

病期間 6.9 ± 6.3 年で NMO 症例がより高齢で罹病期間も長かったが統計的には有意差はなかった。EDSS は NMO 例で 4.6 ± 2.5 MS 例では 3.6 ± 2.3 、MMSE は NMO 例で 26.6 ± 2.5 MS 例では 25.0 ± 4.5 でともに有意差はなかった。脳血流は NMO 例で 38.7 ± 2.9 MS 例では 41.7 ± 4.1 (単位 ml/100g/分) で有意に NMO 例が低かった。NMO 例では 5 例に大脳に脱髄性の病変があり残り 5 例は病変がないか非特異的な白質病変のみであったが病変の有無では脳血流に差はなかった。NMO 例では平均脳血流量と MMSE が相関したが年齢や罹病期間、EDSS とは相関しなかった。MS 例では平均脳血流量と MMSE、年齢が相関した。なお NMO 例の脳血流低下のパターンは視覚的には全般的な低下をみるもの、前方優位のもの、後方優位に低下するものがあり一定ではなかった。

D. 考察

今回は少数例の検討であり NMO 例では有意差はないが MS 例に比べて年齢が高いため脳血流の差に影響を与えていると思われる。しかし NMO でも脳病変の有無にかかわらず脳血流低下があることは間違いなくさらに脳血流と MMSE が有意な相関を示したことから、大脳の機能低下の指標になりうると思われた。

NMO は大脳白質・グリア細胞の病変が主体であるという説もあるが以前から高次脳機能の低下が知られておりさらに最近になって画像検査や病理で大脳皮質にも病変がありうるということが報告されている。今回の検討でも NMO の脳血流がみられ MMSE と相関をしめたことはこれまでの MS での脳血流の報告と同じでありなんらかの皮質機能低下を示唆しているものと考えられる。

E. 結論

NMO 症例でも脳血流量は低下し MMSE と相関していた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Tomoya Kawazoe, Manabu Araki¹⁾, Youwei Lin, Masafumi Ogawa, Tomoko Okamoto, Takashi Yamamura, Masato Wakakura, Miho Murata New-Onset Type 1 Diabetes Mellitus and Anti-Aquaporin-4 Antibody Positive Optic Neuritis Associated with Type 1 Interferon Therapy for Chronic Hepatitis C Internal Medicine Vol. 51 (2012) p. 2625-2629

Sato W, Tomita A, Ichikawa D, Lin Y, Kishida H, Miyake S, Ogawa M, Okamoto T, Murata M, Kuroiwa Y, Aranami T, Yamamura T. CCR2(+)CCR5(+) T cells produce matrix metalloproteinase-9 and osteopontin in the pathogenesis of multiple sclerosis. J Immunol. 2012 Nov 15;189(10):5057-65

2. 学会発表

小川雅文、林幼偉、岡本智子、村田美穂、山村隆、木村有喜男、佐藤典子
多発性硬化症の MR による定量的解析
第 53 回日本神経学会学術大会
2012 年 5 月 24 日 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
特記すべきことなし

多発性硬化症における MRI 拡散強調画像を利用した中枢温度に関する探索的研究

研究分担者 佐藤典子 国立精神神経医療研究センター 放射線診療部 部長
研究協力者 伊藤公輝 国立精神神経医療研究センター 放射線診療部 医師
酒井晃二 京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系 講師
神谷昂平 国立精神神経医療研究センター 放射線診療部 レジデント
岡本智子 国立精神神経医療研究センター 神経内科 医長
小川雅文 国立精神神経医療研究センター 神経内科 医長

研究要旨

脳の温度変化に伴う神経疾患の症状増悪はよく知られており、時に多発性硬化症 (MS) でも体温の上昇に伴い症状の悪化が見られる。このため新しく開発されたソフトウェアを用い MRI 拡散強調画像による中枢温度と MS の進行期や安定期、視神経脊髄炎 (NMO) との関連を検討した。健常人の温度と比較し、安定期 MS、活動期 MS、NMO に有意な差は認められなかった。本研究の結果からは、MS の活動性の有無や NMO が存在する場合でも、中枢の温度は安定して保たれていることが推測された。

A. 研究目的

脳はその重量 (体重の 2%) に比べ大きな熱量 (全身の熱産生のうち 16%) を産生する器官である。脳の温度は、解糖系でのエネルギー代謝による熱産生と、血流による熱交換とのバランスによって一定に保たれており、体表の温度 (例えば鼓膜温) と比較すると通常約 1°C ほど高い。神経系の炎症性疾患や神経変性疾患ではこのバランスが崩れ脳の温度が変化すること、あるいは脳の温度上昇が疾患の増悪因子になりうるということがいくつかの報告により指摘されている。

近年、拡散強調画像の後処理によって、脳脊髄液の温度を推定することのできる解析手法が提案され、水ファントムにおいて温度計による直接計測との一致が複数の報告により示されている。同手法を用いた解析により、もやもや病患者では、脳血流の低下を反映して健常対照者に比べ脳脊髄液の温度が上昇することが既に報告されている。

多発性硬化症患者では体温上昇により一過性の症状の増悪が時に見られることが知られ

ており、熱バランスに異常をきたす可能性がある。拡散強調画像の解析により、中枢神経系の脱髄・炎症疾患で MRI をオーダーされた患者の脳脊髄液温度を非侵襲的に計測・評価し、脱髄病変における中枢神経系の熱バランスに異常の探索的研究を行う。

B. 研究方法

共同研究機関にて開発されたソフトウェア (図 1) を使用し、多発性硬化症や類縁疾患の拡散強調画像の解析を行った。対象は 2012 年 6 月から 12 月まで、当院で撮影された安定期 MS 30 名、NMO 11 名、活動期 (慢性進行性を含む) MS 18 名、健常人ボランティア 15 名を評価した。撮像はすべて Philips 3T の MRI で行い、中枢神経の温度と病変活動性の相関を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は後方視研究として、国立精神神経医療研究センター倫理委員会にて承認済み。

