

- disease brains. *Neuropathology* 31(4): 363-375, 2011.
3. Satoh J, Tabunoki H: Comprehensive analysis of human microRNA target networks. *BioData Mining* 4: e17, 2011.
 4. Yoshino T, Tabunoki H, Sugiyama S, Ishii K, Kim SU, Satoh J: Non-phosphorylated FTY720 induces apoptosis of human microglia by activating SREBP2. *Cellular and Molecular Neurobiology* 31(7): 1009-1020, 2011.
 5. Numasawa Y, Yamaura C, Ishihara S, Shintani S, Yamazaki M, Tabunoki H, Satoh J: Nasu-Hakola disease with a splicing mutation of TREM2 in a Japanese family. *European Journal of Neurology* 18(9): 1179-1183, 2011.
 6. Nakamagoe K, Shioya A, Yamaguchi T, Takahashi H, Koide R, Monzen T, Satoh J, Tamaoka A. A Japanese case with Nasu-Hakola disease of DAP12 gene mutation exhibiting precuneus hypoperfusion. *Internal Medicine* 50(22): 2839-2844, 2011.
 7. Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Saito Y, Arima K: Immunohistochemical characterization of gamma-secretase activating protein expression in Alzheimer's disease brains. *Neuropathology and Applied Neurobiology* in press, 2011.
 8. Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Futamura N, Kobayashi M, Toyoshima I, Yoshioka T, Enomoto K, Arai N, Saito Y, Arima K: Phosphorylated Syk expression is enhanced in Nasu-Hakola disease brains. *Neuropathology* in press, 2011.
 9. Satoh J: Molecular network of microRNA targets in Alzheimer's disease brains. *Experimental Neurology* in press, 2011.
 10. Satoh J, Shimamura Y, Tabunoki H: Gene expression profile of THP-1 monocytes following knockdown of DAP12, a causative gene for Nasu-Hakola disease. *Cellular and Molecular Neurobiology* in press, 2011.
 11. 佐藤準一: 神経変性と神経炎症の分子ネットワーク解析. 脳内免疫システム: 明らかになる神経疾患との関わり. *細胞工学* 30(10): 1028-1035, 2011.
 12. 佐藤準一: 分子ネットワークからみた多発性硬化症の創薬標的分子. 特集 I 神経免疫の新展開. *炎症と免疫* 19(6): 543-552, 2011.
- 著書
1. Satoh J: Molecular network analysis of target RNAs and interacting proteins of TDP-43, a causative gene for the neurodegenerative diseases ALS/FTLD. In *Biomedical Engineering and Cognitive Neuroscience for Healthcare: Interdisciplinary Applications*, ed by Wu J. IGI Global, Hershey, Pennsylvania, 2011, in press.
 2. Satoh J: Human microRNA targetome indicates a specialized role of microRNAs in regulation of oncogenesis. In *Systems Biology and Cancer*, ed by Azumi AS. Springer, Netherlands, 2011, in press.

3. 佐藤準一: 2. 網羅的遺伝子発現解析からみた病因・病態. 第1章 多発性硬化症の病態と診断 K. 病因・病態をめぐって. アクチュアル脳・神経疾患の臨床. 最新アプローチ 多発性硬化症と視神経脊髄炎. 辻省次・吉良潤一編. 中山書店、2011、印刷中.

2. 学会発表

国際学会

1. Satoh J, Tabunoki H, Arima K: Immunohistochemical characterization of microglia in Nasu-Hakola disease brains. 63rd Annual Meeting of American Academy of Neurology. Honolulu, 2011.4.12.
2. Satoh J, Tabunoki H: Molecular network analysis of microRNA targets suggests aberrant expression of cell cycle regulators in Alzheimer's disease brains. The 9th International Workshop on Advanced Genomics. Revolution of Genome Science. Tokyo, 2011.7.12.
3. Tabunoki H, Banno Y, Katsuma S, Shimada T, Mita K, Satoh J: BmDJ-1 is a key regulator of oxidative modification in the development of the silkworm, Bombyx mori. Queenstown Molecular Biology Meetings 2011. Queenstown, New Zealand, 2011.8.30.
4. Tabunoki H, Shimada T, Mita K, Banno Y, Satoh J: BmDJ-1 is a key regulator of oxidative modification in the development of the silkworm, Bombyx mori. 2011 Annual Meeting of the Society for Neuroscience,

Washington DC, 2011.11.14.

国内学会

1. 天竺桂弘子, 嶋田透, 伴野豊, 三田和英, 佐藤令一, 野澤玲子, 佐藤準一: カイコ DJ-1 オルソログは NO により酸化される. 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011.3.28.
2. 佐藤準一, 吉野隆, 小口翔, 天竺桂弘子: TDP-43 インターラクトームの分子ネットワーク解析. 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011.3.28.
3. 天竺桂弘子, 嶋田透, 伴野豊, 三田和英, 佐藤令一, 野澤玲子, 佐藤準一: カイコ DJ-1 オルソログは NO により酸化される. 第 52 回日本神経学会総会. 名古屋, 2011. 5.18.
4. 沼沢祥行, 山浦千春, 石原正一郎, 新谷周三, 山崎峰雄, 天竺桂弘子, 佐藤準一: 本邦初の TREM2 遺伝子変異による那須ハコラ病の一家系. 第 52 回日本神経学会総会. 名古屋, 2011. 5.20.
5. 佐藤準一, 天竺桂弘子, 石田剛, 柳下三郎, 陣内研二, 二村直伸, 小林道雄, 豊島至, 吉岡年明, 榎本克彦, 新井信隆, 有馬邦正: 那須ハコラ病の臨床病理遺伝学的研究. 第 52 回日本神経学会総会. 名古屋, 2011. 5.20.
6. 佐藤準一, 天竺桂弘子, 石田剛, 柳下三郎, 陣内研二, 二村直伸, 小林道雄, 豊島至, 吉岡年明, 榎本克彦, 新井信隆, 有馬邦正: 那須ハコラ病脳ミクログリアの免疫組織化学的解析. 第 52 回日本神経病理学会総会. 京都, 2011. 6.4.
7. 佐藤準一: 神経難病の病態解明のための分

子ネットワーク解析. Ingenuity Pathways Analysisユーザーミーティング. 招待講演. 東京、2011.9.1.

8. 佐藤準一、天竺桂弘子、石田剛、有馬邦正: アルツハイマー病脳におけるGSAPの発現解析. 第34回日本神経科学大会. Neuro2011. 横浜、2011.9.15.
9. 佐藤準一、吉野隆、天竺桂弘子、杉山重夫、石井啓太郎、Seung U. Kim: FTY720のSREBP2活性化を介するヒトミクログリアのアポトーシス誘導. 第23回日本神経免疫学会学術集会 東京、2011.9.17.
10. 天竺桂弘子、嶋田透、伴野豊、三田和英、佐藤令一、佐藤準一: カイコ DJ-1 オルソログはNOにより酸化される. 第84回日本生化学会大会. 京都、2011.9.22.
11. Satoh J, Tabunoki H: Molecular network

analysis of microRNA targets suggests aberrant expression of cell cycle regulators in Alzheimer's disease brain. 日本バイオインフォマティクス学会 2011 年会. 神戸、2011.11.8.

