

[0022]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2007年

<https://doi.org/10.15017/10326>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 22, 2008-05. 九州大学生体防御医学研究所
バージョン :
権利関係 :



個 体 機 能 制 御 学 部 門

Department of Immunobiology and Neuroscience

免疫遺伝学分野

Division of Immunogenetics

免疫系は「自己」と「非自己」を識別し、非自己成分（微生物，変異タンパク質）をすみやかに生体より排除し，その恒常性を維持するために構築されたシステムである．免疫系が真に生体にとって有益な監視システムとして機能するには，免疫系独自に進化した細胞高次機能の存在が不可欠である．例えば，外来異物やアポトーシス細胞の貪食，リンパ球やマクロファージの遊走，抗原認識といった細胞高次機能は免疫監視機構の根幹をなすものであり，それらはいずれも細胞骨格の再構築により巧妙に制御されている．私達はこれまでにリンパ球特異的に発現する細胞骨格制御分子 DOCK2 を同定し，この分子がリンパ球の遊走や活性化において極めて重要な役割を演じることを明らかにした．本分野では，DOCK2 及びその関連分子を中心に，各種受容体刺激から細胞骨格再構築に至るシグナル伝達を解明し，免疫系の発生，分化，構築や機能発現における各シグナル伝達系の意義を明らかにすると共に，その理解に立脚して，自己免疫疾患，移植片拒絶など現代医学が抱える難治性疾患の新しい治療法，予防法を開発することを目標とし，研究を進めている．

これまで研究室を支えてくれた秘書の藤井紀子は結婚のため退職し，後任として矢野和代が新たに研究室に参加した．

A. CDM ファミリー分子を介したシグナル伝達機構の解明とその機能解析

突然変異体を用いた遺伝学的解析より，*Caenorhabditis elegans*（線虫）において生殖巣の形成に重要な遠端細胞（distal tip cell）の移動に関与するいくつかの分子が同定されている．CED-5 もその1つであり，ヒトにおける DOCK180 および *Drosophila melanogaster*（ショウジョウバエ）における Myoblast City（MBC）と相同性を示すことより，これらの分子は現在その頭文字をとって CDM ファミリー分子とよばれている．これら CDM ファミリー分子はいずれも Rac の上流で機能することで細胞骨格の再構築に関与すると考えられており，細胞運動以外にも CED-5 はアポトーシス細胞の貪食，MBC は筋芽細胞の融合といった種々の細胞機能制御に関与することが知られている．私達は，マウス胸腺 cDNA ライブラリーよりこの CDM ファミリーに属する新しい遺伝子として *DOCK2* を単離し，ノックアウトマウスを作製することで，この分子が Rac 活性化を介してリンパ球の遊走および免疫シナプス形成を制御することを明らかにすると同時に（Nature 412:826-831, 2001: Immunity

19:119-129, 2003; Immunity 21: 429-441, 2004), その欠損によりアロ移植心臓の長期生着が可能になることを実証した (J. Exp. Med. 22:1121-1130, 2005). また, DOCK2 が好中球の遊走や活性酸素産生においても重要な役割を演じることを実証すると共に, DOCK2-GFP 融合タンパク質を発現するノックインマウスを作製することで, DOCK2 が PI3K 依存性に細胞膜に移行することを示し, Rac と PIP3 を介したポジティブフィードバック制御に関する新しいモデルを提唱した (J. Cell Biol. 174:647-652, 2006). このような知見をふまえ, 本年度は以下のような研究を行った.

a. ヘルパーT細胞分化における DOCK2 の役割

抗原刺激に伴い, ナイーブ CD4⁺ T 細胞は異なるサイトカインを分泌する, 機能的にも異なった T 細胞サブセットに分化する. Th2 細胞はインターロイキン 4 (IL-4) を分泌することで, 移植片の拒絶や自己免疫疾患の発症を抑制することができるが, Th2 への過度な偏りはアレルギー疾患の発症につながるということが知られている. Th2 細胞への分化には IL-4 受容体を介したシグナルが重要である. IL-4 受容体は α 鎖 (IL-4R α) と common γ 鎖からなるヘテロダイマーで, ナイーブ CD4⁺ T 細胞上に発現している. IL-4 が IL-4 受容体に結合すると STAT6 が活性化され, その結果 GATA3 を誘導し, IL-4 遺伝子の転写を活性化する. 一方, ナイーブ CD4⁺ T 細胞が TCR を介して抗原を認識すると STAT6 非依存的に IL-4 が産生される. それ故, Th2 への過度な偏りを防ぐため, TCR を介したシグナルと IL-4 受容体のシグナルとの間に何らかのクロストークが存在すると考えられていたが, その実体は謎であった.