C. 研究結果

安定期 MS、NMO、活動期 MS、健常ボランティアの平均温度はそれぞれと 36.61 ± 0.61 °C, 36.50 ± 0.99 °C, 36.51 ± 0.79 °C, 36.60 ± 0.74 °Cであった。活動期 MS、安定期 MS、NMO、健常者ボランティアの間でソフトウェアから測定される中枢の体温に有意差は認められなかった。(図 2) 少なくとも活動期にある MS でも中枢神経の温度変化をもたらすほどの影響は認められなかった。

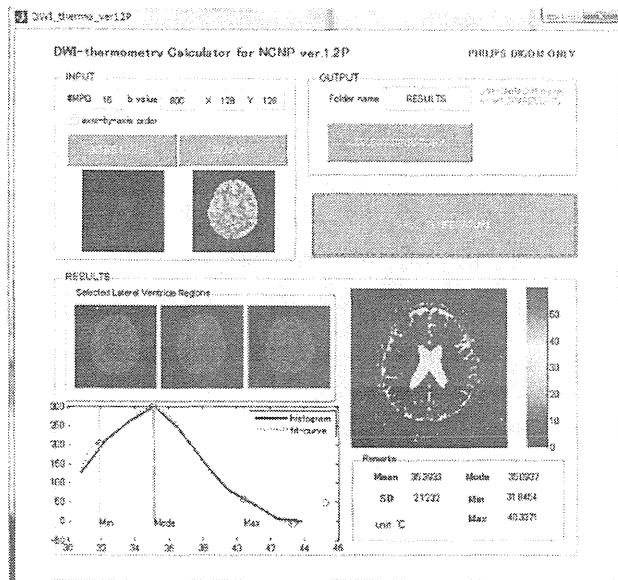


図 1 温度解析ソフトウェア

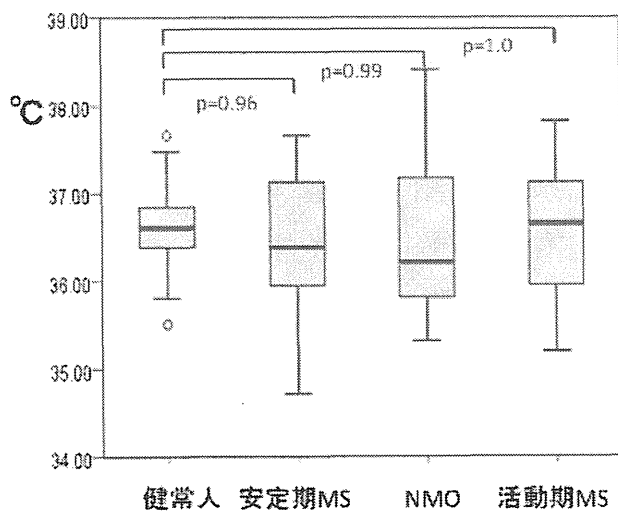


図 2 中枢温度の解析結果

D. 考察

MS などの疾患では複数の機序による体温調

節の異常や体温の急激な変動による症状の悪化が報告されている。この機序としては温度上昇による神経伝導障害の増悪や視床下部の視索前野の障害が原因と考えられている。だが直接に中枢温度を測定することは難しく、体表から体温障害と中枢神経の温度との関連は不明な点が多い。今回の結果では MS や NMO と健常ボランティアとの間で中枢の体温に有意差は認められず、脱髄病変が存在することによる直接の中枢温度変化は認められないことが示唆された。しかしながら、体温の変化は生理的変動や病変範囲、病変部位、罹病期間との評価など因子にも影響をうけるため、今後は詳細な解析を検討していく必要がある。

E. 結論

MS や NMO に関して MRI 拡散強調画像から推測される中枢温度の変化を示す所見は認められなかった。MS の活動性の有無や NMO が存在する場合でも、中枢の温度は安定して保たれていることが推測された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Ota M, Sato N, Matsuo J, Kinoshita Y, Kawamoto Y, Hori H, Teraishi T, Sasayama D, Hattori K, Obu S, Nakata Y, Kunugi H: Multimodal image analysis of sensorimotor gating in healthy women. Brain Res. 1499:61-68, 2013

2. 学会発表

なし

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

ビタミン D 応答遺伝子群のゲノムワイドレベルの解析: MS 発症における意義

研究分担者 佐藤 準一 明治薬科大学薬学部バイオインフォマティクス教授

研究要旨 多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)は、中枢神経系白質に炎症性脱髄巣が多発し、再発を繰り返す難病で、遺伝的要因(遺伝因子)と環境的要因(感染因子と環境因子)の複雑な相互作用により発症が誘導される。疫学研究により、日照時間の短い高緯度地域ほど、MS 有病率が上昇することがよく知られている。北緯 42°以北および南緯 37°以南では、MS 発症リスクが 3 倍上昇する。生体におけるビタミン D の合成は、皮膚への日光の紫外線照射により促進されるので、日照時間が短いことによる慢性的なビタミン D 欠乏と MS 発症の関連性が論じられている。活性型 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃(calcitriol)は、核内受容体 vitamin D receptor(VDR)に結合し、レチノイド X 受容体(retinoid X receptor; RXR)とヘテロダイマーを形成し、標的遺伝子プロモーター上の応答配列(vitamin D response element; VDRE)に結合して、標的遺伝子の転写を活性化する。しかしながら、MS 発症に直接関与する VDR-target genes(VDRTG)の全容は明らかでない。本研究では、next generation sequencer (NGS)を用いた ChIP-Seq による網羅的 VDR 結合部位の解析データを再解析し、ゲノムワイドな VDRTG の分子ネットワークを同定し、MS 発症におけるビタミン D 欠乏の役割を明らかにした。