12. 佐藤準一、吉野隆、天竺桂弘子、杉山重夫、石井啓太郎、Seung U. Kim: FTY720はSREBP2活性化を介してヒトミクログリアのアポトーシスを誘導する. 第40回日本免疫学会学術集会 幕張、2011.11.29.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
なし

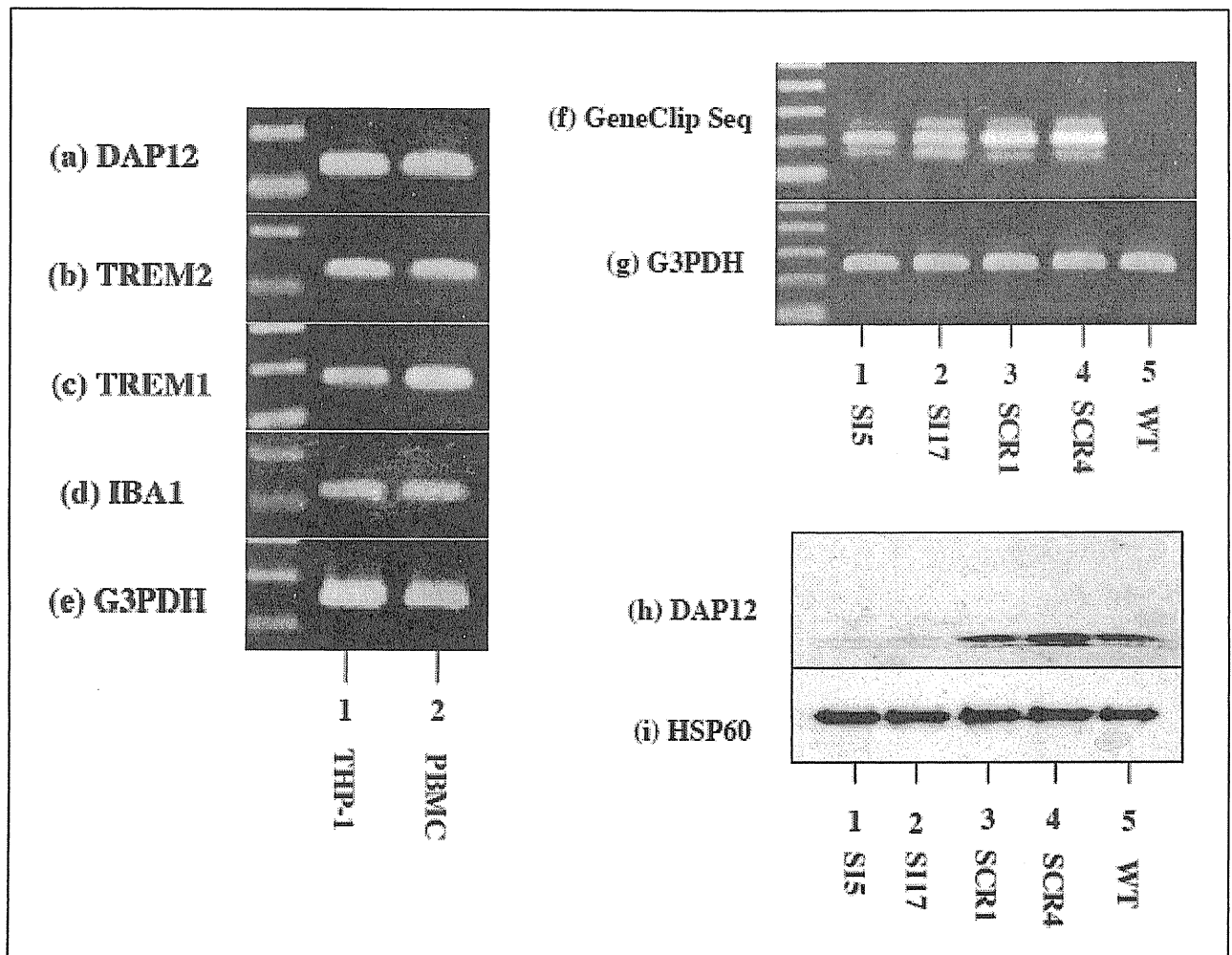


図 1. DAP12 siRNA 発現 THP-1 安定細胞株の樹立.

はじめに RT-PCR でヒト単球細胞株 THP-1 における DAP12, TREM2, TREM1, IBA1, G3PDH(an internal control)の発現を確認した(a-e)。次に DAP12 SI, SCR を発現ベクターにクローニングして導入、SI 発現クローン SI5, SI17 および SCR 発現クローン SCR1, SCR4 を樹立し、外来遺伝子の安定的な組み込みを PCR で確認した(f, g)。またタンパクレベルの発現抑制をウエスタンブロットで検証した(h, i)。PBMC, peripheral blood mononuclear cells; WT, wild-type THP-1 cells; HSP60, 60-kDa heat shock protein (an internal control).

