

分担課題:胎児炎症反応症候群の解析

研究分担者 柳原 格 大阪府立母子保健総合医療センター研究所 部長

研究要旨

- ① 我が国における流産早産起因微生物の同定と、その病原性発揮機構について解析を行った。その結果、1)原因不明の流早産胎盤の 42%からマイコプラズマ科ウレアプラズマ属細菌が分離された。また、2)ウレアプラズマのリポ蛋白質(MBA)および合成した MBA 由来リポペプチド(UPM-1)が、自然免疫系(TLR)を介して NF- κ B のシグナルカスケードを活性化すること、3)MBA, UPM-1 が妊娠マウス胎盤において誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)の発現を上昇させることを見出し、これらの因子による胎仔・胎盤循環不全の病態が明らかとなった。
- ② 日本人習慣流産患者に認められるアネキシン A5 遺伝子の SNP5 のマイナーアレル(T/G, G/G)は習慣流産のリスクファクターであることを報告したが、マイナーアレル G/G の抗凝固療法に対する反応性は良く 12 名中 10 名が生児を獲得した(83%)。本遺伝子多型は、抗凝固療法が必要な症例を個別化できる可能性を示唆した。

A. 研究目的

- ① 一般的に病原性の低い細菌が疾患の原因となることを証明することは困難である。マイコプラズマ科に属する細菌であるウレアプラズマは、分離、培養や血清学的診断が難しく、また健康成人生殖器内より高率に(40-80%)分離されることから、正常細菌叢を形成する細菌の一種と認識されていた。その病原性については長らく議論が続いてきた。我々のグループはウレアプラズマリポ蛋白質(MBA)による妊娠マウスモデルを用いた流早産モデル動物の解析、培養細胞を用いた NF- κ B シグナルカスケード惹起について基礎的な実験を行い解析した。これらを通じ、ウレアプラズマが流早産起因菌であることの証明を行ってきた。また、早産胎盤を用いた疫学的な検討でも、ウレアプラズマが日本人で最も頻度の高い流早産起因微生物の一つであった。さらに、臨床で早産治療薬としても用いられるプロゲステロンが、MBA 誘導性炎症反応を抑制するかどうかという点について *in vitro* の系を用いて検討を行った。

- ② アネキシンファミリーの一つであるアネキシン A5 遺伝子の SNP5 がわが国の原因不明の習慣流産と関連することを報告した。本年は SNP5 のマイナーアレル多型と抗凝固療法との関連について、臨床的なアウトカムを指標に検討した。

B. 研究方法

- ① 当施設で単離した早産患者より得られた *Ureaplasma parvum* より Tx-114 を用いた 2 層分離法により MBA を疎精製した。また、MBA の N 末側システインをジアシル化した合成リポペプチド(UPM-1)を合成した。TLR 遺伝子を導入した培養 HeLa 細胞に MBA および UPM-1 を添加し、luciferase をレポーターとして NF- κ B 応答性を指標にこれらの炎症反応惹起機構について調べた。さらに、早産治療薬として注目されるプロゲステロンを培地に添加し、UPM-1 による NF- κ B 応答活性の抑制性について検討した。また、妊娠 15 日目のマウス(C3H/HeN)の子宮内に投与後の早産の有無、また早産の起こらなかったマウスについては、

妊娠 18 日目に帝王切開術にて胎仔を観察、死亡数を比較した。採取した胎盤を用いて、HE 染色、iNOS 免疫染色等を行った。さらに、ウレアプラズマと同等の粒子径を持つナノ素材を持ちいた胎盤機能障害について検討した。

- ② 1998 年以降、当センター及び関連施設を受診した 3 回以上流産を経験した習慣流産患者の中で抗凝固療法を施行後に妊娠帰結が確認できた 401 名とアネキシン A5 遺伝子の SNPs の関連性について解析した。

(倫理面への配慮)

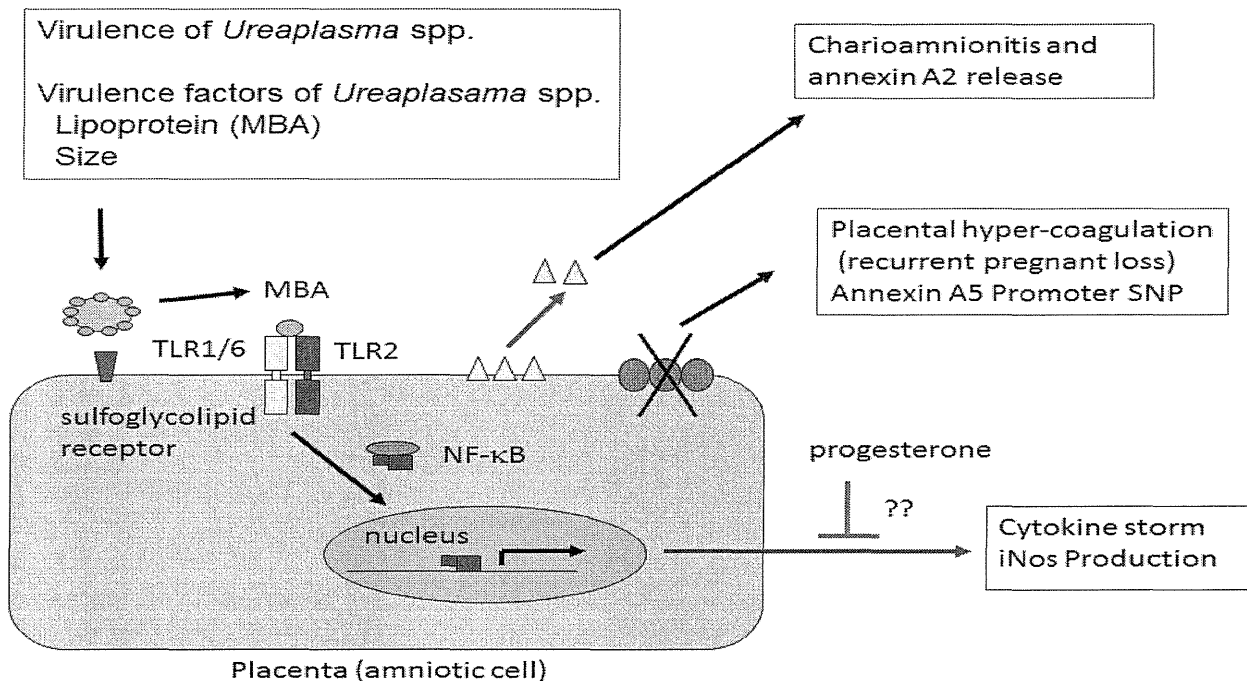
本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針を遵守した。本研究内容は、大阪府立母子保健総合医療センターの承認を受けた(承認番号 204, 214-2)。

C. 研究結果

- ① 前方視的に行った流早産胎盤(151 例)からのウレアプラズマの生菌分離頻度は 42%であり、疫学的に絨毛膜羊膜炎(CAM)とウレアプラズマ培養陽性の関連性を示した。また、ウレアプラズマ感染胎盤において特徴的な二層性の好中球浸