私達は, DOCK2 欠損ナイーブ CD4⁺ T 細胞が, 抗原刺激に伴い大量の IL-4 を分泌し, ある系統のマウスにおいてアレルギー疾患を自然発症することを見いだした. 野生型の CD4⁺ T 細胞を抗 CD3 抗体で刺激すると, IL-4R α の細胞表面での発現は一過性に上昇し, その後数時間で元のレベルに戻った. しかしながら, DOCK2 欠損 CD4⁺ T 細胞では, このダウンレギュレーションが障害されており, その結果, 受容体を介したシグナルが亢進, 遷延化していた. このメカニズムを解明すべく詳細な解析を行い, DOCK2 が Rac の活性化を介して, IL-4R α のリソソームへの輸送を制御していることを突き止めた. 阻害剤等を用いた実験より, この輸送には微小管とよばれる細胞骨格成分が関与していると考えられた. すなわち, TCR の下流で DOCK2-Rac シグナルが作動すると, IL-4R α の細胞内輸送を介して, その発現をコントロールし, 過剰な IL-4 シグナルが T 細胞に伝わるのを未然に防ぐという, 極めて

精緻な制御機構が存在することを明らかにした。

b. DOCK2 による樹状細胞遊走の制御機構

樹状細胞は、感染に伴い速やかに移動し、病原微生物を貪食し、T 細胞に抗原を提示する一方、Toll-like 受容体を介して病原微生物を認識し、サイトカインを分泌することで獲得免疫応答を制御している。樹状細胞はその形態や機能、細胞表面マーカーの違いから骨髄系樹状細胞 (mDC) と形質細胞様樹状細胞 (pDC) に大別される。pDC はウイルス感染に伴い大量の I 型インターフェロンを産生することから注目を集めている細胞であるが、その遊走制御機構は不明であった。

私達は DOCK2 欠損マウスにおいて pDC の分化・成熟は正常であるにも関わらず、2 次リンパ組織において pDC が著減することを見いだした。DOCK2 欠損 pDC では Rac 活性化が著しく障害されており、その結果いずれのケモカインに対してもほとんど遊走応答を示さなかった。これに対して、DOCK2 欠損は mDC における Rac 活性化や遊走応答にはほとんど影響を与えなかった。以上より、mDC と pDC の遊走において異なる分子が Rac 活性化を担っていることを明らかにした。

c. DOCK2 によるリンパ球遊走の制御機構

T 細胞は血行性にリンパ節に侵入し、ここで種々の組織から集められた抗原をサーチした後、輸出リンパ管を通過してリンパ節から出て行く。前述したように、私達はこれまでに DOCK2 が T 細胞のリンパ節への移入に必須の分子であることを明らかにしてきたが、T 細胞のリンパ節内での運動やリンパ節からの移出における DOCK2 の役割は不明であった。この点を明らかにすべく、生体内視鏡と多光子共焦点レーザー顕微鏡を組み合わせ、生きたマウスのリンパ節における DOCK2 欠損 T 細胞の挙動を野生型 T 細胞と比較し、DOCK2 が T 細胞のリンパ節内での運動に不可欠であると共に、スフィンゴシン 1 リン酸受容体の下流で機能し、リンパ節からの移出をも制御することを明らかにした。

d. DOCK2 シグナル伝達機構の解明

我々はこれまでに DOCK2 の N 端 502 アミノ酸残基が ELM01 との会合することが、Rac 活性化に重要であることを明らかにしているが (Blood 102:2948-2950, 2003)、DOCK2 は 1822 アミノ酸残基からなる大きな分子であり、ELM01 以外にも多くの分子と会合し細胞骨格を

制御していることが予想される。そこで、DOCK2 シグナル伝達の全貌を明らかにする目的で yeast two hybrid, プロテオミクスを用いたスクリーニングを行い、未知及び既知の分子を含め数種類の DOCK2 会合分子を同定し、現在その機能解析を進めている。

e. DOCK2 を標的とした創薬研究

DOCK2 はリンパ球の遊走や活性化に不可欠な分子であり、その欠損により移植片拒絶や自己免疫疾患発症がブロックされることから、これら免疫難病を治療・予防する上で格好の分子標的になると期待される。このため私達は DOCK2 機能ドメインと会合分子の複合体の構造解析をスタートすると共に、この相互作用を特異的に阻害する低分子化合物のスクリーニングを行っている。

f. 新規 DOCK ファミリー分子の同定と機能解析

Rac 以外にも多くの低分子量 G 蛋白質が細胞骨格の再構築に関与し、細胞機能を制御している。今回、免疫系に発現し、Rac 以外の低分子量 G 蛋白質の活性化を制御すると考えられる新規 DOCK ファミリー分子を数種類クローニングし、その生理的機能をノックアウトマウスを用いて解析している。