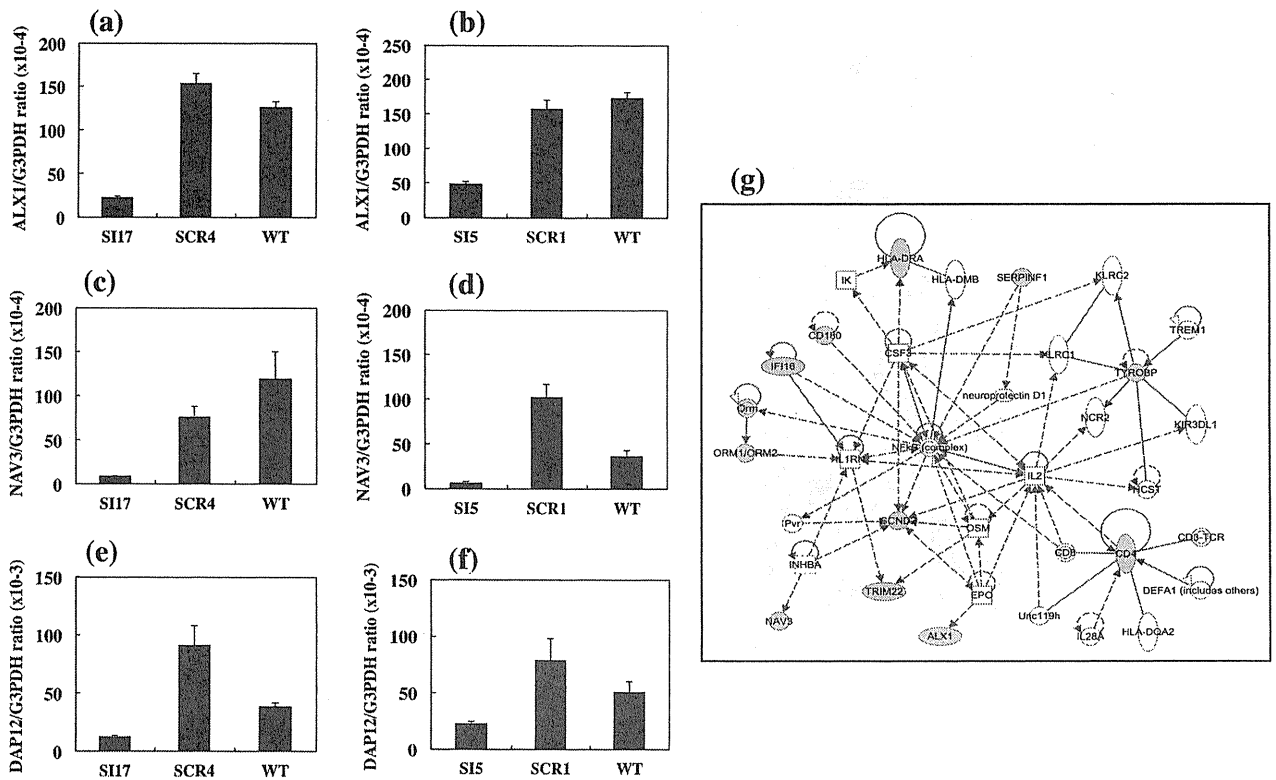


図 2. DAP12 siRNA 発現 THP-1 安定細胞株の遺伝子発現プロフィール。

DAP12 SI, SCR を発現ベクターにクローニングして wild-type(WT) THP-1 細胞に導入し、SI 発現クローン SI5, SI17 および SCR 発現クローン SCR1, SCR4 を樹立した。SCR4 に比較して SI17 で発現低下を呈した TARDBP(DAP12)を含む 22 遺伝子を同定した(表 1 参照)。ALX1, NAV3, DAP12 については、real-time RT-PCR で発現レベルを検証した(a-f)。IPA による分子ネットワーク解析では、“Cell-to-cell signaling and interaction, hematological system development and function, and inflammatory response”と最も高い関連性($p = 1 \times 10E-29$)を示し、転写因子 NF- κ B が中心的な役割を担っていることがわかった(g)。

Table 1. Twenty-two downregulated genes in DAPI2 knockdown THP-1 cells

Gene Symbol	Entrez Gene ID	Gene Name	Putative Biological Function
ALX1	8092	ALX homeobox 1	a homeoprotein necessary for survival of the forebrain mesenchyme
CCND2	894	cyclin D2	a regulatory subunit of CDK4 or CDK6 required for cell cycle G1/S transition
CD180	4064	CD180 molecule	a cell surface molecule of the TLR family that forms the receptor complex with MD-1
CD4	920	CD4 molecule	a membrane glycoprotein of T lymphocytes that interacts with major histocompatibility complex class II antigens
F13A1	2162	coagulation factor XIII, A1 polypeptide	a subunit of coagulation factor XIII activated in the blood coagulation cascade
FGL2	10875	fibrinogen-like 2	a secreted protein of lymphocytes similar to the beta- and gamma-chains of fibrinogen
HLA-DRA	3122	major histocompatibility complex, class II, DR alpha	a HLA class II alpha chain paralogue that plays a central role in presenting peptides derived from extracellular proteins
IFI16	3428	interferon, gamma-inducible protein 16	an IFN-gamma-inducible protein involved in antiviral defense, regulation of cell growth and differentiation, and modulation of immune function
NAV3	89795	neuron navigator 3	a protein of the neuron navigator family predominantly expressed in the central and peripheral nervous system
ORM1	5004	orosomucoid 1	an acute phase plasma protein that acts as an immunomodulator
OVOS	408186	ovostatin	a proteinase inhibitor with a strong anti-collagenase activity
SERPINF1	5176	serpin peptidase inhibitor, clade F (alpha-2 antiplasmin, pigment epithelium derived factor), member 1	a secreted protein of the serpin family involved in inhibition of angiogenesis
SLC7A2	6542	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 2	a cationic amino acid transporter
SLC8A1	6546	solute carrier family 8 (sodium/calcium exchanger), member 1	a Na(+)-Ca(2+) exchanger abundantly expressed in the heart and the brain
TMEM116	89894	transmembrane protein 116	a transmembrane protein of unknown function
TRIM22	10346	tripartite motif-containing 22	a member of the TRIM family induced by interferon involved in antiviral defense
TYROBP	7305	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	a transmembrane signaling protein containing an ITAM expressed on myeloid cells
VAT1L	57687	vesicle amine transport protein 1 homolog (T. californica)-like	a vesicle amine transport protein 1 homolog
ZNF426	79088	zinc finger protein 426	a suppressor of RTA-mediated Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus reactivation
ZNF506	440515	zinc finger protein 506	a PML-associated repressor of transcription
ZNF717	100131827	zinc finger protein 717	a zinc finger protein of unknown function
ZNF788	388507	zinc finger family member 788	a zinc finger protein of unknown function

The transcriptome of THP-1 clones stably expressing DAPI2 siRNA (SIL7) and scrambled RNA (SCR4) on Human Gene 1.0 ST array are compared. In two separate sets of the experiments, the genes consistently downregulated by greater than a 50% reduction in SIL7 versus SCR4 are listed in an alphabetical order.

表 1. DAPI2 ノックダウンにより発現低下した 22 遺伝子。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

平成 23 年度 分担研究報告書

那須ハコラ病の創薬研究:

DAP12 機能喪失マウスマクロファージの網羅的遺伝子発現解析

研究分担者 天竺桂 弘子 明治薬科大学助教

研究要旨 那須ハコラ病(Nasu-Hakola disease; NHD)は、DAP12 遺伝子または TREM2 遺伝子の機能喪失変異による常染色体劣性遺伝性疾患で、若年発症の多発性骨嚢胞と白質脳症を主徴とする。NHD は、未だ白質脳症発症機序は解明されておらず、有効な治療法がない難病である。DAP12 は破骨細胞、樹状細胞、マクロファージ、ミクログリアの細胞膜上で TREM2 と会合し、ITAM モチーフを介してシグナルを伝達するアダプター分子である。現在まで、DAP12 シグナル下流の遺伝子群 DAP12-related genes(DAP12RG)に関しては、その詳細が十分解明されていない。本研究では、DAP12 遺伝子機能喪失マウスマクロファージのトランスクリプトームデータセットを用いて、バイオインフォマティクス的手法を駆使して遺伝子発現プロファイルと分子ネットワークを解析し、DAP12RGを同定して、細胞接着・移動における機能を見出した。本研究の成果は、NHD における白質脳症発症機序の解明および新規治療薬の開発につながる。

研究協力者

島村 悦光 (明治薬科大学大学院修士課程 1 年)

野島 陽水 (明治薬科大学薬学部生命創薬科学科 4 年)

A. 研究目的

那須ハコラ病(Nasu-Hakola disease; NHD)は、那須毅博士と Hakola 博士により、1970 年代にほぼ同時期に発見された多発性骨嚢胞と白質脳症を主徴とする稀少疾患である (Nasu T et al. Acta Pathol Jpn 23: 539-558, 1973; Hakola HP. Acta Psychiatr Scand Suppl 232: 1-173, 1972)。NHD は 19q13.1 染色体上の DNAX-activation protein