A. 研究目的

多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)は、中枢神経系白質に炎症性脱髄巣が多発し、再発を繰り返す難病で、若年成人に好発する。北欧などの高頻度地域では有病率(prevalence)は、10 万人対 50-100 人である。MS では、遺伝的要因(遺伝因子)と環境的要因(感染因子と環境因子)の複雑な相互作用に

より発症が誘導される。MS では、髄鞘自己抗原反応性ヘルパーT 細胞(Th1, Th17)が出現し、血液脳関門を通過して脳や脊髄に浸潤し、マクロファージやミクログリアを活性化する。これらの産生する炎症性サイトカインが脱髄と軸索傷害を惹起する。MS は臨床経過から、再発寛解型(relapsing-remitting MS; RRMS), 2 次進行型(secondary-progressive MS; SPMS),

1次進行型(primary-progressive MS; PPMS)に分類される。病理学的には T 細胞浸潤、抗体沈着、オリゴデンドロサイトアポトーシスの所見に基づき、4 病型に分類される。このように MS は多様な病態を呈するが、背景となる分子機序は明らかではない。

MS 有病率の人種差は顕著であり、白人で最も高く、北欧の有病率は 10 万人対 50-100 人程度であり、アジア人やアフリカ人では低く、欧米でも有色人種では低い。疫学研究により、日照時間の短い高緯度地域ほど、MS 有病率が上昇することがよく知られている(geographic variation と呼ばれる)。北緯 42°以北および南緯 37°以南では、MS 発症リスクが 3 倍上昇する。最近の大規模メタ解析では、HLA-DRB1 アレルの分布差を補正後にも、緯度と有病率の相関の再現性が確認された。米軍兵 700 万人の血清ビタミン D 濃度と MS 発症の因果関係に関する前向き研究より、ビタミン D は MS 発症抑制因子として働くことが示唆されている。

生体におけるビタミン D の合成は、皮膚への日光の紫外線照射により促進され、肝臓と腎臓で水酸化されて、活性型ビタミン D である 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃(calcitriol)に変換後、核内受容体 vitamin D receptor(VDR)に結合する。VDR はレチノイド X 受容体(retinoid X receptor; RXR)とヘテロダイマーを形成して、標的遺伝子プロモーター上の応答配列

(vitamin D response element; VDRE)に結合し、標的遺伝子の転写を活性化して、免疫調節作用など多彩な生理活性を呈する遺伝子群の転写を活性化する。MS 発症と強く連鎖する HLA-DRB1*1501 のプロモーター領域には VDRE が存在する(Ramagopalan SV et al. PLoS Genet 5: e1000369, 2009)。VDR 遺伝子 SNP と MS 発症の関連も報告されている。われわれは、精選文献から専門家により収集された 91 種類の MS 疾患メディエート分子に関して、これらが構成する分子ネットワークを解析したところ、VDR を介する遺伝子発現制御系と最も強い関連性を認めた(Satoh J. Clin Exp Neuroimmunol 1: 127-140, 2010)。すなわち MS 病態制御において、ビタミン D-VDR 系は主要な分子経路として働いていることが示唆された。

2003 年に、ヒトゲノム全塩基配列の解読が完了し、マイクロアレイを用いて個々の細胞における全遺伝子発現情報や多型情報を網羅的に解析出来るようになった。最近では、次世代シーケンサー(next-generation sequencer: NGS)を用いて、個人の全ゲノムやエクソームを数日で解析出来るようになった。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、MS などの多くの難病が、システム固有の防御機構であるロバストネス(robustness)の破綻に起因していると考えられ

ている。現在では、膨大な文献情報から様々な分子間相互作用を抽出して、信頼性が高いコンテンツを収録した知識データベース (knowledgebase)を用いることにより、複雑な生体分子ネットワークを簡単に解析出来るようになった。本研究では、NGS ChIP-Seq による網羅的 VDR 結合部位の解析データを利用して、バイオインフォマティクスの手法で再解析し、ゲノムワイドな VDR 標的遺伝子(VDR-target genes; VDRTG)の分子ネットワークを同定し、MS 発症におけるビタミン D 欠乏の役割を明らかにした。

本研究の成果は、MS における新規治療薬開発に貢献し、厚生労働行政を主導とする患者の QOL 向上につながる。

B. 研究方法

1. VDR ChIP-Seq データの再解析

NGS Illumina GAI1 による calcitriol 刺激ヒト B リンパ球(B lymphoblast cell line; LCL)と単球(THP-1)の VDR ChIP-seq short read fastq データ SRP002673, SRP005910 を DDBJ Sequence Read Archive (DRA)からダウンロードした。

SRP002673 のサンプルは HapMap project CEPH の 2 名の被験者 GM10855, GM10861 に由来し、100 nM calcitriol で 36 時間刺激後に、rabbit anti-VDR antibody (sc-1008; Santa Cruz Biotechnology) で chromatin

immunoprecipitation (ChIP)解析と NGS 解析 (ChIP-Seq)を実行したデータセットである (Ramagopalan SV et al. Genome Res 20: 1352-1360, 2010)。また彼らは同時に transcriptome を Human Gene 1.0 ST Array (Affymetrix) で解析し、Gene Expression Omnibus (GEO)に GSE22176 として登録した。

SRP005910 は 10 nM calcitriol で 40 分刺激後に、rabbit anti-VDR antibody (ab3508; Abcam) で ChIP-Seq 解析を実行したデータセットである(Heikkinen S et al. Nucleic Acids Res 39: 9181-9193, 2011)。また刺激後 4 時間の transcriptome を Human-6 v2.0 Expression Beadchip (Illumina) で解析し、GEO に GSE27270 として登録した。