業績目録

原著論文

1. Gotoh K, Tanaka Y, Nishikimi A, Inayoshi A, Enjoji M, Takayanagi R, Sasazuki T, Fukui Y. 2008.
Differential requirement for DOCK2 in migration of plasmacytoid dendritic cells versus myeloid dendritic cells.
Blood. 111, 2973-2976.
2. Kikuchi T, Kubonishi S, Shibakura M, Namba N, Matsui T, Fukui Y, Tanimoto M, Katayama Y. 2008.
Dock2 participates in bone marrow lympho-hematopoiesis.
Biochem Biophys Res Commun. 367, 90-6.
3. Tanaka Y, Hamano S, Gotoh K, Murata Y, Kunisaki Y, Nishikimi A, Takii R, Kawaguchi M, Inayoshi A, Masuko S, Himeno K, Sasazuki T, Fukui Y. 2007.
T helper type 2 differentiation and intracellular trafficking of the interleukin 4 receptor- α subunit controlled by the Rac activator Dock2.

- Nature Immunol., 8, 1067-1075.
4. Handa Y, Suzuki M, Ohya K, Iwai H, Ishijima N, Koleske AJ, Fukui Y, Sasakawa C. 2007.
Shignella IpgB1 promotes bacterial entry through the ELMO-Dock180 machinery.
Nature Cell Biol., 9, 121-128.
 5. Nombela-Arrieta C, Mempel TR, Soriano SF, Mazo I, Wymann MP, Hirsch E, Martínez-A C, Fukui Y, von Andrian UH, Stein JV. 2007.
A central role for DOCK2 during interstitial lymphocyte motility and sphingosine-1-phosphate-mediated egress.
J. Exp. Med., 204, 497-510.
 6. Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Kohjima M, Aishima S, Nakamuta M, Fukui Y, Takayanagi R, Enjoji M. 2007.
Methylprednisolone injection via the portal vein suppresses inflammation in acute liver failure induced in rats by lipopolysaccharide and d-galactosamine.
Liver Int. 27, 1342-1348.
 7. Bécart S, Charvet C, Canonigo A.J, de Trez C, Tanaka Y, Duan W, Ware C, Croft M, Altman A. 2007.
SLAT regulates Th1 and Th2 lung inflammatory responses by controlling Ca²⁺/NFAT signaling.
J. Clin. Invest., 117, 2164-2175.
 8. Suzuki KGN, Fujiwara TK, Sanematsu F, Iino R, Edidin M, Kusumi A. 2007.
GPI-anchored receptor clusters transiently recruit Lyn and Ga for temporary cluster immobilization and Lyn activation: single-molecule tracking study 1.
J. Cell Biol. 177, 717-730.

著書

1. 福井宣規. 2007.
抗原提示細胞.
戸田新細菌学 (吉田眞一, 柳 雄介, 吉開泰信編), 390-399.
南山堂, 東京.
2. 福井宣規. 2007.
T細胞による抗原の認識.

エッセンシャル免疫学 (笹月健彦監訳), 67-96.

メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京.

学会発表

1. 福井宣規 (2008, 2/19).
免疫系細胞高次機能を司る DOCK2 シグナルネットワーク.
第4回ゲノムネットワークプロジェクト公開シンポジウム, 東京.
2. 福井宣規 (2007, 11/30).
免疫系細胞高次機能を司る CDM ファミリー分子 DOCK2.
第18回フォーラム・イン・ドージン, 熊本.
3. Tanaka Y, Fukui Y (2007, 11/27-11/29).
Dock2-Rac signaling pathway controls lineage commitment of CD4⁺T cells via intracellular trafficking of the interleukin 4 receptor- α subunit.
International Symposium on Membrane Traffic, 淡路.
4. 田中芳彦, 錦見昭彦, 後藤和人, 川口真喜子, 稲吉あゆみ, 福井宣規 (2007, 11/20-11/22).
IL-4 受容体のメンブレントラフィックを介した DOCK2-Rac シグナルによる CD4⁺T 細胞 lineage commitment 制御機構の解明.
第37回日本免疫学会総会, 東京.
5. 川口真喜子, 錦見昭彦, 田中芳彦, 福井宣規 (2007, 11/20-11/22).
B 細胞分化・増殖における DOCK2 の機能.
第37回日本免疫学会総会, 東京.
6. Tanaka Y, Fukui Y (2007, 9/1-9/5).
DOCK2 links TCR signals to IL-4 receptor downregulation to control lineage commitment of CD4⁺ T cells.
The AWAJI International Forum on Infection and Immunity, 淡路.