12(DAP12; TYROBP)遺伝子または 6p21.1 染色体上の triggering receptor expressed on myeloid cells 2(TREM2)遺伝子の機能喪失変異により発症し、常染色体劣性遺伝形式を呈する(Paloneva J et al. Am J Hum Genet 71: 656-662, 2002)。現在まで 18 種類の異なる遺伝子変異が報告されている。NHD は、20-30 歳代に多発性骨嚢胞による病的骨折と白質脳症による精神症状で発症し、40-50 歳代に進行性認知症を来して死亡し、現在有効な治療法がない難病である(Klünemann HH et al. Neurology 64: 1502-1507, 2005)。未だ白質脳症発症機序は明らかでない。患者は日本とフィンランドに集積している。平成 21 年度に本研究班(H21-難治-一般

-201)が実施した全国調査により、本邦における患者数は約 200 人と推定されている。DAP12 は破骨細胞、樹状細胞、マクロファージ、ミクログリアの細胞膜上で TREM2 と会合し、チロシンリン酸化(pY)を受ける YxxL/Ix_{6,8}YxxL/I で構成される immunoreceptor tyrosine-based activation motif(ITAM)モチーフを介してシグナルを伝達するアダプター分子である。現在まで、DAP12シグナル下流に位置する遺伝子群 DAP12-related genes(DAP12RG)に関しては、その詳細が十分解明されていない。NHD における白質脳症発症機序解明のためには、DAP12RG を中心とする DAP12 シグナル伝達系の解明が必須である。

2003 年に、ヒトゲノムの解読が完了し、個々の細胞における全遺伝子やタンパク質の発現を網羅的に解析可能なポストゲノム時代が到来し、創薬研究の中心はゲノム創薬へとパラダイムシフトした。網羅的発現解析を統合したオミックス研究により、癌や神経難病の診断バイオマーカーや治療標的分子が次々明らかにされた。同時に薬理ゲノミクスの分野は急成長を遂げ、薬物応答性個人差をある程度予測可能となり、テーラメイド医療(personalized medicine)の樹立に道が開かれた。システム生物学(systems biology)の観点からは、ヒトは大規模な分子ネットワークで精密に構築された複雑系であり、多くの難病がシステム固有の防御機構であるロバストネス(robustness)の破綻に起因すると考えられている。従って難病の病態解明のためには、オミックス研究に直結したゲノムワイドの分子ネットワーク解析が重要な研究手段となる。

本研究では、NHD 動物モデル DAP12 遺伝子機能喪失マウスマクロファージのトランスクリプト

ームデータを用いて、バイオインフォマティクスの手法を駆使して遺伝子発現プロフィールと分子ネットワークを解析し、DAP12RGを同定した。本研究の成果は、NHD における白質脳症発症機序の解明および新規治療薬の開発につながると思われる。

B. 研究方法

1. DAP12 遺伝子機能喪失マウスマクロファージのトランスクリプトームデータセット: DAP12 遺伝子機能喪失マウスは、C57BL/6J をバックグラウンドとする DAP12 ITAM モチーフ Y72 以下 C 末端欠損型遺伝子(DAP12-KdeltaY75; ITAM シグナル欠落)の knock-in(DAP12-KI)マウスである(Tomasello E et al. *Immunity* 13: 355-364, 2000)。Gene Expression Omnibus(GEO) GSE13140 は、野生型(wild-type; WT)マウスおよび DAP12-KI マウスの腹腔に thioglycolate を注入してマクロファージを回収し、18 時間 IL-4 で刺激(IL-4-treated)または未刺激(untreated; UT)、total RNA を精製、Mouse Genome 430 2.0 Array(Affymetrix; 34000 genes)で遺伝子発現を網羅的に解析、robust multiarray average(RMA)法で正規化したデータセットである。

2. 階層クラスター解析と分子ネットワーク解析 (Sato J. *Clin Exp Neuroimmunol* 1: 127-140, 2010): 初めに KI-UT と WT-UT を比較し、3 倍以上発現変動(3-fold change)を認める遺伝子群を同定した。これらの遺伝子セットに対応している Entrez Gene ID を DAVID Bioinformatics Resources 6.7 を用いて調べ、Ingenuity Pathways Analysis(IPA: Ingenuity Systems), KeyMolnet(医薬分子設計研

研究所), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG)に入力し、アレイデータに密接に関連している分子ネットワークを解析した。また5倍以上発現低下している遺伝子に関して、Cluster 3とJava TreeViewを用いて、階層クラスター解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究では、公共データベースGEOに登録されているマイクロアレイ解析データを用いるため、倫理面の問題は考慮する必要がない。

C. 研究結果

1. DAP12機能喪失マウスマクロファージで発現変動を認める遺伝子群:KI-UTとWT-UTを比較し、0.33倍以下に発現低下した203遺伝子と3倍以上に発現上昇した121遺伝子を同定した(表1, 表2)。これらはDAP12-related genes(DAP12RG)に該当する。DAP12機能喪失に伴って低下した遺伝子群には、細胞の移動や接着に関与するcadherin 1, protocadherin 7, matrix metalloproteinase 9, tissue inhibitor of metalloproteinase 1, integrin beta 3やケモカインCxcl3, Cxcl14などが集積しており、階層クラスター解析では、KIとWTは明らかに異なる遺伝子発現プロフィールを呈していた(図1)。

2. DAP12機能喪失マウスマクロファージで発現変動を認める遺伝子群の分子ネットワーク:次に上記の遺伝子セットを分子ネットワーク解析ツールに入力した。KIで発現低下した遺伝子群は、IPAではAntigen Presentation, Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Cellular Movementネットワーク(p=1E-53)と関連していた(図2a), KeyMolnet周辺検

索法ではTranscriptional regulation by AP-1(p=9.572E-109), MMP signaling pathway(p=3.475E-105), PAK signaling pathway(p=7.636E-80)と関連していた(図3a)。さらにKEGGではmmu04060:Cytokine-cytokine receptor interaction(p=5.59E-05), mmu04062:Chemokine signaling pathway(p=9.92E-05)と関連していた。一方KIで発現上昇した遺伝子群は、IPAではLipid Metabolism, Molecular Transport, Small Molecule Biochemistryネットワーク(p=1E-76)と関連していた(図2b)。KeyMolnet周辺検索法ではTranscriptional regulation by AP-1(p=4.616E-133), TGFbeta signaling pathway(p=2.348E-35), CaMK signaling pathway(p=3.101E-35)と関連していた(図3b)。KEGGでは関連する有意なパスウェイを認めなかった。

D. 考察

DAP12は破骨細胞、樹状細胞、マクロファージ、ミクログリアの細胞膜上でTREM2と会合し、ITAMモチーフを介してシグナルを伝達するアダプター分子である。DAP12はTREM2の他にも、TREM1, myeloid DAP12-associating lectin 1 (MDL1), signal-regulatory protein beta 1 (SIRPB1), natural cytotoxicity triggering receptor 2 (NCR2)とも結合し、これらの受容体とそのリガンドの結合親和性に依存して、活性化シグナルまたは抑制性シグナルを伝達する(Turnbull IR and Colonna M. Nat Rev Immunol 7: 155-161, 2007)。TREM2のリガンドは明らかではないが、TREM2/DAP12シグナルはToll-like receptor (TLR)シグナルを抑制し、TREM1/DAP12シグナルはTLRシグナルを増強