潤像を見出した。世界で初めてとなる *Arthrobacter* spp.による母体DIC、流産症例を経験した。MBA, UPM-1 は濃度依存的に NF-κB 応答性を示し、TLR2 依存的な炎症反応惹起の機構が明らかとなった。このことは、妊娠マウスを用いた *in vivo* の検討でも MBA, UPM-1 が流早産を起こし、NF-κB による炎症反応の下流に存在する iNOS が活性化されたことから裏付けられた。一方、本シグナルカスケードに対する治療効果の可能性について調べる目的で行った *in vitro* の系でプロゲステロンは、濃度依存的に NF-κB 応答性を抑制することが分かった。さらに、ウレアプラズマと同等の粒子径を持つナノ素材(ナノシリカ)は、サイズ依存的に胎盤に集積し胎盤循環を障害することを見出した。

- ② 抗凝固療法が施行され妊娠が確認された習慣流産患者 401 例中 148 例(26.7%)はマイナーアレル G/G, T/G を持っていた。また、メジャーアレル T/T253 例のうち生児獲得症例は 187 例(73.9%)、一方マイナーアレル T/G136 例のうち生児獲得症例は 95 例(69.9%)、G/G12 例のうち生児獲得症例は 5 例(83.3%)であった。G/G 症例は少ないが、これまでのところ治療成績がよいと考えられる。



D. 考察

- ① 炎症反応やストレスに誘導される iNOS によって産生される NO は、カテコラミン等の昇圧物質による血管トーンスの低下をもたらす、循環不全を起こすことが知られている。UPM-1 低濃度投与群では iNOS の中等度の発現が、高濃度投与群では iNOS の強い発現を確認した。これらのことから、ウレアプラズマの MBA や UPM-1 は NF- κ B の活性化を通じて、マウス胎盤全体で下流の iNOS の産生を誘導し、結果として胎仔・胎盤循環不全を引き起こし、早産や胎仔死亡を誘発したものと考えられた。病原性の疫学的な証明から、病原因子の同定まで感染症としての大枠を捉えた。また、ウレアプラズマなどマイコプラズマ科の細菌は最も小さな生物の一つ(ウイルスと同等のサイズ)である。同等の粒子径を持つナノ素材の妊娠マウスの母体血管内投与にて、胎盤に集積し胎盤機能障害を起こしたことは、単純にもの大きさという物性が胎盤循環障害の有無を規定するという新しい概念を作った。このことは、母子医療関係者のみならず、我が国の重要なナノ産業界や社会的にも大きなインパクトを与えると同時に、安全性担保の基準作りの重要性を示した。
- ② アネキシン A5 遺伝子の SNP5 のマイナーアレル T/G、G/G は日本人症例では習慣流産のリスクファクターであり、抗凝固療法を受けた 12 名の G/G 患者の 10 名が生児を獲得したことの意義は大きい。一方、Kaandorp SPらは、原因不明の習慣流産(364 名)にアスピリン、ヘパリン療法は効果がなかったと報告した(NEJM, 362, 1586-96, 2010)。しかしながら、アネキシン A5 SNP など症例の詳細な病因病態解析は行っていなかった。今後さらなる検討は必要であるが、日本人習慣流産患者においてはアネキシン A5 の遺伝子多型を調べ、高リスク型を持つ患者に対して抗凝固療法を行う治療の可能性を示した。

E. 結論

- ① 我が国における主要な流産起因微生物の検索にてウレアプラズマ細菌を同定した。また、免疫反応を惹起する分子としての病原因子である MBA を同定し、病原性細菌としての位置づけを明確にした。
- ② 日本人習慣流産に関連する SNP を報告し、抗

凝固療法に反応する症例を個別化し、「習慣流産のテーラーメイド医療」となることが期待された。

F. 研究発表

1. 論文発表

2012-13 年

1. Shigeta N, Ozaki K, Hori K, Ito K, Nakayama M, Nakahira K, Yanagihara I. An Arthrobacter spp. Bacteremia Leading to Fetal Death and Maternal Disseminated Intravascular Coagulation. *Fetal and Pediatric Pathology*, 32, pp25-31, 2013
2. Namba F, Ina S, Kitajima H, Yoshio H, Mimura K, Saito S, Yanagihara I. Annexin A2 in amniotic fluid: Correlation with histological chorioamnionitis, preterm premature rupture of membranes, and subsequent preterm delivery. *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 38(1), pp137-44, 2012
3. Sakamoto S, Wakae K, Anzai Y, Murai K, Tamaki N, Miyazaki M, Miyazaki K, Romanow WJ, Ikawa T, Kitamura D, Yanagihara I, Minato N, Murre C, Agata Y. E2A and CBP/p300 Act in Synergy To Promote Chromatin Accessibility of the Immunoglobulin κ Locus. *J Immunol*, 188(11), pp5547-60, 2012
4. Morita A, Nakahira K, Hasegawa T, Uchida K, Taniguchi Y, Takeda S, Toyoda A, Sakaki Y, Shimada A, Takeda H, Yanagihara I. Establishment and characterization of Roberts Syndrome and SC phocomelia model medaka, *Oryzias latipes*. *Dev Growth Differ*, 54(5), pp588-604, 2012

2011 年

1. Mitobe J, Yanagihara I, Ohnishi K,

- Yamamoto S, Ohnishi M, Ishihama A, Watanabe H. RodZ regulates the post-transcriptional processing of the *Shigella sonnei* type III secretion system. *EMBO reports*, 12(9), pp911-6, 2011
2. Mimura K, Tomimatsu T, Minato K, Jugder O, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Nozaki M, Yanagihara I, Kimura T. Ceftriaxone preconditioning confers neuroprotection in neonatal rats through glutamate transporter 1 upregulation. *Reproductive Sciences*, 18(12), pp1193-201, 2011
 3. Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, Mimura K, Morishita Y, Nozaki M, Yoshida T, Ogura T, Nabeshi H, Nagano K, Abe Y, Kamada H, Monobe Y, Imazawa T, Aoshima H, Shishido K, Kawai Y, Mayumi T, Tsunoda S, Itoh N, Yoshikawa T, Yanagihara I, Saito S, Tsutsumi Y. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nature Nanotechnology*, 6(5), pp321-8, 2011
 4. Nozaki M, Wakae K, Tamaki N, Sakamoto S, Ohnishi K, Uejima T, Minato N, Yanagihara I, Agata Y. Regulation of TCR V γ 2 Gene Rearrangement by the Helix-Loop-Helix Protein, E2A. *International immunology*, 23(5), pp297-305, 2011
 5. Ohnishi K, Nakahira K, Unzai S, Mayanagi K, Hashimoto H, Shiraki K, Honda T, Yanagihara I. Relationship between heat-induced fibrillogenicity and hemolytic activity of thermostable direct hemolysin and a related hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. *FEMS microbiology letters*, 318(1), pp10-7, 2011
 6. Miyamura H, Nishizawa H, Ota S, Suzuki M, Inagaki A, Egusa H, Nishiyama S, Kato T, Pryor-Koishi K, Nakanishi I, Fujita T, Imayoshi Y, Markoff A, Yanagihara I, Udagawa Y, Kurahashi H. Polymorphisms in the *annexin A5* gene promoter in Japanese women with recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod*, 17(7), pp447-52, 2011
- 2010 年
1. Yanagihara I, Nakahira K, Yamane T, Kaieda S, Mayanagi K, Hamada D, Fukui T, Ohnishi K, Kajiyama S, Shimizu T, Sato M, Ikegami T, Ikeguchi M, Honda T, Hashimoto H. Structure and functional characterization of *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(21), pp16267-74, 2010
 2. Nishihara M, Sonoda M, Matsunami K, Yanagihara K, Yonemoto N, Ida S, Namba F, Shimomura I, Yanagihara I, Waguri M. Birth length is a predictor of adiponectin levels in Japanese young children. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 23, pp913-920, 2010
 3. Nishihara M, Yamada M, Nozaki M, Nakahira K, Yanagihara I. Transcriptional regulation of the human *establishment of cohesion 1 homolog 2* gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 393(1), pp111-7, 2010
 4. Namba F, Hasegawa T, Nakayama M, Hamanaka T, Yamashita T, Nakahira K, Kimoto A, Nozaki M, Nishihara M, Mimura K, Yamada M, Kitajima H, Suehara N, Yanagihara I. Placental features of chorioamnionitis colonized with *Ureaplasma* species in preterm delivery. *Pediatric Research*, 67(2), pp166-72, 2010