ChIP-SeqNGS データに関して、Bowtie 0.12.7 (bowtie-bio.sourceforge.net)を用いて reference sequence hg19 にマッピングし、MACS (liulab.dfci.harvard.edu/MACS)を用いて peak, summit を stringent conditions (fold enrichment ≥ 20 , FDR $\leq 1\%$)で検出し有意な VDRTG を同定し、GenomeJack(三菱スペースソフト)用いて、genome 上の位置を同定した(図 1)。また Meme-ChIP (meme.sdsc.edu/meme/cgi-bin/meme-chip.cgi)を用いて、結合部位の consensus sequence を抽出した。

2. VDRTG の分子ネットワーク解析

生物情報統合プラットフォーム Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG),

KeyMolnet(医薬分子設計研究所)、Ingenuity Pathways Analysis (Ingenuity Systems)を用いて、VDRTG の分子ネットワークを解析した。

(倫理面への配慮)

全てのデータは公開された公共データであり、使用に当たり倫理的な問題はない。

C. 研究結果

1. VDR ChIP-Seq データの再解析

SRP002673, SRP005910 の再解析により、全部で 4717 ChIP-Seq peaks を検出した。タンパク質をコードしない non-coding genes と intergenic regions に存在する peaks を除く 2996 peaks は the promoter (n = 1351; 45.1%), 5'UTR (n = 249; 8.3%), exon (n = 85; 2.8%), intron (n = 1254; 41.9%) or 3'UTR (n = 57; 1.9%)に分布していた。

Calcitriol 刺激後の全サンプルにおいて、fold enrichment top 50 VDRTG では、VDRE consensus sequence として報告されている hexameric (G/A)G(G/T)TCA repeat with 3 intervening base pairs (DR3)モチーフを同定出来た(図 2)。Transcriptome データ GSE22176, GSE27270 の解析では、low stringent conditions ($p \leq 0.05$ by Welch's t-test without adjustment by Bonferroni correction and fold change ≥ 1.5 as upregulation or ≤ 0.75 as downregulation)で、134 発現上昇遺伝子を同定し、このうち 29 遺伝子(20%)が ChIP-Seq

VDRTG と一致した。

2. VDRTG の分子ネットワーク解析

次に重複および calcitriol 未刺激で検出された VDRTGs を除去した 1543 遺伝子 (treatment-responsive VDRTGs)を抽出し、分子ネットワークを解析した。KEGG では the pathways in cancer (hsa05200; $p = 4.92E-05$), leukocyte transendothelial migration (hsa04670; $p = 1.17E-04$) (図 3), systemic lupus erythematosus (hsa05322; $p = 5.57E-04$), focal adhesion (hsa04510; $7.30E-04$), Fc gamma (Fc γ) receptor-mediated phagocytosis (hsa04666; $p = 2.39E-03$)との関連性を認めた。IPA では Fc γ receptor-mediated phagocytosis in macrophages and monocytes ($p = 6.85E-07$), molecular mechanisms of cancer ($p = 1.53E-06$), macropinocytosis signaling ($p = 5.61E-06$), glioma signaling ($p = 1.44E-05$), leukocyte extravasation signaling ($p = 2.03E-05$)との関連性を認めた。KeyMolnet では、transcriptional regulation by retinoblastoma protein (Rb)/E2F family proteins ($p = 1.65E-182$), transcriptional regulation by VDR ($p = 2.74E-171$), transcriptional regulation by interferon regulatory factor (IRF) proteins ($p = 7.03E-103$), heat shock protein 90 (HSP90) signaling pathway ($p = 9.33E-87$), histone acetyltransferase (HAT) signaling pathway ($p =$

3.04E-79)との関連性を認めた。

D. 考察

NGS 解析による calcitriol 刺激 B リンパ球と単球の VDR ChIP-seq データ SRP002673, SRP005910 をバイオインフォマティクスの手法を駆使して再解析し、1543 VDR 標的遺伝子 (treatment-responsive VDRTGs) を同定出来た。

分子ネットワーク解析では、VDRTG の主要なネットワークとして免疫寛容と密接に関連する leukocyte transendothelial migration, Fcg receptor-mediated phagocytosis, transcriptional regulation by VDR を検出した。

すなわち高緯度で日照時間が短いことによる慢性的なビタミン D 欠乏を背景に発症する MS においては、VDRTGs 発現低下および VDRTG ネットワーク機能不全が免疫病態の誘導機序として考えられる。

われわれの解析では ChIP-Seq peaks の 45.1%は promoter, 41.9%は intron に位置していた。Mouse preosteoblasts では 44%が intron と exon に存在すると報告されている(Meyer MB et al. J Steroid Biochem Mol Biol 121: 130-135, 2010)。

ビタミン D は、活性化 T 細胞のアポトーシスや単球の脳への移入の阻止を介して、MS モデル experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) の症状を軽減する

(Pedersen LB et al. J Neurosci Res 85: 2480-2490, 2007)。われわれは T 細胞のアポトーシスを制御する中心分子 CD99 や Th17 細胞分化誘導促進因子 NR4A, iTreg 誘導転写因子 RUNX1, RUNX3 などが treatment-responsive VDRTGs であることを発見した。これらの機能異常は自己免疫発症促進に関与している可能性がある。