する。現在まで、DAP12 シグナル下流の遺伝子群 DAP12-related genes(DAP12RG)に関しては、その詳細が十分解明されていない。

本研究では、DAP12 遺伝子機能喪失マウスマクロファージのトランスクリプトームデータセット GSE13140 を用いて、バイオインフォマティクス的手法を駆使して、遺伝子発現プロフィールと分子ネットワークを解析し、DAP12RG を同定した。DAP12RG には、インテグリン・接着因子・メタロプロテアーゼ・ケモカインなど細胞接着・移動機能遂行に必須な遺伝子群が集積していた。DAP12 とケモカインシグナルにはクロストークが存在する。肺胞マクロファージはケモカイン Ccl2 に依存して遊走し、DAP12 欠損マウスでは、慢性喫煙条件で誘導される肺胞マクロファージの集積低下を認める (Koth LL et al. *J Immunol* 184: 6522-6528, 2010)。また DAP12 遺伝子機能喪失マウスマクロファージにおいて、Sphingosine リン酸化酵素 sphingosine kinase 1(Sphk1)の発現低下が認められたが、sphingosine-1-phosphate(S1P)受容体(S1PR)は、免疫細胞の脳への移動で中心的役割を果たしていることを考えると興味深い(Yoshino T et al. *Cell Mol Neurobiol* 2011, in press)。

E. 結論

DAP12 遺伝子機能喪失マウスマクロファージのトランスクリプトームデータセット GSE13140 を用いて、バイオインフォマティクス的手法を駆使して、遺伝子発現プロフィールと分子ネットワークを解析し、DAP12RGを同定した。DAP12RGには、インテグリン・接着因子・メタロプロテアーゼ・ケモカインなど細胞接着・移動機能遂行に必須な遺伝子群が集

積していた。NHD 患者では、破骨細胞、樹状細胞、マクロファージ、ミクログリアにおける細胞接着・移動機能が低下している可能性がある。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Tabunoki H](#), Ode H, Banno Y, Katsuma S, Shimada T, Mita K, Yamamoto K, Sato R, Ishii-Nozawa R, [Satoh J](#): BmDJ-1 is a key regulator of oxidative modification in the development of the silkworm, *Bombyx mori*. *PLoS One* 6(3):e17683, 2011.
2. [Satoh J](#), [Tabunoki H](#), Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Futamura N, Kobayashi M, Toyoshima I, Yoshioka T, Enomoto K, Arai N, Arima K: Immunohistochemical characterization of microglia in Nasu-Hakola disease brains. *Neuropathology* 31(4): 363-375, 2011.
3. [Satoh J](#), [Tabunoki H](#): Comprehensive analysis of human microRNA target networks. *BioData Mining* 4: e17, 2011.
4. Yoshino T, [Tabunoki H](#), Sugiyama S, Ishii K, Kim SU, [Satoh J](#): Non-phosphorylated FTY720 induces apoptosis of human microglia by activating SREBP2. *Cellular and Molecular Neurobiology* 31(7): 1009-1020, 2011.
5. Numasawa Y, Yamaura C, Ishihara S, Shintani

- S, Yamazaki M, Tabunoki H, Satoh J: Nasu-Hakola disease with a splicing mutation of TREM2 in a Japanese family. *European Journal of Neurology* 18(9): 1179-1183, 2011.
6. Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Saito Y, Arima K: Immunohistochemical characterization of gamma-secretase activating protein expression in Alzheimer's disease brains. *Neuropathology and Applied Neurobiology* in press, 2011.
 7. Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Futamura N, Kobayashi M, Toyoshima I, Yoshioka T, Enomoto K, Arai N, Saito Y, Arima K: Phosphorylated Syk expression is enhanced in Nasu-Hakola disease brains. *Neuropathology* in press, 2011.
 8. Satoh J, Shimamura Y, Tabunoki H: Gene expression profile of THP-1 monocytes following knockdown of DAP12, a causative gene for Nasu-Hakola disease. *Cellular and Molecular Neurobiology* in press, 2011.
2. 学会発表
- 国際学会
1. Satoh J, Tabunoki H, Arima K: Immunohistochemical characterization of microglia in Nasu-Hakola disease brains. 63rd Annual Meeting of American Academy of Neurology. Honolulu, 2011.4.12.
 2. Satoh J, Tabunoki H: Molecular network analysis of microRNA targets suggests aberrant expression of cell cycle regulators in Alzheimer's disease brains. The 9th International Workshop on Advanced Genomics. Revolution of Genome Science. Tokyo, 2011.7.12.
 3. Tabunoki H, Banno Y, Katsuma S, Shimada T, Mita K, Satoh J: BmDJ-1 is a key regulator of oxidative modification in the development of the silkworm, *Bombyx mori*. Queenstown Molecular Biology Meetings 2011. Queenstown, New Zealand, 2011.8.30.
 4. Tabunoki H, Shimada T, Mita K, Banno Y, Satoh J: BmDJ-1 is a key regulator of oxidative modification in the development of the silkworm, *Bombyx mori*. 2011 Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Washington DC, 2011.11.14.
- 国内学会
1. 天竺桂弘子, 嶋田透, 伴野豊, 三田和英, 佐藤令一, 野澤玲子, 佐藤準一: カイコ DJ-1 オルソログは NO により酸化される. 日本薬学会 第 131 年会. 静岡, 2011.3.28.
 2. 佐藤準一, 吉野隆, 小口翔, 天竺桂弘子: TDP-43 インターラクトームの分子ネットワーク解析. 日本薬学会 第 131 年会. 静岡, 2011.3.28.
 3. 天竺桂弘子, 嶋田透, 伴野豊, 三田和英, 佐藤令一, 野澤玲子, 佐藤準一: カイコ DJ-1 オルソログは NO により酸化される. 第 52 回日本神経学会総会. 名古屋, 2011. 5.18.
 4. 沼沢祥行, 山浦千春, 石原正一郎, 新谷周三, 山崎峰雄, 天竺桂弘子, 佐藤準一: 本邦初の TREM2 遺伝子変異による那須ハコラ病の一家系. 第 52 回日本神経学会総会. 名古屋, 2011. 5.20.

5. 佐藤準一、天竺桂弘子、石田剛、柳下三郎、陣内研二、二村直伸、小林道雄、豊島至、吉岡年明、榎本克彦、新井信隆、有馬邦正：那須ハコラ病の臨床病理遺伝学的研究. 第 52 回日本神経学会総会. 名古屋、2011. 5.20.
6. 佐藤準一、天竺桂弘子、石田剛、柳下三郎、陣内研二、二村直伸、小林道雄、豊島至、吉岡年明、榎本克彦、新井信隆、有馬邦正：那須ハコラ病脳ミクログリアの免疫組織化学的解析. 第 52 回日本神経病理学会総会. 京都、2011. 6.4.
7. 佐藤準一、天竺桂弘子、石田剛、有馬邦正：アルツハイマー病脳における GSAP の発現解析. 第 34 回日本神経科学大会. Neuro2011. 横浜、2011. 9.15.
8. 佐藤準一、吉野隆、天竺桂弘子、杉山重夫、石井啓太郎、Seung U. Kim : FTY720 の SREBP2 活性化を介するヒトミクログリアのアポトーシス誘導. 第 23 回日本神経免疫学会学術集会 東京、2011. 9.17.
9. 天竺桂弘子、嶋田透、伴野豊、三田和英、佐藤令一、佐藤準一：カイコ DJ-1 オルソログは NO により酸化される. 第 84 回日本生化学会大会. 京都、2011.9.22.
10. Satoh J, Tabunoki H: Molecular network analysis of microRNA targets suggests aberrant expression of cell cycle regulators in Alzheimer's disease brain. 日本バイオインフォマティクス学会 2011 年会. 神戸、2011.11.8.
11. 佐藤準一、吉野隆、天竺桂弘子、杉山重夫、石井啓太郎、Seung U. Kim: FTY720 は SREBP2 活性化を介してヒトミクログリアのアポトーシスを誘導する. 第 40 回日本免疫学会学術集会 幕張、2011.11.29.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
なし