(和文、総説)

1. 中平久美子、柳原格. 「細菌毒素 100 年の謎を解く」化学と生物, 49(6), 366-367, 2011
2. 岩田みさ子、和栗雅子、中西功、光田信明、中山雅弘、柳原格. 「ウレアプラズマ陽性例への乳酸菌製剤投与の試み」. 大阪府立母子医療センター雑誌、27 (1,2) 、2011
3. 齋藤滋、杉浦真弓、丸山哲夫、田中忠夫、竹下俊行、山田秀人、小澤伸晃、中塚幹也、木村正、藤井知行、下屋浩一郎、山本樹生、佐田文宏、廉東天、早川智、一瀬白帝、柳原格、秦健一郎、勝山博信、堤康央、中野有美、福井淳史、杉俊隆. 「不育症 over view」産婦人科の実際 60(10), 1401-1408, 2011
4. 橋本博、山根努、池口満徳、中平久美子、柳原格. 「腸炎ビブリオが産生する耐熱性溶血毒 TDH の構造と機能」. 日本結晶学会誌、52, 285-289、2010

(報道)

1. 「ナノ材料 国が安全性調査」朝日新聞(夕刊) 2012. 2. 6. 堤康央らとの共同研究成果を受けて厚生労働省が調査を開始.
2. 「習慣流産の遺伝子発見」毎日新聞, 中日新聞, 朝日新聞, 日本経済新聞, 47NEWS, 東京新聞, 大阪日日新聞, 京都新聞, 大分共同新聞, その他 2011. 2. 2. 倉橋浩樹、柳原格他の論文紹介.
3. 「加熱しても壊れない、食中毒原因菌・腸炎ビブリオの毒素に迫れ!!」柳原格、橋本博 Spring-8 News, 55, 2-4, 2011.
4. 「ナノ粒子の胎児への影響, 大小・表面加工で変化」、日本経済新聞 2011. 4. 25. 堤康央、柳原格他の論文紹介.
5. “Nanoparticles impact pregnancy in mice.” Chemical and Engineering News (C & EN) ACS, April 11, 2011. 堤康央、柳原格他の論文紹介.

6. “Nanoparticles versus the placenta.” Jeffrey A. Keelan. Nat Nanotechnol, 6, p263-264, 2011. 堤康央、柳原格他の論文紹介.
7. 「加熱で再び毒性」の謎解明、朝日新聞科学欄、2010. 5. 25. 柳原格、本田武司.
8. 食中毒原因菌の腸炎ビブリオの毒性は加熱してもなぜ消えないのか? - 腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒 (TDH) の構造解明」SPRING-8 ホームページ、プレスリリーストピックス、2010. 5. 21. 柳原格、橋本博、本田武司.
http://www.spring8.or.jp/ja/news_publications/press_release/2010/100521
9. 「食中毒の原因、腸炎ビブリオ～加熱しても毒が消えない理由～」、播磨科学公園都市・研究最前線 28、バンカル(神戸新聞)、77 秋号、pp74-77、2010. 柳原格
10. 「加熱すると毒性が戻る不思議な菌：感染症と災害(2)」、アピタル、エマージェンシー・コール、朝日新聞ホームページ asPara クラブ、2010. 6. 26. 柳原格

2. 学会発表

2012 年

1. Daisuke Kinoshita, Kiyooki Sumi, Hiroaki Tubouchi, Kensi Wasada, Kumiko Nakahira, Itaru Yanagihara, Gastric fluid cytokines in preterm infants : a useful test for evaluating antenatal inflammation, 17th Congress of the Federation of Asian and Oceania Perinatal Societies (FAOPS) and the 16th Annual Congress of the Perinatal Society of Australia and New Zealand (PSANZ) – FAOPS & PSANZ Sydney 2012. March 18-21
2. 久野秀太、小野寺章、西海史子、諸澤瑛、田中敦士、岩崎綾香、田鍋奈巳、根津菜摘、宝諸あい、米村重信、柳原格、堤康央、河

- 合裕一. 「非晶質ナノシリカの精子頭部への結合による精子運動性の低下」日本薬学会 第132年会、2012.3.28-31 札幌 ポスター
3. 西海史子、柳原格、「*Ureaplasma parvum*の細胞内取り込み機構・細胞内動態解析」、日本マイコプラズマ学会、盛岡、2012.5.24-25、口頭
 4. 柳原格、中平久美子、「腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒(TDH)の膜障害機構の解明」、近畿腸管微生物研究会、吹田、2012.6.16、口頭
 5. 木下大介、玉置祥子、斉藤広幸、川村彬子、酒井絵美子、井石倫弘、甲斐明彦、前川周、隅清彰、中山雅弘、柳原格. 「出生直後の新生児胃液中顆粒球エラストーゼ、サイトカインは組織学的絨毛膜羊膜炎を反映する」周産期新生児学会 2012.7.8-10、大宮、口頭
 6. 名倉由起子、内田薫、柳原格. 「早産における臨床分離マイコプラズマ科の血清型診断のまとめ」周産期新生児学会 2012.7.8-10、大宮、ポスター
 7. 柳原格、中平久美子、「The aggregative property of thermostable direct hemolysin」、日米医学協力研究会コレラ・細菌性腸管感染症専門部会日本側総会、京都、2012.8.6、口頭
 8. Misako Iwata, Msahiro Nakayama, Masako Waguri, Nobuaki Mitsuda, Itaru Yanagihara, Tomio Fujita, Isao Nakanishi. Massive intervillous fibrin deposition in women with recurrent pregnancy loss, International Federation of Placenta Associations, September 18-21 2012, Hiroshima, ポスター
 9. Hideto Inagaki, Sayuri Ota, Haruki Nishizawa, Hironori Miyamura, Kumiko Nakahira, Machiko Suzuki, Sachie Nishiyama, Yasuhiro Udagawa, Itaru Yanagihara, Hiroki Kurahashi. Obstetric complication-associated ANXA5 promoter polymorphisms affect gene expression via DNA secondary structures. American Society of Human Genetics, November 6-10 2012, San Francisco
 10. 小野寺章、西海史子、田中敦士、諸澤瑛、久野秀太、岩崎綾香、田鍋奈美、根津菜摘、宝諸あい、福井健太郎、米村重信、柳原格、堤康央、河合裕一、「非結晶ナノシリカの細胞膜への結合とナノ生殖毒性との関連」、日本薬学会近畿支部、2012.10.20、武庫川
 11. 久野秀太、小野寺章、西海史子、諸澤瑛、田中敦士、岩崎綾香、田鍋奈巳、根津菜摘、宝諸あい、米村重信、柳原格、堤康央、河合裕一、「非結晶ナノシリカの精子頭部への結合による精子運動性の低下」、日本薬学会近畿支部、2012.10.20、武庫川
 12. 太田小百合、稲垣秀人、宮村浩徳、西澤春紀、中平久美子、柳原格、宇田川康博、倉橋浩樹. 「習慣流産をおこす ANXA5 上流のグアニン四重鎖構造多型」 人類遺伝学会、2012.10.25-27、東京
 13. Hideto Inagaki, Sayuri Ota, Haruki Nishizawa, Hironori Miyamura, Kumiko Nakahira, Macjiko Suzuki, Sachie Nishiyama, Yasuhiro Udagawa, Itaru Yanagihara, Hiroki Kurahashi, Obstetric complication-associated ANXA5 promoter polymorphisms affect gene expression via DNA secondary structures, American Society of Human