免疫制御学分野

Division of Molecular and Cellular Immunology

動向

平成19年度は高木（有木）宏美、愈慶声が博士号を、吉田秀行が修士号を取得した。また遅れていた18年度卒業の山内盛泰、田中謙太郎も無事学位審査を終了した。平成19年10月に吉村武がHarvard Medical Schoolへ平成20年1月松村友美子がUniversity of Marylandへ留学に旅立った。西中村瞳は平成19年10月に福岡大学医学部に研究員として赴任した。高木は北海道大学にてポスドクとして勤務することとなった。

本年度は特筆すべき研究成果としてSOCS1によるTh17分化制御とSpredがヒト遺伝性疾患として同定された研究を中心に報告する。

A. SOCS1によるTh17分化の制御

免疫反応や炎症反応は主に微生物等の異物の侵入や感染によって惹起され、これらの排除が終了すれば通常は終息に向かう。このような免疫系ホメオスタシスの維持には免疫の中核とよばれるヘルパーT細胞が主要な役割を果たしている。ヘルパーT細胞には、正の応答を起こすエフェクターT細胞と、積極的に負の応答を促す抑制性T細胞が存在し、これらの分化および増幅はサイトカインの刺激により厳密に制御される。エフェクターT細胞としてTh1およびTh2細胞がまた制御性T細胞として胸腺由来のnTregが古くから知られていたが、近年、新たなエフェクターT細胞としてTh17細胞が発見され、自己免疫疾患、細菌感染、腫瘍促進に重要であることが明らかになった。さらに胸腺由来のFoxP3陽性Treg(nTreg)の他に、末梢でTGF β 存在下に未感作T細胞(ナイーブT細胞)が抗原刺激を受けるとFoxp3陽性のinducible Treg(iTreg)に分化することが見いだされた。

Th17はIL-17を産生し、Th1とTh2とは明確に異なる細胞集団である。ナイーブT細胞よりTh17への分化はIL-6とTGF- β により導かれる。加えて、IL-23やIL-21もTh17細胞の成熟やその分化状態の維持に必須のサイトカインと考えられている。IL-6、IL-21、IL-23の全てがSTAT3を活性化し、STAT3はTh17分化に必須の転写因子と考えられている。またIL-6とTGF β はorphan核内受容体であるROR γ tの誘導に必須であることが報告されており、ROR γ tはSTAT4にとってのT-bet、STAT6にとってのGATA3と同様に、

STAT3 の標的遺伝子であると考えられる。しかしながら TGF- β の Th17 における本来の役割は明らかではない。

Th17 分化において STAT3 が促進的な役割を担っているのに対して、STAT1 と STAT4 は Th17 の初期分化段階において負の役割を担っていると考えられている。IFN- γ と IL-27 により活性化された STAT1 は Th17 分化を抑制する。Suppressor of cytokine signaling (SOCS) と cytokine-inducible-SH2 protein (CIS) は細胞内タンパクのファミリーであり、各種サイトカインから JAK-STAT シグナルへの負の制御に関与する。SOCS1 は IFN- γ や IL-4 の刺激により起こされるシグナルに対して抑制をかけることができると考えられる。一方、SOCS3 は主として IL-6、G-CSF などにより活性化される STAT3 の制御にかかわっている。われわれは SOCS3 の T 細胞特異的欠損マウスでは Th1 と Th2 反応が低下しており、SOCS3 欠損 CD4 陽性 T 細胞が TGF- β を高産生することを明らかにしてきた (Kinjyo et al. J. Exp. Med. 2006)。さらに STAT3 は SOCS3 欠損 T 細胞において、IL-23 や IL-6 + TGF- β の刺激により過剰に活性化され、SOCS3 欠損 T 細胞は Th17 分化が亢進している (Chen et al. ProNAS 2006)。このように SOCS3 は Th17 において、STAT3 を負に制御することにより抑制的な役割を担っている。

今回、SOCS1 の Th17 分化への役割を明らかにするために、我々は T 細胞特異的 SOCS1 欠損マウス (cKO) を作成した。T 細胞特異的に *SOCS1* 遺伝子を欠損させるために、まず最初に *SOCS1*-flox/flox 遺伝子のアリルがホモとなったマウスを作成した。得られた *SOCS1*-flox/flox (*SOCS1*^{flox/flox}) マウスを p56 Lck-Cre トランスジェニックマウス と交配させ、その結果生まれる *SOCS1*^{flox/flox}:Lck-Cre トランスジェニックマウスを *SOCS1* コンディショナルノックアウト (cKO) と名づけた。*SOCS1* の欠損遺伝子は T 細胞特異的であり、B 細胞、樹状細胞や他の主要な組織において、cKO で *SOCS1* の欠損は認めなかった。これらのマウスは Th17 依存性の自己免疫疾患モデルである実験性自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) にきわめて抵抗性であった。