Table 1. Top 30 Downregulated Genes in DAP12-KI Macrophages

Entrez Gene ID	Gene Symbol	Gene Name	Fold Change
17318	MID1	midline 1	0.01319817
654820	G530011O06Rik	RIKEN cDNA G530011O06 gene	0.044604316
12550	CDH1	cadherin 1	0.046209793
68027	Tmem178	transmembrane protein 178	0.052439457
17395	Mmp9	matrix metalloproteinase 9	0.052764126
378435	mafA	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein A (avian)	0.053784404
54216	PCDH7	protocadherin 7	0.055562069
72097	2010300C02Rik	RIKEN cDNA 2010300C02 gene	0.066929362
330122	Cxcl3	chemokine (C-X-C motif) ligand 3	0.087783631
74614	4833422F24Rik	RIKEN cDNA 4833422F24 gene	0.090559244
57266	Cxcl14	chemokine (C-X-C motif) ligand 14	0.091436355
21857	TIMP1	tissue inhibitor of metalloproteinase 1	0.096642697
22004	tpm2	tropomyosin 2, beta	0.101531579
14733	GPC1	glypican 1	0.116505495
320997	Cyp4B9	cytochrome P450, family 4, subfamily f, polypeptide 39	0.11747162
170942	Erd1	erythroid differentiation regulator 1	0.118156843
12642	CH25H	cholesterol 25-hydroxylase	0.119934811
26570	SLC7A11	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 11	0.120417109
668212	EFR3B	EFR3 homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	0.121656435
21664	phlda1	pleckstrin homology-like domain, family A, member 1	0.125422716
16416	ITGB3	integrin beta 3	0.127685919
15200	HBEGF	heparin-binding EGF-like growth factor	0.128067868
320664	CASS4	Cas scaffolding protein family member 4	0.12855271
71436	Flrt3	fibronectin leucine rich transmembrane protein 3	0.132586998
231805	PILRA	paired immunoglobulin-like type 2 receptor alpha	0.134881451
56708	CLCF1	cardiotrophin-like cytokine factor 1	0.134953266
18008	NES	nestin	0.13514354
12349	Car2	carbonic anhydrase 2	0.137024303
246154	Vas1	vasorin	0.141335801
211914	Asap2	development and differentiation enhancing factor 2	0.143574338

We studied the gene expression levels of DAP12-KI versus wild-type macrophages in the transcriptome dataset of GSE13140. Top 30 downregulated genes in DAP12-KdeltaY75 knock-in macrophages are listed.

Table 2. Top 30 Upregulated Genes in DAP12-KI Macrophages

Entrez Gene ID	Gene Symbol	Gene Name	Fold Change
54635	PDGFC	platelet-derived growth factor, C polypeptide	13.18607937
244853	FAM55D	family with sequence similarity 55, member D	9.378376507
11770	FABP4	fatty acid binding protein 4, adipocyte	9.198570155
13170	dbp	D site albumin promoter binding protein	8.339797154
71085	ARHGAP19	Rho GTPase activating protein 19	8.223791894
21808	TGFB2	transforming growth factor, beta 2	7.938196842
320365	FRY	furry homolog (<i>Drosophila</i>)	6.889098396
224454	Zfhhc14	zinc finger, DHHC domain containing 14	6.864944006
100047115	LOC100047115	similar to CD300 antigen like family member F	6.303104048
17132	maf	avian musculoaponeurotic fibrosarcoma (v-maf) AS42 oncogene homolog	6.169074825
14245	lpin1	lipin 1	5.854860094
544963	IQGAP2	IQ motif containing GTPase activating protein 2	5.684503127
27029	SGSH	N-sulfoglucosamine sulfohydrolase (sulfamidase)	5.588901795
101488	SLCO2B1	solute carrier organic anion transporter family, member 2b1	5.489047413
67731	FBXO32	F-box protein 32	5.471249739
218215	Rnf144b	ring finger protein 144B	5.385961234
235493	BC031353	cDNA sequence BC031353	5.36642272
100637	N4BP2L1	NEDD4 binding protein 2-like 1	5.267396527
22436	XDH	xanthine dehydrogenase	5.049542751
232288	FRMD4B	FERM domain containing 4B	4.972597511
12767	CXCR4	chemokine (C-X-C motif) receptor 4	4.962535673
78244	Dnajc21	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 21	4.960455875
231532	ARHGAP24	Rho GTPase activating protein 24	4.95466756
12487	CD28	CD28 antigen	4.924211133
71504	8430436C05Rik	RIKEN cDNA 8430436C05 gene	4.805943464
241274	PNPLA7	patatin-like phospholipase domain containing 7	4.795965331
320782	TMEM154	transmembrane protein 154	4.754344062
18106	CD244	CD244 natural killer cell receptor 2B4	4.646870806
58809	Rnase4	ribonuclease, RNase A family 4	4.542831416
20341	SELENBP1	selenium binding protein 1	4.417932143

We studied the gene expression levels of DAP12-KI versus wild-type macrophages in the transcriptome dataset of GSE13140. Top 30 upregulated genes in DAP12-KdeltaY75 knock-in macrophages are listed.