E. 結論

NGS 解析による B リンパ球と単球の VDR ChIP-seq データを再解析し、1543 VDR 標的遺伝子(treatment-responsive VDRTGs)を同定出来た。VDRTG の主要なネットワークとして免疫寛容と密接に関連する leukocyte transendothelial migration, Fcg receptor-mediated phagocytosis, transcriptional regulation by VDR を見出し、慢性的なビタミン D 欠乏を背景に発症する MS の免疫病態との関連が示唆された (Multiple Sclerosis, in press)。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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* 38(2): 132-141, 2012.
2. 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* 32(2): 149-157, 2012.
 3. Satoh J. Molecular network of microRNA targets in Alzheimer's disease brains. *Experimental Neurology* 235(2): 436-446, 2012.
 4. 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* 32(3): 337-343, 2012.
 5. Tabunoki H, Saito N, Suwanborirux K, Charupant K, Satoh J. Molecular network profiling of U373MG human glioblastoma cells following induction of apoptosis by novel marine-derived anti-cancer 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline alkaloids. *Cancer Cell International* 12(1): e14, 2012.
 6. Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Saito Y, Arima K. Dystrophic neurites express C9orf72 in Alzheimer's disease brains. *Alzheimer's Research and Therapy* 4(4): e33, 2012.
 7. Satoh J. Molecular network analysis of human microRNA targetome: from cancers to Alzheimer's disease. *BioData Mining* 5(1): e17, 2012.
 8. 佐藤 準一: アルツハイマー病脳におけるマイクロRNA発現異常. マイクロRNA発現制御と疾患. *細胞* 44(10): 10-14, 2012.
- 著書
1. Satoh J. Human microRNA targetome indicates a specialized role of microRNAs in regulation of oncogenesis. In *Systems Biology in Cancer Research and Drug Discovery*, ed by Azumi AS. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 247-266, 2012.
 2. Satoh J. Molecular network analysis of target RNAs and interacting proteins of TDP-43, a causative gene for neurodegenerative diseases ALS/FTLD. In *Technological Advancements in Biomedicine for Healthcare Applications*, ed by Wu J. IGI Global, Hershey, Pennsylvania, USA, pp. 314-335, 2012.

3. 佐藤 準一: アクアポリン-4(AQP-4). 多発性硬化症(MS)診療のすべて. 山村隆編. 診断と治療社、p. 170-172, 2012.
4. 佐藤 準一: 多発性硬化症(MS)の血液診断. 多発性硬化症(MS)診療のすべて. 山村隆編. 診断と治療社、p. 232-237, 2012.
5. 佐藤 準一: DNA マイクロアレイ. 多発性硬化症(MS)診療のすべて. 山村隆編. 診断と治療社、p. 238-241, 2012.
6. 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、p. 125-136, 2012.

2. 学会発表

国際学会

1. Satoh J, Shimamura Y, Tabunoki H: Gene expression profile of THP-1 monocytes following knockdown of DAPI2, a causative gene for Nasu-Hakola disease. 7th International Conference on Rare Diseases and Orphan Drugs. Tokyo, Japan, 2012.2.5.
2. Satoh J, Tabunoki H, Arima K: Immunohistochemical characterization of gamma-secretase activating protein (GSAP) expression in Alzheimer's disease brains. 64th Annual Meeting of American Academy of Neurology. New Orleans, USA, 2012.4.25.
3. Satoh J, Tabunoki H: Accumulation of a repulsive axonal guidance molecule RGMa in amyloid plaques: a pathological hallmark of regeneration failure in Alzheimer's disease brains. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology. Aging and Diseases of Aging. Tokyo, Japan, 2012.10.25.
4. Satoh J, Tabunoki H: Molecular network analysis of ChIP-Seq-based vitamin D Target genes. 11th International Congress of Neuroimmunology. Boston, USA, 2012.11.6.
5. Satoh J: Molecular network profiling of U373MG human glioblastoma cells following induction of apoptosis by novel marine-derived anti-cancer 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline alkaloids. The JSPS 3rd Medicinal Chemistry Seminar of Asia/Africa Scientific Platform Program. Tokyo, Japan, 2012.12.4.
6. Nojima Y, Tabunoki H, Satoh J: Isolation and characterization of SOD1 and SOD2 in silkworm *Bombyx mori*. The JSPS 3rd

Medicinal Chemistry Seminar of Asia/Africa Scientific Platform Program. Tokyo, Japan, 2012.12.4.

7. Kawana N, Tabunoki H, Nojima Y, Satoh J: Identification of a key uric acid synthesis regulator in a novel silkworm *Bombyx mori* model of Parkinson's disease. The JSPS 3rd Medicinal Chemistry Seminar of Asia/Africa Scientific Platform Program. Tokyo 2012.12.4.

国内学会

1. 佐藤準一、島村悦光、野島陽水、天竺桂弘子:TDP-43 標的遺伝子と結合タンパクの分子ネットワーク解析. 日本薬学会第132年会. 札幌、2012.3.29.
2. 野島陽水、伴野豊、天竺桂弘子、佐藤準一:カイコ MnSOD の cDNA クローニングと発現解析. 日本薬学会第132年会. 札幌、2012.3.30.
3. 島村悦光、佐藤準一、天竺桂弘子:那須ハコラ病モデル系 DAPI12 ノックダウンヒト単球の遺伝子発現プロファイル解析. 日本薬学会第132年会. 札幌、2012.3.30
4. 佐藤準一:Reanalysis of ChIP-seq data of vitamin D receptor-binding sites by using GenomeJack. NGS 現場の会. 第2回研究会. 大阪、2012.5.24.
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3報. 第53回日本神経学会総会. 東京、2012.5.25.
6. 野島陽水、天竺桂弘子、佐藤準一:カイコ MnSOD の cDNA のクローニングと発現解析. 第53回日本神経学会総会. 東京、2012.5.25.
7. 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:那須ハコラ病脳の神経細胞におけるリン酸化 syk の発現増強. 第53回日本神経病理学会総会. 新潟、2012.6.30.
8. 佐藤準一、野島陽水、島村悦光、川名夏生、天竺桂弘子:次世代シーケンサー ChIP-seq データを用いた VDR 結合部位の網羅的解析. 第24回日本神経免疫学会学術集会 軽井沢、2012.9.21.
9. Satoh J, Tabunoki H: Molecular network of ChIP-Seq-based vitamin D receptor target genes supports a protective role of vitamin D in development of multiple sclerosis. 生命医薬情報学連合大会. 東京、2012.10.16.
10. 野島陽水、天竺桂弘子、伴野豊、佐藤準一: カイコ SOD1, SOD2 の cDNA クローニ

ングと組織分布の解析. 第85回日本生化学会大会. 福岡、2012.12.16.