次に *in vitro* でヘルパー T 細胞の分化を測定した。*SOCS1* 欠損 (*SOCS1*^{del/del}) CD4 陽性 T 細胞は主として Th1 へと分化し、Th17 への分化はわずかであった。*SOCS1*^{-/-} IFN γ ^{-/-} T 細胞は正常に Th17 に分化することから、この表現型は主として IFN- γ に依存していることが明らかとなった。そこで IFN γ によって誘導される因子が IL-6 のシグナルを抑制している可能性を考えた。*SOCS1* 欠損 T 細胞では STAT3 の活性化が減弱し、SOCS3 の強い誘導が認められた。IFN γ 欠損 T 細胞では SOCS3 の誘導は認められず STAT3 の活性化も強かった。さらに SOCS3 を強制発現する T 細胞では Th17 分化が抑制され EAE の発症も軽微であった。以上の結果から STAT1 により強く誘導される SOCS3 が、Th17 分化

が低下するメカニズムのひとつであると結論づけた。

しかしながら SOCS3 の誘導のみでは Th17 分化の抑制は十分説明できない。我々はもう一方の TGF β -Smad シグナルが SOCS1 欠損 T 細胞では障害されている可能性を検証した。TGF β は T 細胞からの IFN γ 産生を抑制することはよく知られている。しかし SOCS1 欠損 T 細胞では TGF β による IFN γ 産生の抑制効果が減弱していた。また ROR γ t は TGF β によって濃度依存性に誘導されるが、SOCS1 欠損 T 細胞では TGF β による ROR γ t の誘導が障害されていた。やはり IFN γ を欠損させることで ROR γ t の誘導は正常に戻った。以上の結果は SOCS1 が欠損することで IFN γ による TGF β -Smad のシグナル抑制効果が強力に現れ、SOCS1 欠損 T 細胞において TGF β シグナルが抑制されていることを示している。

このような IFN γ による Smad の抑制は T 細胞のみならず繊維芽細胞 (MEF) でも認められた。繊維芽細胞は IFN γ を産生しないのでより明確に解析が可能である。正常 MEF では TGF β による Smad 転写活性は IFN γ 添加によって 50%程度に抑制されたが、SOCS1 欠損 MEF では 90%以上の抑制効果がみられた。したがって MEF でも IFN γ は TGF β -Smad を抑制すること、SOCS1 がこの過程を抑制することが確認された。次に STAT1 欠損 MEF を用いたところ IFN γ による Smad の抑制は認められなかった。すなわち STAT1 が Smad 抑制に必要である。SOCS1 の過剰発現は STAT1 の活性化を抑制するために同様に Smad 抑制はみられなくなる。しかし SOCS3 の過剰発現は Smad 抑制に影響を与えなかった。すなわち SOCS3 は IFN γ -STAT1 による Smad 抑制には寄与しない。

以上の結果より SOCS1 は IFN γ -STAT1 経路を適切に抑制し、IL-6-STAT3 経路および TGF β -Smad 経路が正常に進行するために必要であることが明らかとなった。また IFN γ -STAT1 は SOCS3 の誘導を介して IL-6-STAT3 経路を抑制すること、TGF β -Smad 経路の抑制には未知のメカニズムが存在することが明らかとなった。

B. *SPRED1*はNCFC症候群の新たな原因遺伝子である

MAP kinase ファミリーの一つ、ERK (Extracellular stimulus-activated kinase) は、様々な細胞反応を制御する重要な役割を果たしており、ほとんどのあらゆる細胞外刺激により活性化を受ける。基本的には活性化された Ras が Raf (Raf1 および B-Raf) を、Raf が MEK (MEK1, MEK2) を、MEK が ERK をリン酸化して活性化する。Ras は GEF (GDP/GTP exchange factor) のひとつである SOS (son of sevenless) によって活性化 (GTP 型に変換) され、逆に RasGAP (GTPase activating protein) によって不活性化 (GDP 型に変換)

される。RasGAPは何種類か知られているが、神経線維腫症1型(Neurofibromatosis Type 1; NF1)の原因タンパク質であるneurofibrominもそのひとつで、この経路の負の制御因子である。'neuro-cardio-facial-cutaneous'(NCFC)症候群とは2006年にB. Neelらによって提唱されたRas-Raf-ERK経路の異常によって起こる表現型が重複する先天性遺伝性疾患の総称である。NCFC症候群にはNF1、ヌーナン(N Noonan)症候群、LEOPARD症候群、Costello症候群、Cardio-facio-cutaneous(CFC)症候群が含まれる。すべて常染色体優性遺伝形質を示す疾患で、現在わかっているこの症候群の原因遺伝子はすべてRas-Raf-ERK経路の分子(SOS, SHP2, Ras, B-Raf, Raf1, MEKなどの機能獲得型変異)もしくはその負の制御因子(neurofibromin(NFI))である。