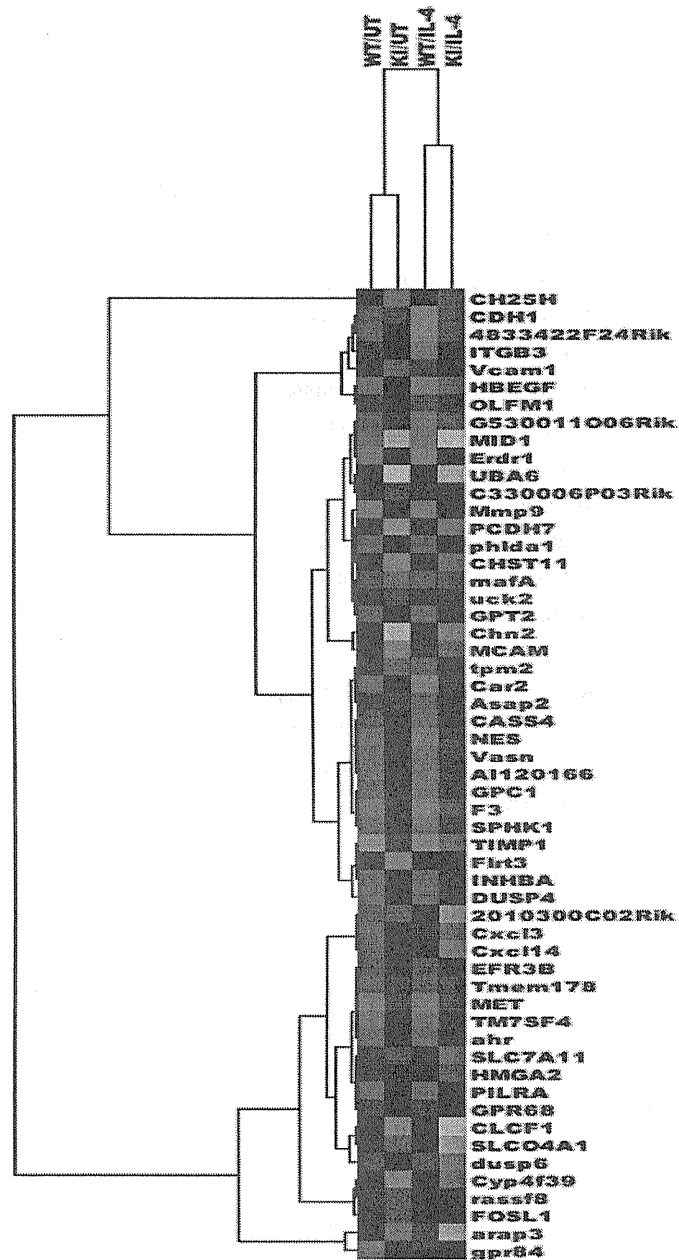


図 1. DAP12 機能喪失マウスマクロファージの遺伝子発現プロファイル。GSE13140 は、野生型 (WT)マウスおよび DAP12-KI マウスの腹腔に thioglycolate を注入してマクロファージを回収し、IL-4 で刺激(IL-4-treated)・未刺激(untreated; UT)後に total RNA を精製、Mouse Genome 430 2.0 Array で遺伝子発現を網羅的に解析したデータセットである。KI-UT と WT-UT を比較し、0.20 倍以下に発現低下した 55 遺伝子を同定し、これらを指標に階層クラスター解析を施行した。

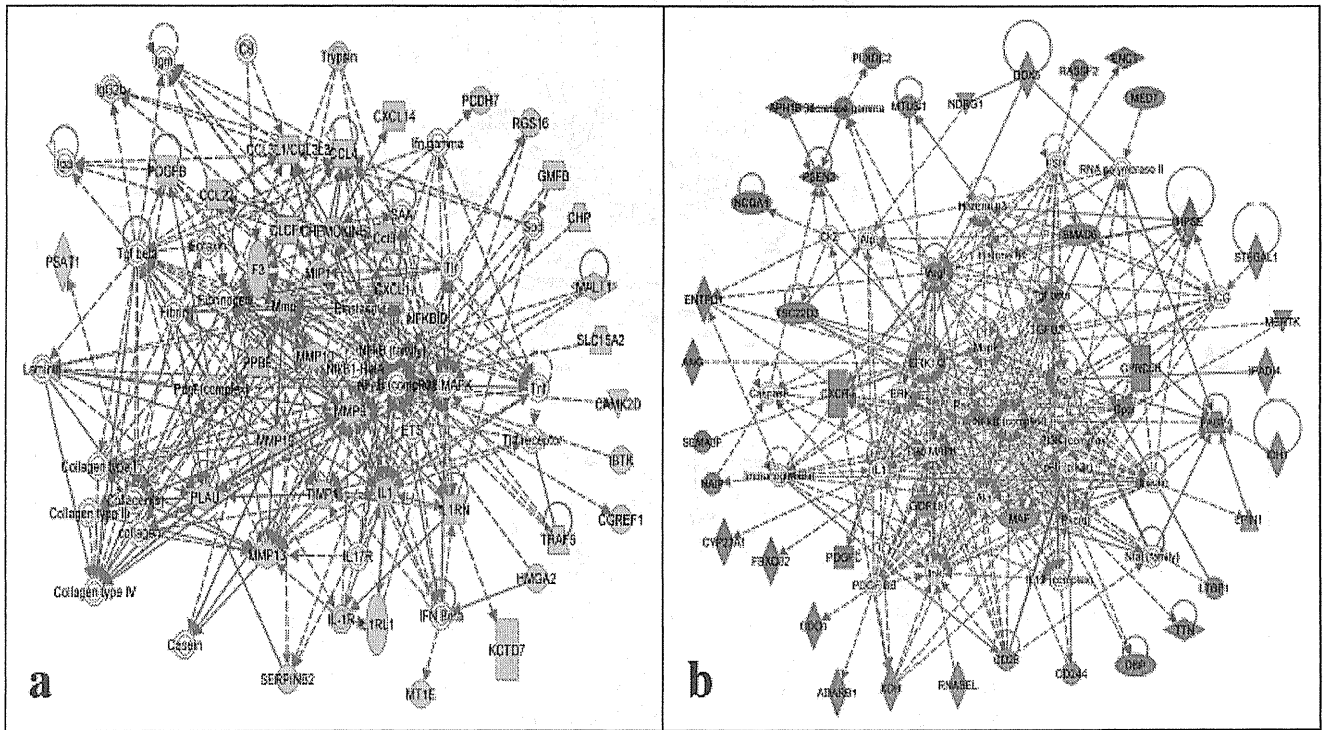


図 2. DAP12 機能喪失マウスマクロファージで発現変動した遺伝子群の分子ネットワーク(I). DAP12-KI-UT と WT-UT を比較し、0.33 倍以下に発現低下した 203 遺伝子と 3 倍以上に発現上昇した 121 遺伝子を同定し、Ingenuity Pathways Analysis (IPA)で解析した。(a)発現低下遺伝子群の分子ネットワーク。Antigen Presentation, Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Cellular Movement ネットワークと関連していた。(b)発現上昇遺伝子群の分子ネットワーク。Lipid Metabolism, Molecular Transport, Small Molecule Biochemistry ネットワークと関連していた。