11. 川名夏生、天竺桂弘子、嶋田透、伴野豊、坊農秀雅、佐藤準一: カイコ尿酸代謝におけるDJ-1の役割. 第85回日本生化学会大会. 福岡、2012.12.16.

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

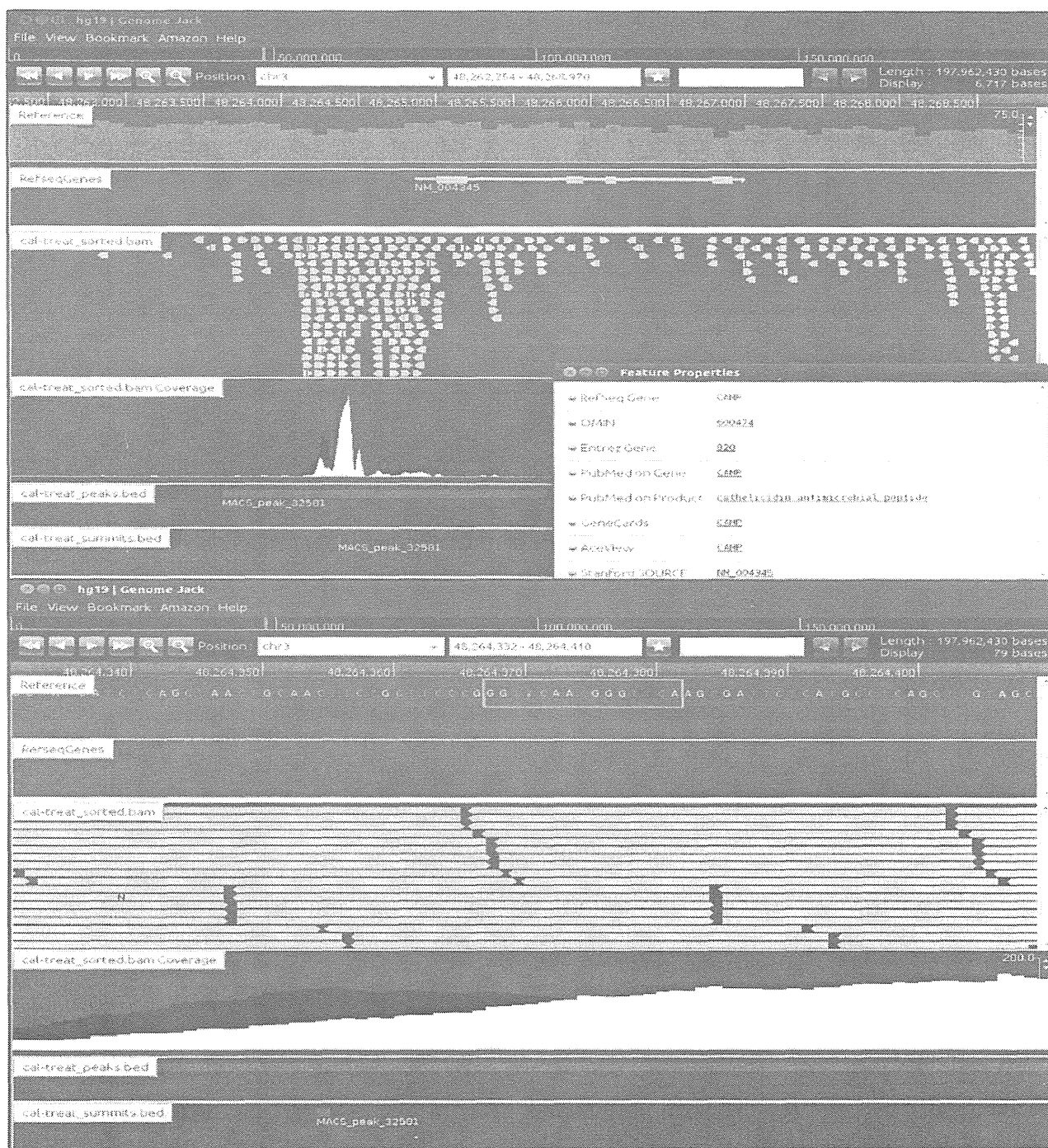


図 1. GenomeJack 解析.

ChIP-SeqNGS データに関して、Bowtie 0.12.7 を用いて hg19 にマッピング、MACS を用いて peak, summit を stringent conditions (fold enrichment ≥ 20 , FDR $\leq 1\%$) で検出、GenomeJack(三菱スペースソフト)用いて、genome 上の位置を同定した。CAMP の解析例を示す。