Sprouty/Spredファミリーはショウジョウバエから哺乳類まで保存されたERKシグナルの負の調節因子である。Sproutyはショウジョウバエの遺伝学的解析によりFGFシグナルを負に調節する分子として1998年に同定された。Spred(Sprouty-related EVH-1 domain containing protein)は我々が2001年にチロシンキナーゼ型の受容体であるc-kit(SCF受容体)に会合するSproutyに似た分子として発見し、Ras/ERK経路の抑制因子として報告した遺伝子である。哺乳類ではSproutyは4種類、Spredは3種類のホモログが報告されている。我々はこれまでSprouty2, Sprouty4, Spred1, Spred2の欠損マウスの作製を行い、解析を行ってきた。Spred1欠損マウスの解析から、Spred1が生理的にSCFやIL-3, IL-5のシグナルを抑制し、造血系を負に制御することを明らかにした。またSpred1/Spred2両欠損マウスではVEGF-Cシグナルの異常によりリンパ管発生異常のために胎仔期に死亡する。Sprouty/Spredファミリーは発現部位に依存してERK経路を精密に制御していることが明らかになりつつある。しかしヒト疾患との関係はこれまで不明であった。

今回、我々はベルギー、フランス、アメリカとの国際共同研究において、カフェオレ斑を持つが、NFI遺伝子に変異を認めない家族性優性遺伝のNF1様患者での連鎖解析を行った。その結果、5家系について第15番染色体上のSPRED1遺伝子が候補遺伝子として挙がり、実際に変異が複数発見された。ほとんどはナンセンス変異によるC末側欠失変異である。SPRED1に変異を持つ患者は、カフェオレ斑、腋窩の雀卵斑、ヌーナン症候群様顔貌(眼間開離・眼瞼下垂)、巨頭症、注意欠陥障害・学習障害を示した。

見つかった変異型SPRED1が機能喪失型であるかどうかを検討するために、野生型SPRED1(WT)と変異型SPRED1(in-frame deletion(I81_V85del), frameshift(M266fsX4), およびnonsense(R325X))を用いて、生化学的な機能解析を行った。293T細胞においてin vitro Raf1キナーゼアッセイ、Elkレポーターアッセイを行ったところ、I81_V85del,

M266fsX4, R325X 変異体はFGFおよびEGFによるERK経路の活性化を全く抑制できなかった。またM266fsX4, R325X 変異体には野生型と同レベルの発現ではドミナントネガティブ効果はみられなかった。すなわちこれらの変異はすべて単純な機能欠失であってヒトではSPRED1の発現量が半分に低下するだけでNF1様の症状を起こすことになる。また孤発例で見つかったS149N変異では、ERK活性化の抑制効果は野生型と変わらなかった。SPRED1のSer149はマウスやラットで保存されており、S149N変異は単なる多型であり病因ではない可能性もあるが、点変異の解析は今後の課題である。

Spred1 ホモ欠損マウスでも顔面の変形、低成長、メラニン色素の異常蓄積などが認められ、ヒトでの *SPRED1* 変異による症状をよく再現している。*Spred1* ホモ欠損マウスの学習能力は低いことも示唆されている（未発表データ）。また *NF1* ヘテロ欠損マウスや変異 SHP2 ノックインマウスと同様に *Spred1* ホモ欠損マウスは骨髄増殖性疾患を呈する。しかし今回の5家系では3例に固形腫瘍がみられるものの白血病は報告されていない。ヒトで見つかった5家系も症状はまちまちであり、同様に *Spred1* ホモ欠損マウスの表現型は遺伝的背景に大きく依存する。このことは *SPRED1* 以外の疾患感受性遺伝子の存在を疑わせる。*Sprouty/Spred* ファミリー遺伝子はいくつかの癌で発現の低下が報告されつつあるが、癌でのこれらの遺伝子の変異は未だ報告されていない。今回 *SPRED1* に家族性の変異が見つかったことで、癌や他の遺伝性疾患においても *Sprouty/Spred* ファミリー遺伝子の変異が見つかる可能性は高いと思われる。

業績目録

原著論文

1. Tanaka K, Ichiyama K, Hashimoto M, Yoshida H, Takimoto T, Takaesu G, Torisu T, Hanada T, Yasukawa H, Fukuyama S, Inoue H, Nakanishi Y, Kobayashi T, Yoshimura A.
Loss of Suppressor of Cytokine Signaling 1 in Helper T Cells Leads to Defective Th17 Differentiation by Enhancing Antagonistic Effects of IFN- γ on STAT3 and Smads.
J Immunol. 2008 Mar 15;180(6):3746-56.
2. Aki D, Minoda Y, Yoshida H, Watanabe S, Yoshida R, Takaesu G, Chinen T, Inaba T, Hikida M, Kurosaki T, Saeki K, Yoshimura A.
Peptidoglycan and lipopolysaccharide activate PLC γ 2, leading to enhanced cytokine production in macrophages and dendritic cells.
Genes Cells. 2008 Feb;13(2):199-208.