Genetics, November 6-10, 2012, San Francisco

14. Jiro Mitobe, Shouji Yamamoto, Itaru Yanagihara, Makoto Ohonishi, Haruo Watanabe, Multimer Formation of Bacterial Cytoskeletal Protein RodZ, United States-Japan Cooperative Medical Science Program, December 12-14, 2012, Chiba
15. Itaru Yanagihara, Kumiko Nakahira, The aggregative property of thermostable direct hemolysin, United States-Japan Cooperative Medical Science Program, December 12-14, 2012, Chiba
16. 小野寺章、西海史子、古田拓也、中平久美子、石井幸奈、本間安季、太田舞子、諸澤瑛、福井健太郎、米村重信、柳原格、堤康央、河合裕一。「非晶質ナノシリカの細胞膜への結合とナノ生殖毒性との関連」生化学会 2012. 12. 14-16、福岡

2011 年

1. 三戸部治郎、柳原格、大西真、石浜明、渡邊治雄。桿菌の形態形成に関わる細胞骨格蛋白 RodZ の RNA 結合活性を介した赤痢菌 Type III 分泌装置発現への関与、2011 年日本農芸化学会、2011. 3. 28、採択後震災のため中止
2. 柳原格、中平久美子。「腸炎ビブリオの産生する耐熱性溶血毒の構造学的解析」近畿腸管微生物研究会、2011. 6、大阪
3. 柳原格、中平久美子、内田薫。「流早産起因微生物ウレアプラズマとその病原発揮機構」第 58 回トキシシンポジウム、2011. 7. 6-7、東京
4. 内田薫、味村和哉、柳原格。「流早産関連細菌 *Ureaplasma parvum* の病原因子の同定」第 47 回日本周産期・新生児医学会学術集会、2011. 7. 10-12、札幌
5. 味村和哉、野崎昌俊、柳原格。「ナノシリカの妊娠マウス投与が胎盤に与える影響」第 47 回日本周産期・新生児医学会学術集会、2011. 7. 10-12、札幌
6. 柳原格、味村和哉、名倉由起子、西海史子、中平久美子。「Nanoparticle can cross the placental barrier in pregnant mice」日米コレラ、2011. 8. 3、京都
7. 吉岡靖雄、山下浩平、東阪和馬、森下裕貴、長野一也、阿部康弘、鎌田春彦、角田慎一、鍋師裕美、柳原格、齋藤滋、伊藤徳夫、吉川友章、堤康央。「安全なナノマテリアルの創製に向けた次世代影響評価：妊娠後期暴露の胎仔影響に焦点を絞って」第 18 回日本免疫毒性学会、2011. 9. 8-9、千葉
8. 吉岡靖雄、山下浩平、東阪和馬、森下裕貴、長野一也、阿部康弘、鎌田春彦、角田慎一、鍋師裕美、柳原格、齋藤滋、伊藤徳夫、吉川友章、堤康央。「食品中ナノマテリアルの安全性評価：安全なナノマテリアルの創製に向けた次世代影響について」第 102 回日本食品衛生学会、2011. 9. 29-30、秋田
9. Kaoru Uchida, Kumiko Nakahira, Takashi Shimizu, Itaru Yanagihara, Inflammatory response and intrauterine fetal death in pregnant mice induced by MBA from clinical isolate of *Ureaplasma parvum*, Joint Congress of The 5th Meeting of Asian Organization for Mycoplasmaology, The 38th Meeting of the Japanese Society of Mycoplasmaology, 2011.10-19-21, Nagasaki
10. Itaru Yanagihara, Kaoru Uchida, Kumiko Nakahira, Fumiko Nishiumi, Virulence factors of *Ureaplasma parvum*, Joint

- Congress of The 5th Meeting of Asian Organization for Mycoplasma, The 38th Meeting of the Japanese Society of Mycoplasma, 2011.10-19-21, Nagasaki
11. Kazuya Mimura, Taeko Hasegawa, Placental feature of chorioamnionitis colonized with *Ureaplasma* species in preterm delivery, Joint Congress of The 5th Meeting of Asian Organization for Mycoplasma, The 38th Meeting of the Japanese Society of Mycoplasma, 2011.10-19-21, Nagasaki
 12. 山下浩平、吉岡靖雄、鍋師裕美、柳原格、齋藤滋、伊藤徳夫、吉川友章、堤康央. 「安全なナノマテリアルの開発に資する非結晶ナノシリカの生殖発生毒性評価」第 61 回日本薬学会近畿支部、2011. 10. 22、神戸
 13. 太田小百合、稲垣秀人、宮村浩徳、西澤春紀、柳原格、宇田川康博、倉橋浩樹. 「ANXA5 プロモーター領域のグアニン四重鎖構造と習慣流産」第 56 回日本人類遺伝学会、2011. 11. 9-12、千葉
 14. Tomoaki Yoshikawa, Yasuo Tsutsumi, Kohei Yamashita, Yasuo Yoshioka, Kazuma Higashisaka, Yuki Morishita, Pan Huiyan, Toshinobu Ogura, Mayu Taira, Michiko Aoyama, Hiromi Nabeshi, Norio Itoh, Itaru Yanagihara, Shigeru Saito, Safety analysis of silica particle for development of nanomedicine ~Developmental toxicity on placenta~, 第 5 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム、2011. 11-26-27、名古屋
 15. 岩田みさ子、中平久美子、和栗雅子、光田信明、倉橋浩樹、柳原格、中西功. 「不育症患者におけるアネキシン A5 遺伝子 SNP5 と生児獲得に関する研究」第 56 回日本生殖医学会、2011. 12. 8-9、横浜