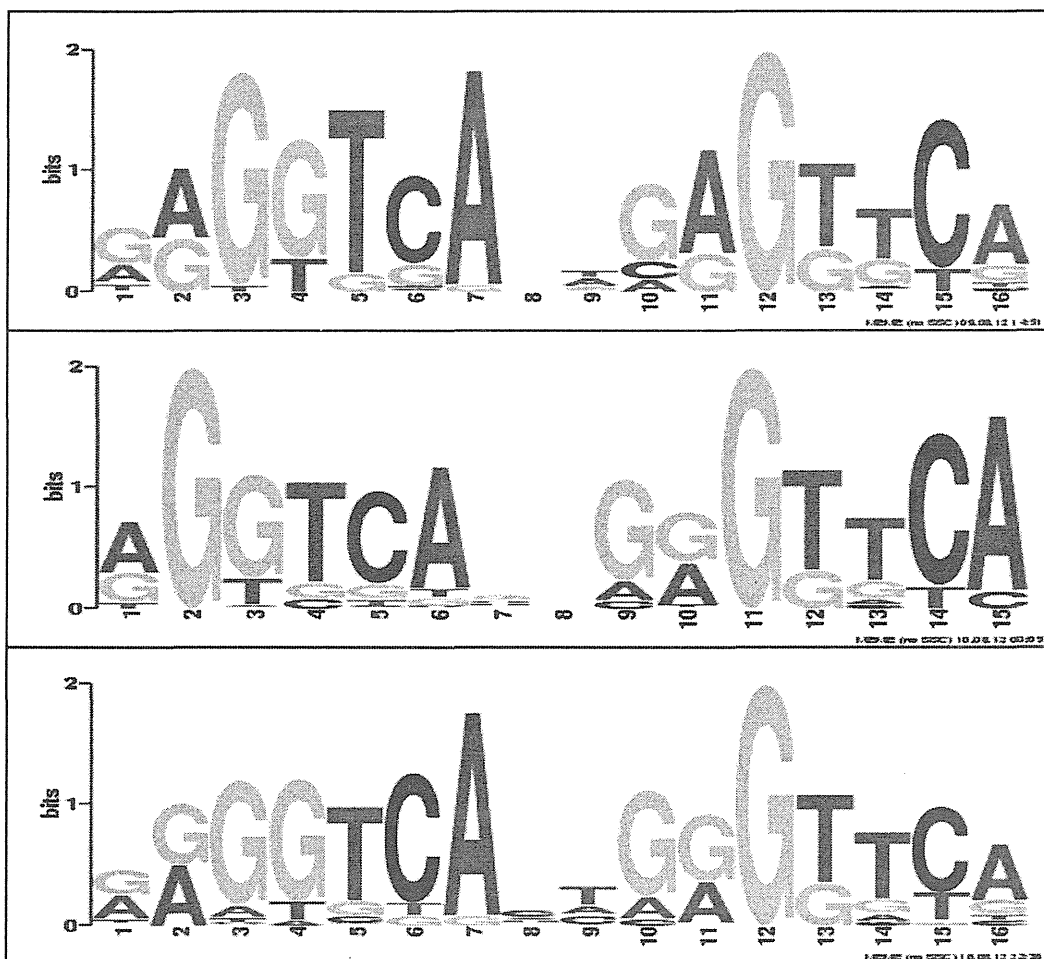


図 2. Meme-ChIP 解析.

Calcitriol 刺激後の全サンプルにおいて、fold enrichment top 50 VDRTG では、VDRE consensus sequence である hexameric (G/A)G(G/T)TCA repeat with 3 intervening base pairs (DR3)モチーフを同定出来た。(上段) GM10855 B cells, (中段) GM10861 B cells, (下段) THP-1 monocytes.