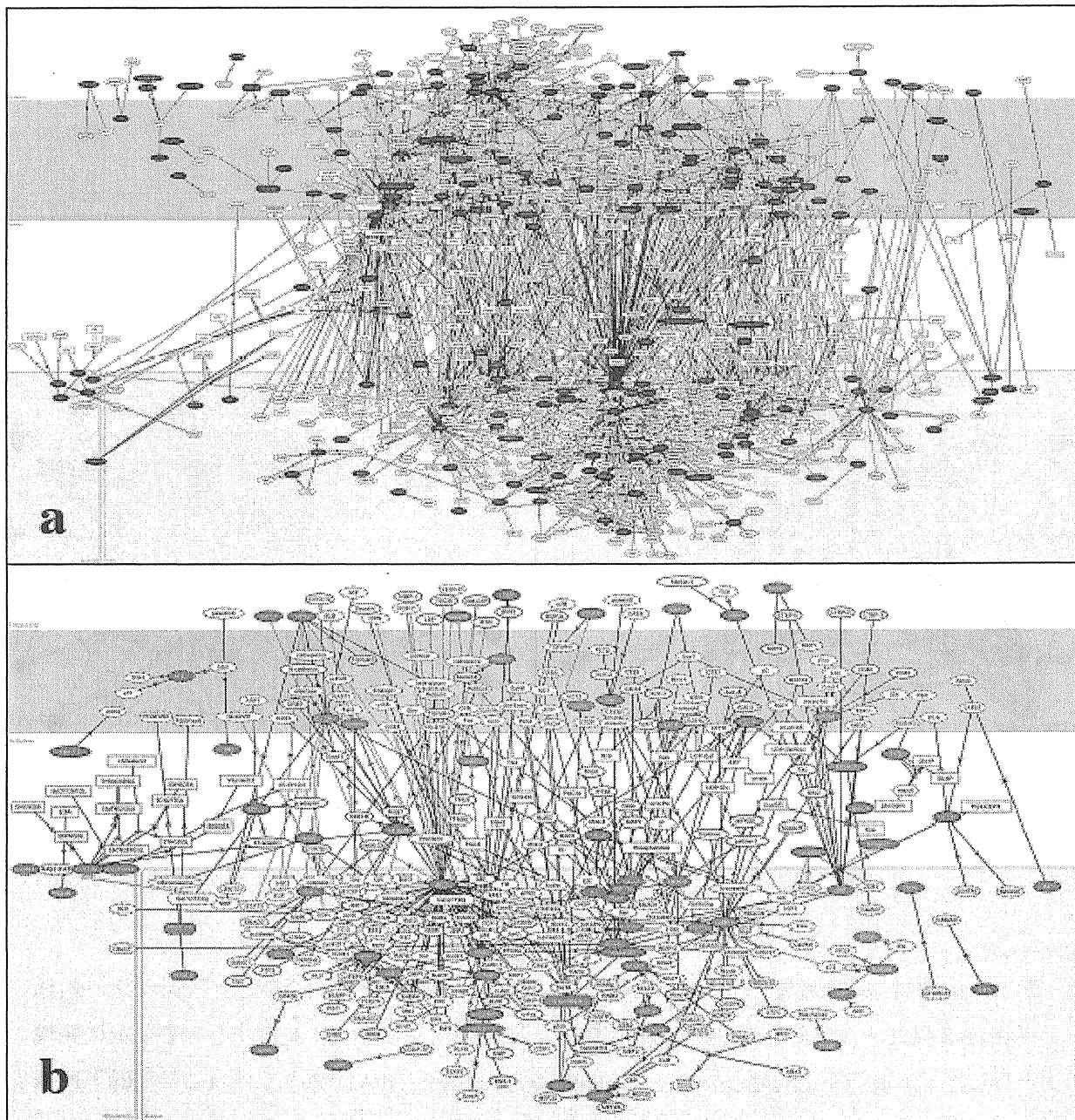


図 3. DAP12 機能喪失マウスマクロファージで発現変動した遺伝子群の分子ネットワーク(II).
 DAP12-KI-UT と WT-UT を比較し、0.33 倍以下に発現低下した 203 遺伝子と 3 倍以上に発現
 上昇した 121 遺伝子を同定し、KeyMolnet 周辺検索法で解析した。(a)発現低下遺伝子群の分
 子ネットワーク. Transcriptional regulation by AP-1, MMP signaling pathway, PAK signaling
 pathway と関連していた。(b)発現上昇遺伝子群の分子ネットワーク. Transcriptional regulation by
 AP-1, TGFbeta signaling pathway, CaMK signaling pathway と関連していた。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表（平成23年度）

研究代表者氏名： 佐藤 準一
研究分担者氏名： 天竺桂 弘子

雑誌

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1	Tabunoki H, Ode H, Banno Y, Katsuma S, Shimada T, Mita K, Yamamoto K, Sato R, Ishii- Nozawa R, Satoh J.	BmDI-1 is a key regulator of oxidative modification in the development of the silkworm, <i>Bombyx mori</i> .	PLoS One	6 (1)	e17683	2011
2	Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Futamura N, Kobayashi M, Toyoshima I, Yoshioka T, Enomoto K, Arai N, Arima K.	Immunohistochemical characterization of microglia in Nasu-Hakola disease brains.	Neuropathology	31 (4)	363-375	2011
3	Satoh J, Tabunoki H.	Comprehensive analysis of human microRNA target networks.	BioData Mining	4	e17	2011
4	Yoshino T, Tabunoki H, Sugiyama S, Ishii K, Kim SU, Satoh J.	Non-phosphorylated FTY720 induces apoptosis of human microglia by activating SREBP2.	Cellular and Molecular Neurobiology	31 (7)	1009-1020	2011
5	Numasawa Y, Yamaura C, Ishihara S, Shintani S, Yamazaki M, Tabunoki H, Satoh J.	Nasu-Hakola disease with a splicing mutation of TREM2 in a Japanese family.	European Journal of Neurology	18 (9)	1179-1183	2011
6	Nakamagoe K, Shioya A, Yamaguchi T, Takahashi H, Koide R, Monzen T, Satoh J, Tamaoka A.	A Japanese case with Nasu-Hakola disease of DAP12 gene mutation exhibiting precuneus hypoperfusion.	Internal Medicine	50 (22)	2839-2844	2011
7	Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Saito Y, Arima K.	Immunohistochemical characterization of gamma-secretase activating protein expression in Alzheimer's disease brains.	Neuropathology and Applied Neurobiology		in press	2011
8	Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Futamura N, Kobayashi M, Toyoshima I, Yoshioka T, Enomoto K, Arai N, Saito Y, Arima K.	Phosphorylated Syk expression is enhanced in Nasu-Hakola disease brains.	Neuropathology		in press	2011
9	Satoh J.	Molecular network of microRNA targets in Alzheimer's disease brains.	Experimental Neurology		in press	2011
10	Satoh J, Shimamura Y, Tabunoki H.	Gene expression profile of THP-1 monocytes following knockdown of DAP12, a causative gene for Nasu-Hakola disease.	Cellular and Molecular Neurobiology		in press	2011
11	佐藤準一	神経変性と神経炎症の分子ネットワーク解析. 脳内免疫システム:明らかになる神経疾患との関わり.	細胞工学	30 (10)	1028-1035	2011
12	佐藤準一	分子ネットワークからみた多発性硬化症の創薬標的分子. 特集I 神経免疫の新展開.	炎症と免疫	19 (6)	543-552	2011

研究成果の刊行に関する一覧表（平成23年度）

研究代表者氏名： 佐藤 準一

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
1 Sato J	Molecular network analysis of target RNAs and interacting proteins of TDP-43, a causative gene for the neurodegenerative diseases ALS/FTLD.	Wu J	IGI Global	2011
		Biomedical Engineering and Cognitive Neuroscience for Healthcare: Interdisciplinary Applications	Pennsylvania	in press
2 Sato J	Human microRNA targetome indicates a specialized role of microRNAs in regulation of oncogenesis.	Azumi AS	Springer	2011
		Systems Biology and Cancer	Netherlands	in press
3 佐藤 準一	網羅的遺伝子発現解析からみた病因・病態. 多発性硬化症の病態と診断. 病因・病態をめぐって.	辻省次・吉良潤一	中山書店	2011
		アクチュアル脳・神経疾患の臨床. 最新アプローチ 多発性硬化症と視神経脊髄炎	東京	in press