2010 年

1. 柳原格、中平久美子、大西紀陽久、真柳浩太、橋本博、本田武司. 「腸炎ビブリオの産生する thermostable direct hemolysin (TDH) の構造学的解析」、第 57 回トキシシンポジウム、2010. 7. 14-16、大津、オーラル
2. 柳原格. 「ウレアプラズマ感染 —流早産そして次世代への影響—」、第 37 回日本マイコプラズマ学会 2010. 6. 10-11、東京、シンポジスト
3. 北島博之、柳原格. 「ウレアプラズマ感染早産胎盤における絨毛膜羊膜炎の病理像」、近畿腸管微生物研究会、2010. 6. 5、大阪、口演
4. 柳原 格. 「LPS 誘導性早産モデルマウスに対するチオレドキシンの有効性」、京都大学ウイルス研究所ミニシンポジウムレドックス生命医科学の展望 (ATL Allergy TRX)、2010. 3. 15、京都、招待講演
5. 内田薫、清水隆、柳原格. 「妊娠マウスを用いた *Ureaplasma parvum* 由来 multiple banded antigen (MBA) による胎内炎症惹起機構の解明」、第 37 回日本マイコプラズマ学会、2010. 6. 10-11、東京、オーラル
6. 内田薫、野崎昌俊、柳原格. 「妊娠マウスを用いた *Ureaplasma parvum* による胎内炎症惹起機構の解明を目指して」、第 46 回日本周産期・新生児医学会総会、2010. 7. 11-13、神戸、オーラル&ポスター
7. 味村和也、藤田富雄、中山雅弘、光田信明、柳原格. 「当センターの原因不明不育症患者における 1st trimester 流産検体の病理学的所見の分類」、第 46 回日本周産期・新生児医学会総会、2010. 7. 11-13、神戸、オーラル&ポスター
8. 奥山宏臣、清水義之、佐々木隆士、内田薫、柳原格、稲村昇. 「胎児消化管におけるサーファクタント蛋白質 A と D の局在と産生に関する検討」、第 46 回日本周産期・新生児医

- 学会総会、2010. 7. 11-13、神戸、オーラル&ポスター
9. 野崎昌俊、難波文彦、内田薫、西原正泰、柳原格。「Lipopolysaccharide (LPS) 誘発早産モデルマウスにおけるチオレドキシン (TRX) の早産抑制効果」、第 46 回日本周産期・新生児医学会総会、2010. 7. 11-13、神戸、ポスター
 10. 野崎昌俊、柳原格、縣保年「bHLH 転写因子 E2A による Vy2 遺伝子再構成の制御機構」、第 20 回 Kyoto T cell Conference、2010. 6. 4-5、京都、オーラル
 11. 宮村浩徳、西澤春紀、稲垣文香、江草悠美、藤田富雄、柳原格、宇田川康博、倉橋浩樹。「アネキシン A5 遺伝子多型と習慣流産の関連」、第 55 回日本人類遺伝学会総会、2010. 10. 28-30、大宮、ポスター
 12. Hiroshi Hashimoto, Nakahira Kumiko, Tsutomu Yamane, Takashi Fukui, Kiyohisa Ohnishi, Toshiyuki Shimizu, Takeshi Honda, Mitsunori Ikeguchi, Mamoru Sato, Itaru Yanagihara. Structural study of thermostable direct hemolysin from *Vibrio parahaemolyticus*, 日本生物物理学会総会、2010. 9-20-22、仙台、ポスター
 13. Masatoshi Nozaki, Nobuyuki Tamaki, Shuji Sakamoto, Itaru Yanagihara, Yasutoshi Agata. Regulation of Vy2 gene rearrangement by the helix-loop-helix protein, E2A, 14th International Congress of Immunology, 2010.8.22-27, Kobe, poster
 14. Itaru Yanagihara, The pathological findings and molecular mechanisms of *Ureaplasma* spp. infection in preterm delivery, 7th European Society for Infectious Diseases in Obstetrics and Gynaecology (ESIDOG), 2010.10.2-5, Trieste, Italy, Invited Speaker
 15. Mitsuhide Hamaguchi, Yoshinori Murao, Masahiro Tanaka, Noriko Tsuda, Toshihumi

Uejima, Katsuyuki Maruyama, Itaru Yanagihara, Ikuhiro Sakata. The mRNA expression of fatty acid amide hydrolase in human whole blood may correlate with recovery in patients with sepsis, 第 38 回日本救急医学会学術集会、2010. 10. 9-11、東京、ポスター

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特許公開 2010-90055 (特許出願 2008-261081) 淀井淳司、三浦美樹子、柳原格、難波文彦、中平久美子。母体投与用薬剤

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担課題:周産期異常症例の大規模検体収集体制の確立

研究分担者 和氣徳夫 九州大学大学院生殖病態生理学 教授
田中守 聖マリアンナ医科大学産婦人科 講師

研究要旨

複数の環境要因や遺伝要因の関与する多因子疾患は、詳細で正確な臨床経過情報も併せて解析する大規模疫学調査が有効である。その一方で、多因子疾患で同定される関連因子の多くは寄与率が低く、関連解析で十分な検出力を期待するには、多数(多くは千例規模)の疾患集団の解析が必要とされる場合が多いため、前向きコホート研究では十分な症例を得られない場合が多い。そこで本研究計画では、周産期疾患の分子遺伝疫学研究を成功させるために、症例対照研究の体制を基軸に、多数かつ多彩な症例を収集する。検体収集に当たっては、正確な臨床情報と共に、将来の網羅的遺伝子解析に供する事が可能な倫理的手続きを踏み、様々な疫学解析手法に供する事の出来るよう対応した。このような大規模検体収集体制を確立し、未知の病因病態の解明に資するリソースを整備する事を目的とした。

A. 研究目的

複数の環境要因や遺伝要因が関与しているいわゆる多因子疾患は、一般論として遺伝学的解析が困難であり、分子生物学的な解析でも明確な結論が得られない事が多い。特に周産期の異常は、そもそも異常を有する個体が次世代を残せないリスクが高いので、家系例等はほとんど存在せず、特に遺伝学的解析や分子生物学的解析が困難な疾患であると捉える事ができる。近年、いわゆるポストゲノムシーケンス技術の著しい進歩に伴い、多数の症例に対し、網羅的な発現解析や全ゲノム領域の一塩基多型解析が可能となり、多因子疾患の病因病態解明に画期的成功を収めつつある。多因子疾患の解析では、コホート研究で得られるような詳細で正確な臨床経過情報が重要である。その一方で、多因子疾患で同定される関連因子の多くは寄与率が低く、関連解析で十分な検出力を期待するには、相当多数(多くは千例規模)の疾患集団が必要とされる場合が多い。そこで本研究計画は、症例対照研究の体制を基軸に、多数かつ多彩な症例を、正確な臨床情報と共に、将来の遺伝子解析に供する事が可能な状態で収集する体制を確立し、周産期に関連する疾患の未知の病因病態の解明に資する症例収集と試験的解析を目的とする。

B. 研究方法

【対象症例】

- 1) 妊娠 37 週未満で分娩に至った症例
- 2) その他の異常を伴う周産期症例
- 3) 正常産例(対照群)

【対象予定人数】

- 1) 早産症例:年間 500 症例、本研究終了までに計 2,000 例以上。
- 2) 正常産例(対照群)年間 500 例、本研究終了までに計 2,000 例。
- 3) その他の症例(胎児発育異常、先天奇形、流産、胞状奇胎)

症例数の根拠

オッズ比 1.4、頻度 5%の関連多型を検出力 80%で同定するのに 1,000 例必要。

【収集する臨床情報】

分娩前

- ① 身長
- ② 体重(非妊時)
- ③ 妊娠歴(流・早産歴、死産歴、FGR 歴、妊娠高血圧既往歴)
- ④ 円錐切除術歴の有無
- ⑤ 嗜好(喫煙、飲酒)
- ⑥ 不妊治療の有無
- ⑦ 母体基礎疾患の有無
- ⑧ 妊娠合併症の有無

分娩後

- ① 分娩週日(早産の際は人工早産か自然早産か)
- ② 分娩時母体年齢
- ③ 分娩時母体体重、体重増加
- ④ PROM の有無
- ⑤ 単胎妊娠か多胎妊娠か
- ⑥ 分娩様式
- ⑦ 陣痛促進剤の有無
- ⑧ 臍帯血 2ml
- ⑨ 母体末梢血 2ml

