase Phosphorylation in Mice Fed a High-Fat Diet.	Cell Metab.	55	395-402	2007

M. Sone, H. Itoh, K. Yamahara, J. Yamashita, T. Yurugi-Kobayashi, A. Nonoguchi, Y. Suzuki, T-H. Chao, N. Sawada, Y. Fukunaga, K. Miyashia, K. Park, N. Oyamada, N. Sawada, D. Taura, N. Tamura, Y. Kondo, S. Nito, H. Suemori, N. Nakatsuji, S. Nishikawa, and K. Nakao.	Pathway for differentiation of human embryonic stem cells to vascular cell components and their potential for vascular regeneration.	Arterioscler. Throm. Vasc. Biol.	27	2127-2134	2007
H. Iwakura, T. Akamizu, H. Ariyasu, T. Irako, K. Hosoda, K. Nakao, and K. Kangawa.	Effects of ghrelin administration on decreased growth hormone status in obese animals.	Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.	293	e819-e825	2007
K. Sawai, M. Mukoyama, K. Mori, M. Kasahara, M. Koshikawa, H. Yokoi, T. Yoshioka, Y. Ogawa, A. Sugawara, H. Nishiyama, S. Yamada, T. Kuwahara, M.A. Saleem, K. Shiota, O. Ogawa, M. Miyazato, K. Kangawa, and K. Nakao.	Expression of CCN1 (CYR61) in developing, normal, and diseased human kidney.	Am. J. Physiol. Renal Physiol.	293	F1363-F1372	2007
K. Mori, and K. Nakao.	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage.	Kidney Int.	71	967-970	2007
J. Fujikura, K. Hosoda, Y. Kawaguchi, M. Noguchi, H. Iwakura, S. Odori, E. Mori, T. Tomita, M. Hirata, K. Ebihara, H. Masuzaki, A. Fukuda, K. Furuyama, K. Tanigaki, D. Yabe, and K. Nakao.	Rbp-j regulates expansion of pancreatic epithelial cells and their differentiation into exocrine cells during mouse development.	Dev Dyn.	236	2779-2791	2007
M. Noguchi, K. Hosoda, J. Fujikura, M. Fujimoto, H. Iwakura, T. Tomita, T. Ishii, N. Arai, M. Hirata, K. Ebihara, H. Masuzaki, H. Itoh, S. Narumiya, and K. Nakao.	Genetic and pharmacological inhibition of Rho-associated kinase II enhances adipogenesis.	J Biol Chem.	282	29574-29583	2007
N. Arai, H. Masuzaki, T. Tanaka, T. Ishii, S. Yasue, N. Kobayashi, T. Tomita, M. Noguchi, T. Kusakabe, J. Fujikura, K. Ebihara, M. Hirata, K. Hosoda, T. Hayashi, H. Sawai, Y. Minokoshi, and K. Nakao.	Ceramide and AMP-activated Protein Kinase are Two Novel Regulators of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Expression and Activity in Cultured Preadipocytes.	Endocrinology.	148	5268-77	2007

S. Nakano, Y. Inada, H. Masuzaki, T. Tanaka, S. Yasue, T. Ishii, N. Arai, K. Ebihara, K. Hosoda, K. Maruyama, Y. Yamazaki, N. Shibata, and K. Nakao.	Bezafibrate regulates the expression and enzyme activity of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in murine adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes.	Am J Physiol Endocrinol Metab	292	E1213-22	2007
L. Miyamoto, T. Toyoda, T. Hayashi, S. Yonemitsu, M. Nakano, S. Tanaka, K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Hosoda, Y. Ogawa, G. Inoue, T. Fushiki, and K. Nakao.	Effect of acute activation of 5'-AMP-activated protein kinase on glycogen regulation in isolated rat skeletal muscle.	J Appl Physiol.	102	1007-13	2007
K. Park, H. Itoh, K. Yamahara, M. Sone, K. Miyashita, N. Oyamada, N. Sawada, D. Taura, M. Inuzuka, T. Sonoyama, H. Tsujimoto, Y. Fukunaga, N. Tamura, and K. Nakao.	Therapeutic potential of atrial natriuretic peptide administration on peripheral arterial diseases.	Endocrinology.	149	48-91	2007
T. Ogihara, K. Nakao, T. Fukui, K. Fukiyama, K. Ueshima, K. Oba, T. Sato, T. Saruta, for the CASE-J Trial Group.	Effects of candesartan compared with amlodipine for treatment of hypertensive patients with high cardiovascular risks in CASE-J trial.	Hypertension	51	393-398	2008

雑誌 (寒川賢治)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Obata H, Yanagawa B, Tanaka K, Ohnishi S, Kataoka M, Miyahara Y, Ishibashi-Ueda H, Kodama M, Aizawa Y, Kangawa K, Nagaya N.	CNP infusion attenuates cardiac dysfunction and inflammation in myocarditis.	Biochem Biophys Res Commun.	356	60-6	2007
Nishida H, Horio T, Suzuki Y, Iwashima Y, Kamide K, Kangawa K, Kawano Y.	Plasma adrenomedullin as an independent predictor of future cardiovascular events in high-risk patients: Comparison with C-reactive protein and adiponectin.	Peptides.	29	599-605	2007
Ichikawa-Shindo Y, Sakurai T, Kamiyoshi A, Kawate H, Iinuma N, Yoshizawa T, Koyama T, Fukuchi J, Iimuro S, Moriyama N, Kawakami H, Murata T, Kangawa K, Nagai R, Shindo T.	The GPCR modulator protein RAMP2 is essential for angiogenesis and vascular integrity.	J Clin Invest.	118	29-39	2008