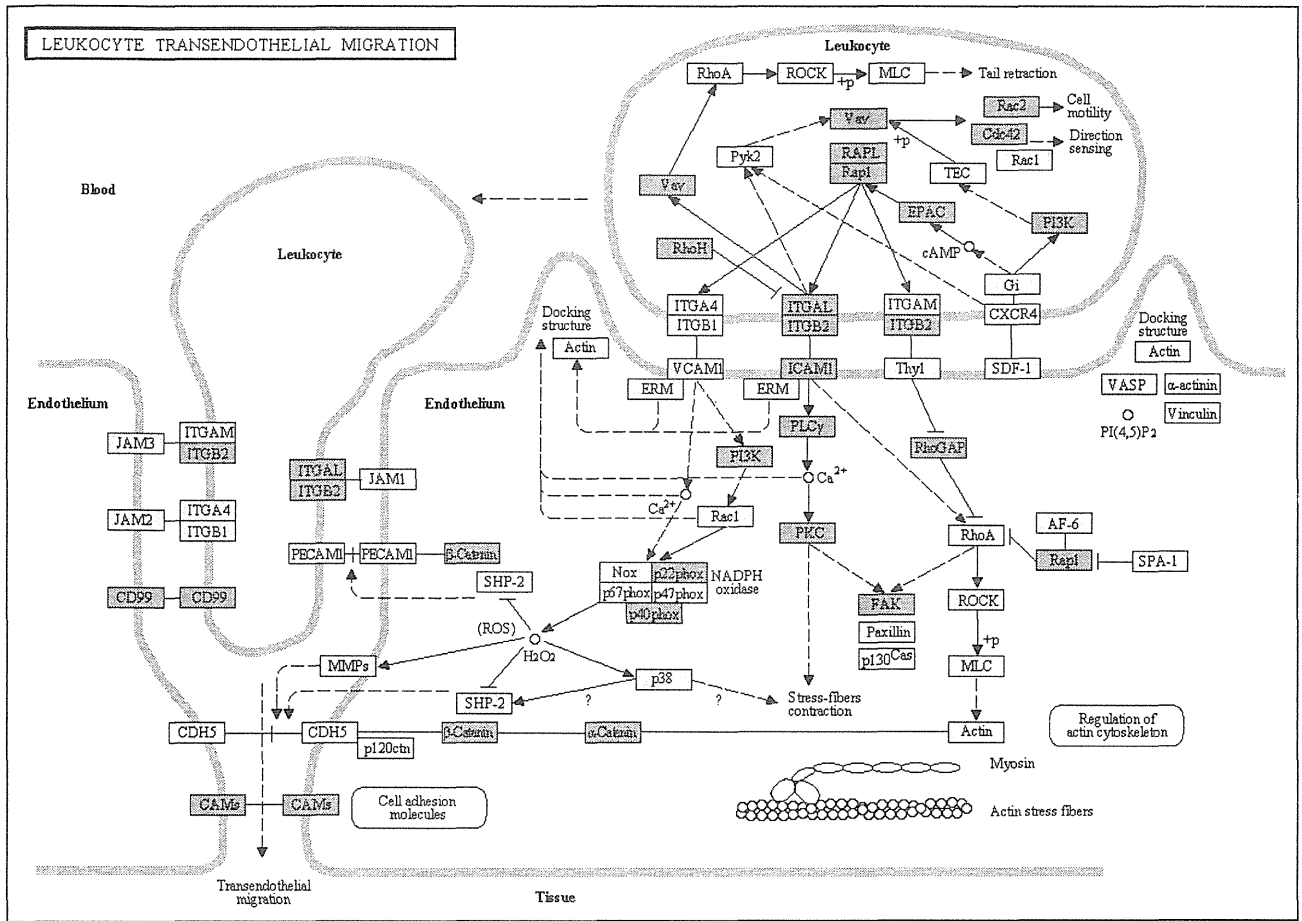


図 3. VDRTGs の KEGG 分子ネットワーク.

1543 treatment-responsive VDRTGs を抽出し、分子ネットワークを KEGG で解析し、leukocyte transendothelial migration (hsa04670; $p = 1.17E-04$) との関連性を認めた。

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24年度)

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	Shinji Oki, Benjamin JE Raveney, Yoshimitsu Doi, Takashi Yamamura	Versatile Orphan Nuclear Receptor NR4A2 as a Promising Molecular Target for Multiple Sclerosis and Other Autoimmune Diseases	Masakatsu Shibasaki, Masamitsu Iino, Hiroyuki Osada	Springer	2013
			Chembiomolecular Science - At the Frontier of Chemistry and Biology-	Tokyo	193-200

研究成果の刊行に関する一覧表(平成24年度)

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	Toba, T., K. Murata, J. Futamura, K. Nakanishi, B. Takahashi, N. Takemoto, M. Tomino, T. Nakatsuka, S. Imajo, M. Goto, T. Yamamura, S. Miyake, and H. Annoura.	Synthesis and biological evaluation of truncated α -galactosylceramide derivatives focusing on cytokine induction profile.	Bioorganic & Med Chem	20	2850-2859	2012
2	Araki, M., T. Aranami, T. Matsuoka, M. Nakamura, S. Miyake, and T. Yamamura	Clinical improvement in a patient with neuromyelitis optica following therapy with anti-I-6 receptor monoclonal antibody tocilizumab.	Mod Rheum	epub ahead of print		
3	Kawazoe, T., M. Araki, Y. Lin, M. Ogawa, T. Okamoto, T. Yamamura, M. Wakakura, and M. Murata	New-Onset Type 1 Diabetes Mellitus and Anti-Aquaporin-4 Antibody Positive Optic Neuritis Associated with Type 1 Interferon Therapy for Chronic Hepatitis C.	Internal Medicine	51	2625-2629	2012
4	Sato, W., A. Tomita, D. Ichikawa, Y. Lin, H. Kishida, S. Miyake, M. Ogawa, T. Okamoto, M. Murata, Y. Kuroiwa, T. Aranami, and T. Yamamura	CCR2+CCR5+ T cells produce matrix metalloproteinase-9 and osteopontin in the pathogenesis of multiple sclerosis.	J. Immunol.	189	5057-5065	2012
5	Ayzeberg, I., I. Kleiter, A. Schroder, K. Hellwig, A. Chan, T. Yamamura, and R. Gold	Interleukin 6 receptor blockade in patients with neuromyelitis optica nonresponsive to anti-CD20 therapy.	JAMA Neurol	online first doi:10:1001/jamaneurol. 2013.1246.		
6	Raveney Ben JE, Shinji Oki, Takashi Yamamura	Nuclear receptor NR4A2 orchestrates Th17 cell-mediated autoimmune inflammation via IL-21 signaling.	PLoS ONE	published 21 Feb 2013, 10.1371/journal.pone. 0056595		
7	Ota M, Sato N, Matsuo J, Kinoshita Y, Kawamoto Y, Hori H, Teraishi T, Sasayama D, Hattori K, Obu S, Nakata Y, Kunugi H	Multimodal image analysis of sensorimotor gating in healthy women.	Brain Res	1499	61-68	2013
8	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	38 (2)	132-141	2012
9	Satoh J.	Molecular network of microRNA targets in Alzheimer's disease brains.	Experimental Neurology	235 (2)	436-446	2012

研究成果の刊行物・別刷

Versatile Orphan Nuclear Receptor NR4A2 as a Promising Molecular Target for Multiple Sclerosis and Other Autoimmune Diseases

Shinji Oki, Benjamin J.E. Raveney, Yoshimitsu Doi,
and Takashi Yamamura

Abbreviations

AF2	Activation-function 2
CNS	Central nervous system
DBD	DNA-binding domain
EAE	Experimental autoimmune encephalomyelitis
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LBD	Ligand-binding domain
MBP	Myelin basic protein
MHC	Major histocompatibility complex
MOG	Myelin oligodendrocyte glycoprotein
MS	Multiple sclerosis
NBRE	NGFI-B response element
NurRE	Nur-responsive element
PLP	Proteolipid protein
RXR	Retinoid X receptor
siRNA	Small interfering RNA

S. Oki • B.J.E. Raveney • Y. Doi • T. Yamamura (✉)

Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology
and Psychiatry, 4-1-1 Ogawahigashi, Kodaira, Tokyo 187-8502, Japan
e-mail: yamamura@ncnp.go.jp

M. Shibasaki et al. (eds.), *Chembiomolecular Science: At the Frontier
of Chemistry and Biology*, DOI 10.1007/978-4-431-54038-0_19, © Springer Japan 2013

193