新生児

- ① 胎数
- ② 性別
- ③ 身長
- ④ 体重
- ⑤ 頭周囲径
- ⑥ 胸囲
- ⑦ Apgar 値
- ⑧ 胎盤重量
- ⑨ LFD (SGA), AFD (AGA), HFD (LGA)の有無
- ⑩ 児の転帰
- ⑪ 児の NICU 管理有無
- ⑫ 児の合併症

【収集する試料】

- 分娩後の臍帯血 2ml
- 母末梢血 2ml
- 父末梢血 2ml

【解析対象遺伝子・ゲノム領域】

- 1) 約 250 万箇所の大規模なゲノム網羅的一塩基多型解析
- 2) 網羅的 DNA メチル化解析(計約 45 万箇所の遺伝子プロモーター領域、インプリンティング遺伝子調節領域を中心とした DNA メチル化解析)

4. 倫理面への配慮

ヒトゲノム・遺伝子研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針を遵守し、初年度に本分担研究課題の中心となる医療機関が、各自の倫理委員会の定める倫理申請手続きを行い、承認を得て行っている。本年度は、必要に応じて関連協力機関での倫理申請も行った。

C. 研究結果

初年度は、特に遺伝子解析に対する倫理申請に十分な準備を行った後、検体収集体制の構築を行ない、倫理申請承認後の 2010 年 11 月より、実際に周産期の異常症例の回収を開始した。

次年度は、合計約 330 症例(正常対照群 150 例、妊娠糖尿病 80 症例、早産 50 症例、胎児発育不全 50 症例)を収集した。

最終年度は合計約 300 症例(正常対照群 150 例、妊娠糖尿病 50 症例、早産 50 症例、胎児発育不全 40 症例、先天異常 10 症例)を収集した。

D. 考察

研究分担者の異同に伴い、事実上研究協力先が増えた。当初中心に集めていた比較的頻度の高い周産期の疾患(早産、妊娠糖尿病等)、原因不明の不妊症・不育症や、先天奇形症候群等に加え、早発閉経等の周産期医療にかかわる稀少疾患も収集可能となった。

E. 結論

遺伝子解析結果を正確に理解するには、詳細な臨床情報を伴った高品質のゲノムリソースが必要である。今後は、大規模網羅的なゲノム解析が身近なものになる事は論を待たず、本分担研究で収集した大量検体は、周産期の研究のみならず、様々な疾患研究への有効活用応用が期待できる。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyakoshi K, Tanaka M, Saisho Y, Shimada A, Minegishi K, Kim SH, Asai S, Itoh H, Yoshimura Y., Pancreatic beta-cell function and fetal growth in gestational impaired glucose tolerance. *Acta Obstet Gynecol Scand.*, 89, 769-75, 2010
2. Miyakoshi K, Saisho Y, Tanaka M, Shimada A, Itoh H, Yoshimura Y, Pancreatic β -cell function in women with gestational diabetes mellitus defined by new consensus criteria., *Diabetes Care.*, 34, E8, 2011

3. 8-hydroxy-2-deoxyguanosine immunostaining in placenta is associated with maternal serum uric acid levels in early-onset preeclampsia. Fukushima K, Murata M, Tsukimori K, Kaneki E, Wake N, Am J Hypertens. In press.
 4. Congenital Abdominal Aortic Aneurysm with Porencephaly: A Case Report. Tsunematsu R, Shinozaki T, Fukushima K, Yumoto Y, Hidaka N, Morokuma S, Fujita Y, Hojo S, Wake N. Fetal Diagn Ther. 2010 [Epub ahead of print]
 5. Three cases of acute fatty liver of pregnancy: postpartum clinical course depends on interval between onset of symptoms and termination of pregnancy. Aso K, Hojo S, Yumoto Y, Fukushima K, Miyazaki M, Kotoh K, Wake N. J Matern Fetal Neonatal Med. 2010;23(9):1047-9.
 6. Abnormal fetal movements, micrognathia and pulmonary hypoplasia: a case report. Abnormal fetal movements. Morokuma S, Anami A, Tsukimori K, Fukushima K, Wake N. BMC Pregnancy Childbirth. 2010 ;17:10:46.
 7. Miyakoshi, K., Saisho, Y., Tanaka, M., Shimada, A., Itoh, H., Yoshimura, Y..Pancreatic beta-cell function in women with gestational diabetes mellitus defined by new consensus criteria. Diabetes Care 2011; 34; e8.
- する検討 第27回日本糖尿病・妊娠学会
 学術集会 2011、11月、神戸市
4. 田中守、第三回胎児心電図研究会 特別講演 2012年8月、仙台市
 5. 田中守、糖尿病妊婦の周産期管理-糖尿病と診断されたら胎児の何に注意する?第28回日本糖尿病・妊娠学会 2012年11月、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

2. 学会発表

1. 宮越敬、田中守、税所芳史、他 新診断基準による妊娠糖尿病合併妊婦における膵β細胞機能に関する検討 第26回日本糖尿病・妊娠学会学術集会 2010、11月、さいたま
2. 臍帯ヘルニアに合併した先天性静脈管欠損の子宮内診断例 日高庸博, 和氣徳夫ほか、第46回日本周産期・新生児医学会学術集会 平成22年7月、神戸市
3. 宮越敬、田中守、前原佳代子他日本人妊娠糖尿病合併妊婦における遺伝子多型に関

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
（総合）研究報告書

母子コホート研究における母体の予後研究、胎児の発育に関する研究

研究分担者 国立成育医療研究センター周産期センター産科 渡辺 典芳

研究要旨

周産期診療においても、エビデンスに基づいた診療を行うためには質の高いコホート研究により得られた結果が臨床の現場に還元されることが重要であると考えられる。本研究では、前向きコホート研究を通じ、ハイリスク妊娠管理における転帰の検討を行った。

A 研究目的

近年少子高齢化が進み、母体出産年齢の高齢化が進んでいる。また生殖補助医療（ART）の進歩および合併症を取り扱う診療の進歩によりハイリスク妊娠率の増加も認められる。本母子コホート研究においてはこれらの高齢妊娠・ART妊娠・ハイリスク妊娠の母児転帰および周産期管理が母児転帰に及ぼす影響を前向きに検討することを目的としている。

周産期診療においても、エビデンスに基づいた診療を行うためには質の高いコホート研究により得られた結果が臨床の現場に還元されることが重要であると考えられる。

本研究では、前向きコホート研究を通じ、ハイリスク妊娠管理における転帰の検討を行うことを目的とした。

B 研究方法

① 初年度：

- 1 研究計画・倫理申請・リクルート準備
- 2 preliminaryな検討として国立成育医療研究センター周産期センターのデータベー

スを用い、診療情報 2 次利用としての「超低出生体重児における帝王切開術式および Rapid Tocolysis としてのニトログリセリン投与効果についての後方視的検討」を行う。

② 2 年目

- 1 リクルート開始・検体採取・臨床情報収集
- 2 前年度に引き続き国立成育医療研究センター周産期センターのデータベースを用い、診療情報 2 次利用として「妊娠中の自己血貯血における検討」を行う。

③ 3 年目

母子コホート研究のデータベースを用い、「体外受精妊娠と妊娠高血圧症候群発症のリスクとの関連に関する研究」を行う。

C 研究結果

① 「超低出生体重児における帝王切開術式および Rapid Tocolysis としてのニトログリセリン投与効果についての後方視的検討」

2002 年 4 月～2011 年 1 月まで当施設で行った帝王切開術のうち、単胎妊娠でかつ児出生体重が 1000g 未満であった 88 例に

について診療録を用いて後方視的に検討した。NTG 投与例 (NTG(+)) は 63 例、NTG 非投与例 (NTG(-)) は 18 例、全身麻酔で行われた例 (GA) は 7 例であった。

NTG(+)群では 63 例中で体下部横切開 52 例 (82.5%) ,11 例 (17.5%) が逆 T 字切開で行われた。NTG(-)群では 18 例中 9 例 (50%) が体下部横切開, 5 例 (27.8%) が逆 T 字切開, 4 例 (22.2%) が体部縦切開で行われた。また GA 群 7 例では全例が体部縦切開で行われた。平均分娩週数・出生体重は NTG(+)群 $27.2 \pm 2.3(w)$, $763 \pm 152(g)$, NTG(-)群 $28.1 \pm 2.8(w)$, $842 \pm 114(g)$, GA 群 $24.7 \pm 1.8(w)$, $745 \pm 136(g)$ (mean \pm SD) であり、分娩週数では GA 群が早期であった。また術時出血量においては、それぞれ 661 ± 401 (ml), 582 ± 285 (ml), 978 ± 538 (ml) であり GA 群で有意に多かった。検討症例において、児損傷の発生は認められなかった。

②「妊娠中の自己血貯血における検討」

2005 年 4 月～2010 年 3 月の期間に当センターで行った自己血貯血 314 症例・809 貯血を検討した。

314 症例において目標貯血量である 1200ml の貯血を完遂することが可能であった。貯血中におこる有害事象である血管迷走反射 (VVR) は 314 症例中 10 症例 (3.2%) に 809 貯血中 11 貯血 (1.4%) に発生したが、非妊娠時に報告されている頻度 (1.4%) とほぼ同等でリスクを増加することなく施行できることが確認された。貯血中に施行された胎児心拍モニタリングでは全貯血で胎児心拍異常は確認されず、胎児においても妊娠中の自己血貯血は安全であることが確認された、

③「体外受精妊娠と妊娠高血圧症候群発症のリスクとの関連に関する研究」

母子コホート研究への参加者で、2012 年 9 月 30 日までに分娩した 1508 症例の内、①多胎妊娠、②妊娠 16 週以降で初診、③胎児 (新生児) 構築異常合併例、④腎疾患・高血圧合併例を除外した 1254 例を対象とした。

対象症例 1254 例中で、IVF 妊娠は 226 例 (18%)、非 IVF 妊娠は (82%) であった。背景の比較は表 1 に示す。IVF 群と非 IVF 群の比較において、背景で有意な差を認めたのは、年齢 (38.4 ± 3.2 vs. 35.2 ± 4.1 歳, $p < 0.001$)、初産妊娠 (78.3% vs. 52.5% , $p < 0.001$)、結婚年齢 (30.8 ± 4.3 vs. 29.8 ± 4.2 , $p < 0.001$)、所得 (800 万円/年以上) (71.7% vs. 55.7% , $p < 0.001$)、甲状腺機能低下症合併 (6.2% vs. 3.0% , $p = 0.028$)、配偶者年齢 (40.6 ± 4.7 vs. 37.6 ± 4.9 , $p < 0.001$) であった。

対象 1254 症例における PIH 発症は 45 (3.6%)、preeclampsia 発症は 21 (1.7%) であった (表 2)。IVF 群では非 IVF 群に比較して PIH 発症は有意に高率であった (7.1% vs. 2.8% , $p = 0.004$)。また。Preeclampsia 発症も IVF 群で有意に高率であった (4.4% vs. 1.1% , $p = 0.002$)。

IVF 妊娠の PIH 発症リスクの検討の目的で行った多変量ロジスティック回帰分析 (年齢、経産回数、高血圧家族歴、収入、結婚年齢、甲状腺機能低下症合併を調整) での、オッズ比は 2.61 (95%信頼区間: 1.16-5.89) であった。Preeclampsia に関する同様の解析でもオッズ比は 4.70 (95%信頼区間: 1.49-14.8) であり、IVF 妊娠が有意なリスクであることが示された。

D 考察

本研究では母子コホートのデータを用い、周産期におけるリスク・背景が母児の転帰に及ぼす影響を検討することを目的としたが、研究期間内には全分娩が終了していないことより十分な検討ができていない状態である。しかし、母子コホートの集団で行った「体外受精妊娠と妊娠高血圧症候群発症のリスクとの関連に関する研究」では、海外での先行研究と同等の結果が得られ、今後児の長期的な転帰のデータも増加するにつれて、エビデンスの質も向上していくことが期待される。

E 結論

母子コホート研究における長期的な母児の情報収集は周産期管理におけるエビデンスレベルの向上のために重要であると考えられた。

F. 研究発表

(学会) 日本周産期私生児医学会シンポジウム テーマ「超低出生体重児の娩出法」

「超低出生体重児における帝王切開術式および Rapid tocolysis としてのニトログリセリン投与効果についての後方視的検討」

渡辺典芳、小澤伸晃、本村健一郎、青木宏明、三井真理、塚原優己、久保隆彦、名取道也、北川道弘、左合治彦

第 47 回日本周産期・新生児医学会、札幌、2011 年 7 月 10-12 日

(論文)

1 Watanabe N, Suzuki T, Ogawa K, Kubo T, Sago H. Five-year study assessing the feasibility and safety of

autologous blood transfusion in pregnant Japanese women.

J Obstet Gynaecol Res. 2011 Dec;37(12):1773-7.

2 Watanabe N, Suzuki T, Kitano E, Kitamura H, Hatanaka M, Sago H. A successful pregnancy in a patient suffering from recurrent mid-trimester pregnancy loss with complement component 9 deficiency after receiving cervical cerclage followed by clindamycin and progesterone: a case report J Obstet Gynaecol Res. 2012 Mar;38(3):562-6.

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

なし

研究成果の刊行に関する一覧

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Y. Okazaki, N. Ohshima, I. Yoshizawa, Y. Kamei, S. Mariggio, K. Okamoto, M. Maeda, Y. Nogusa, Y. Fujioka, T. Izumi, <u>Y. Ogawa</u> , Y. Shiro, M. Wada, N. Kato, D. Corda, N. Yanaka.	A novel glycerophosphodiester phosphodiesterase GDE5 controls skeletal muscle development via a non-enzymatic mechanism.	J. Biol. Chem.	285	27652-27663	2010
Ohtaki M, Otani K, <u>Hiyama K</u> , Kamei N, Satoh K, Hiyama E.	A robust method for estimating gene expression states using Affymetrix microarray probe level data.	BMC Bioinformatics,	11	183-196	2010
Ito M, Nakashima A, Hidaka T, Okabe M, Bac N.D., Ina S, Yoneda S, Shiozaki A, Sumi S, Tsuneyama K., Nikaido T, <u>Saito S.</u>	A role for IL-17 in induction of an inflammation at fetomaternal interface in preterm labour.	J.Reprod Immunol.	84	75-85	2010
Nakashima A, Ito M, Shima T, Bac N.D, Hidaka T, <u>Saito S.</u>	Accumulation of IL-17- positive cells in decidua of inevitable abortion cases.	Am J Reprod Immunol.	64	4-11	2010
T. Suganami, <u>Y. Ogawa.</u>	Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling.	J. Leukoc. Biol.	88	33-39	2011
Fujita K, Yokoya S, Fujieda K, Shimatsu A, Tachibana K, Tanaka H, Tanizawa T, Teramoto A, Nishi Y, Hasegawa Y, Hanew K, <u>Horikawa R</u> , Nagai T, Tanaka T.	Adult Heights of 258 Girls with Turner Syndrome on Low Dose of Growth Hormone Therapy in Japan.	Clin Pediatr Endocrinol	19(3)	63-68	2010
<u>Matsumoto K</u> , Terakawa M, Fukuda S, Saito H.	Analysis of signal transduction pathways involved in anti-CD30 mAb-induced human eosinophil apoptosis.	Int Arch Allergy Immunol	152 Suppl 1	2-8	2010

Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsuoka K, Masubara K, <u>Hata K</u> , <u>Horikawa R</u> , Ogata T.	Androgenetic/biparental mosaicism in a girl with Beckwith-Wiedemann syndrome-like and upd(14)pat-like phenotypes.	J Hum Genet.	(in press)		
Shiozaki A, Yoneda S, Soeda Y, <u>Saito S</u> .	Antenatal diagnosis of Breus' mole by ultrasonography.	Jpn. J. Obstet. Gynecol. Neonatal Hematol.	19	43-50	2010
A. Sato, H. Kawano, T. Notsu, M. Ohta, M. Nakakuki, K. Mizuguchi, M. Itoh, T. Suganami, <u>Y. Ogawa</u> .	Anti-obesity effect of eicosapentaenoic acid in high-fat/high-sucrose diet-induced obesity: importance of hepatic lipogenesis.	Diabetes	59	2495-2504	2010
Krischek B, Tajima A, Akagawa H, Narita A, Ruirok Y, Rinkel G, Wijmenga C, Feigl GC, Kim CJ, Hori T, Tatagiba M, Kasuya H, Inoue I.	Association of the Jun dimerization protein 2 gene with intracranial aneurysms in Japanese and Korean cohorts as compared to a Dutch cohort.	Neuroscience	169(1)	339-343	2010
Futamura K, Orihara K, Hashimoto N, Morita H, Fukuda S, Sagara H, <u>Matsumoto K</u> , Tomita Y, Saito H, Matsuda A.	beta2-Adrenoceptor agonists enhance cytokine-induced release of thymic stromal lymphopoietin by lung tissue cells.	Int Arch Allergy Immunol.	152	353-361	2010
Nishihara M, Sonoda M, Matsunami K, Yanagihara K, Yonemoto N, Ida S, Namba F, Shimomura I, <u>Yanagihara I</u> ,	Birth length is a predictor of adiponectin levels in Japanese young children.	Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism	23	913-920	2010
Kawamichi Y, Cui CH, Toyoda M, Makino H, Horie A, Takahashi Y, <u>Matsumoto K</u> , Saito H, Ohta H, Saito K, Umezawa A.	Cells of extraembryonic mesodermal origin confer human dystrophin in the mdx model of Duchenne muscular dystrophy.	J Cell Physiol.	223	695-702	2010
Nakashima A, Ito M, Yoneda S, Shiozaki A, Hidaka T, <u>Saito S</u> .	Circulating and decidual Th17 cell levels in healthy pregnancy.	Am J Reprod. Immunol.	63	104-109	2010

Tabara Y, Kohara K, Kita Y, Hirawa N, Katsuya T, Ohkubo T, Hiura Y, <u>Tajima A</u> , Morisaki T, Miyata T, Nakayama T, Takashima N, Nakura J, Kawamoto R, Takahashi N, Hata A, Soma M, Imai Y, Kokubo Y, Okamura T, Tomoike H, Iwai N, Ogihara T, Inoue I, Tokunaga K, Johnson T, Caulfield M, Munroe P; Global Blood Pressure Genetics Consortium, Umemura S, Ueshima H, Miki T.	Common variants in the ATP2B1 gene are associated with susceptibility to hypertension: the Japanese Millennium Genome Project.	Hypertension	56(5)	973-980	2010
Shiozaki A, Matsuda Y, Hayashi K., Satoh S, <u>Saito S</u>	Comparison of risk factors for major obstetric complications between Western countries and Japan: A case-cohort study.	J Obstet Gynecol. Res.	(in press)		
Matsuda M, Kawamichi Y, Shiozaki A, <u>Saito S</u> , Hayashi H.	Comparison of risk factors for placental abruption and placenta previa: case-cohort study.	J Obstet Gynecol. Res.	(in press)		
Kikuchi E, <u>Kubota M</u> , Kamei K, Ito S.	Critical illness polyneuropathy after septic peritonitis in a boy with nephrotic syndrome.	Pediatric Nephrol.	25	1771-1772	2010
Naonide TAKAYAMA Hiroshi SAKIYAMA	Cumulative Vaccination Coverage of the Second Dose of Measles-Rubella Vaccine in Preschool Children: Results of the 2008 Nationwide Survey in Japan	JMAJ	2010.4	Vol.53 No.2 101~105	
Hamada D, Hamaguchi M, Suzuki KN, Sakata I, <u>Yanagihara I</u> .	Cytoskeleton-modulating effectors of enteropathogenic and enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> : a case for EspB as an intrinsically less-ordered effector.	The FEBS Journal	277(11)	2409-2415	2010

Molvarec A, Ito M, Shima T, Yoneda S, Toldi G, Stenczer B, Vásárhelyi B, Rigó J. Jr, <u>Saito S.</u>	Decreased proportion of peripheral blood vascular endothelial growth factor- expressing T and natural killer cells in preeclampsia.	Am J Obstet Gynecol.	203	567.e1-567.e8	2010
Tomizawa SI, Kobayashi H, Watanabe T, Andrews S, <u>Hata K.</u> , Kelsey G, Sasaki H.	Development. Dynamic stage-specific changes in imprinted differentially methylated regions during early mammalian development and prevalence of non-CpG methylation in oocytes.	Development.	[Epub ahead of print]		2011
Nakaoka H, Takahashi T, Akiyama K, Cui T, <u>Tajima A.</u> , Krschek B, Kasuya H, Hata A, Inoue I.	Differential effects of chromosome 9p21 variation on subphenotypes of intracranial aneurysm: site distribution.	Stroke	41(8)	1593-1598	2010
Tomizawa SI, Kobayashi H, Watanabe T, Andrews S, <u>Hata K.</u> , Kelsey G, Sasaki H.	Dynamic stage-specific changes in imprinted differentially methylated regions during early mammalian development and prevalence of non-CpG methylation in oocytes.	Development.	(in press)		
Yamada Y, <u>Matsumoto K.</u> , Hashimoto N, Saikusa M, Homma T, Yoshihara S, Saito H.	Effect of Th1/Th2 cytokine pretreatment on RSV-induced gene expression in airway epithelial cells.	Int Arch Allergy Immunol	154	184-194	2011
Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, <u>Matsumoto K.</u>	Four distinct subtypes of non-ige-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms.	J Allergy Clin Immunol.	127	685-688	2011
<u>Saito S.</u> , Nakashima A, Shima T	Future directions of studies for recurrent miscarriage associated with immune etiologies.	J Reprod Immunol.	(in press)		