3. Zhu BM, Ishida Y, Robinson GW, Pacher-Zavisin M, Yoshimura A, Murphy PM, Hennighausen L.
SOCS3 Negatively Regulates the gp130-STAT3 Pathway in Mouse Skin Wound Healing.
J Invest Dermatol. 2008 Jan 10

4. Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Kimura R, Komano J, Nishi M, Soeda H, Hattori S, Perrem K,
Yamamoto M, Chiba J, Mimaya J, Yoshimura K, Matsushita S, Honda M, Yoshimura A, Sawasaki T,
Aoki I, Morikawa Y, Yamamoto N.
SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1 infection and regulates the intracellular trafficking and
stability of HIV-1 Gag.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Jan 8;105(1):294-9.

5. Yoshimura T, Sonoda KH, Miyazaki Y, Iwakura Y, Ishibashi T, Yoshimura A, Yoshida H.
Differential roles for IFN- γ and IL-17 in experimental autoimmune uveoretinitis.
Int Immunol. 2007 Dec 21

6. Sugiyama N, Nakashima H, Yoshimura T, Sadanaga A, Shimizu S, Masutani K, Igawa T, Akahoshi M,
Miyake K, Takeda A, Yoshimura A, Hamano S, Yoshida H.
Amelioration of human lupus-like phenotypes in MRL/lpr mice by overexpression of IL-27R α
(WSX-1).
Ann Rheum Dis. 2007 Dec 18;

7. Yu Q, Minoda Y, Yoshida R, Yoshida H, Iha H, Kobayashi T, Yoshimura A, Takaesu G.
HTLV-1 Tax-mediated TAK1 activation involves TAB2 adapter protein.
Biochem Biophys Res Commun. 2008 Jan 4;365(1):189-94.

8. Le Y, Zhu BM, Harley B, Park SY, Kobayashi T, Manis JP, Luo HR, Yoshimura A, Hennighausen L,
Silberstein LE.
SOCS3 Protein Developmentally Regulates the Chemokine Receptor CXCR4-FAK Signaling Pathway
during B Lymphopoiesis.
Immunity. 2007 Nov 26;27(5):811-823.

9. Kinjyo I, Ohishi M, Shouda T, Kobayashi T, Yoshimura A.

- Positive and negative roles of IL-6, STAT3, and SOCS3 in inflammatory arthritis.
Adv Exp Med Biol. 2007;602:113-24.
10. Brems H, Chmara M, Sahbatou M, Denayer E, Taniguchi K, Kato R, Somers R, Messiaen L, De Schepper S, Fryns JP, Cools J, Marynen P, Thomas G, Yoshimura A, Legius E.
Germline loss-of-function mutations in SPRED1 cause a neurofibromatosis 1-like phenotype.
Nature Genet. 2007 Sep;39(9):1120-6.
11. Yamauchi M, Hashimoto M, Ichiyama K, Yoshida R, Hanada T, Muta T, Komune S, Kobayashi T, Yoshimura A.
Ifi202, an IFN-inducible candidate gene for lupus susceptibility in NZB/W F1 mice, is a positive regulator for NF-kappaB activation in dendritic cells.
Int Immunol. 2007 Aug;19(8):935-42.
12. Sekine Y, Tsuji S, Ikeda O, Sugiyama K, Oritani K, Shimoda K, Muromoto R, Ohbayashi N, Yoshimura A, Matsuda T.
Signal-transducing adaptor protein-2 regulates integrin-mediated T cell adhesion through protein degradation of focal adhesion kinase.
J Immunol. 2007 Aug 15;179(4):2397-407.
13. Matsumura Y, Kobayashi T, Ichiyama K, Yoshida R, Hashimoto M, Takimoto T, Tanaka K, Chinen T, Shichita T, Wyss-Coray T, Sato K, Yoshimura A.
Selective expansion of foxp3-positive regulatory T cells and immunosuppression by suppressors of cytokine signaling 3-deficient dendritic cells.
J Immunol. 2007 Aug 15;179(4):2170-9.
14. Mori H, Shichita T, Yu Q, Yoshida R, Hashimoto M, Okamoto F, Torisu T, Nakaya M, Kobayashi T, Takaesu G, Yoshimura A.
Suppression of SOCS3 expression in the pancreatic beta-cell leads to resistance to type 1 diabetes.
Biochem Biophys Res Commun. 2007 Aug 10;359(4):952-8.
15. Yoshimura A, Naka T, Kubo M.

- SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation.
Nat Rev Immunol. 2007 Jun;7(6):454-65.
16. Ikeda O, Sekine Y, Kakisaka M, Tsuji S, Muromoto R, Ohbayashi N, Oritani K, Yoshimura A, Matsuda T.
STAP-2 regulates c-Fms/M-CSF receptor signaling in murine macrophage Raw 264.7 cells.
Biochem Biophys Res Commun. 2007 Jul 6;358(3):931-7.
17. Fukuda S, Abematsu M, Mori H, Yanagisawa M, Kagawa T, Nakashima K, Yoshimura A, Taga T.
Potentiation of astroglialogenesis by STAT3-mediated activation of bone morphogenetic protein-Smad signaling in neural stem cells.
Mol Cell Biol. 2007 Jul;27(13):4931-7.
18. Taniguchi K, Kohno R, Ayada T, Kato R, Ichiyama K, Morisada T, Oike Y, Yonemitsu Y, Maehara Y, Yoshimura A.
Springs are essential for embryonic lymphangiogenesis by regulating vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling.
Mol Cell Biol. 2007 Jun;27(12):4541-50.
19. Zhou H, Miki R, Eeva M, Fike FM, Seligson D, Yang L, Yoshimura A, Teitell MA, Jamieson CA, Cacalano NA.
Reciprocal regulation of SOCS 1 and SOCS3 enhances resistance to ionizing radiation in glioblastoma multiforme.
Clin Cancer Res. 2007 Apr 15;13(8):2344-53.
20. Nishinakamura H, Minoda Y, Saeki K, Koga K, Takaesu G, Onodera M, Yoshimura A, Kobayashi T.
An RNA-binding protein alphaCP-1 is involved in the STAT3-mediated suppression of NF-kappaB transcriptional activity.
Int Immunol. 2007 May;19(5):609-19.
21. Sekine Y, Tsuji S, Ikeda O, Kakisaka M, Sugiyama K, Yoshimura A, Matsuda T.

- Leukemia inhibitory factor-induced phosphorylation of STAP-2 on tyrosine-250 is involved in its STAT3-enhancing activity.
Biochem Biophys Res Commun. 2007 May 4;356(2):517-22.
22. Yoshiga D, Sato N, Torisu T, Mori H, Yoshida R, Nakamura S, Takaesu G, Kobayashi T, Yoshimura A.
Adaptor protein SH2-B linking receptor-tyrosine kinase and Akt promotes adipocyte differentiation by regulating peroxisome proliferator-activated receptor gamma messenger ribonucleic acid levels.
Mol Endocrinol. 2007 May;21(5):1120-31.
23. Torisu T, Sato N, Yoshiga D, Kobayashi T, Yoshioka T, Mori H, Iida M, Yoshimura A.
The dual function of hepatic SOCS3 in insulin resistance in vivo.
Genes Cells. 2007 Feb;12(2):143-54.
24. Inoue H, Fukuyama S, Matsumoto K, Kubo M, Yoshimura A.
Role of endogenous inhibitors of cytokine signaling in allergic asthma.
Curr Med Chem. 2007;14(2):181-9.
25. Shudo E, Yang J, Yoshimura A, Iwasa Y.
Robustness of the signal transduction system of the mammalian JAK/STAT pathway and dimerization steps.
J Theor Biol. 2007 May 7;246(1):1-9.
26. Robinson GW, Pacher-Zavisin M, Zhu BM, Yoshimura A, Hennighausen L.
Socs 3 modulates the activity of the transcription factor Stat3 in mammary tissue and controls alveolar homeostasis.
Dev Dyn. 2007 Mar;236(3):654-61.
27. Ozawa Y, Nakao K, Shimazaki T, Shimmura S, Kurihara T, Ishida S, Yoshimura A, Tsubota K, Okano H.
SOCS3 is required to temporally fine-tune photoreceptor cell differentiation.
Dev Biol. 2007 Mar 15;303(2):591-600.

28. Taniguchi K, Ayada T, Ichiyama K, Kohno R, Yonemitsu Y, Minami Y, Kikuchi A, Maehara Y, Yoshimura A.
Sprouty2 and Sprouty4 are essential for embryonic morphogenesis and regulation of FGF signaling.
Biochem Biophys Res Commun. 2007 Jan 26;352(4):896-902.

総説

1. サイトカインによる Th17 と iTreg の分化制御
吉村昭彦、知念孝敏、市山健司、小林隆志
細胞工学 27 137-143, 2008
2. CIS/SOCSファミリー-サイトカインシグナルを負に調節するnegative-feedbackシステムの発見
吉村昭彦
実験医学, 25(18) : 2912-2917, 2007.
3. リンパ管の発生制御に必須な分子Spred—SpredはVEGFR-3シグナルを負に制御する
谷口浩二, 吉村昭彦
医学のあゆみ, 223(13) : 1023-1028, 2007.
4. SOCS/STAT系シグナルとは何ですか?
吉村昭彦
IBD Research, 1(4) : 308-312, 2007.
5. SOCS3欠損マウス-過食肥満抵抗マウス-
佐藤直市*, 吉村昭彦**
The Lipid, 18(1) : 6-12, 2007.
6. SPRED1はNCFC症候群の新たな原因遺伝子である
谷口浩二, 吉村昭彦
実験医学, 25(19) : 3022-3026, 2007.
7. 細胞内抑制シグナルとアレルギー疾患

吉村昭彦, 田中謙太郎, 岡元冬樹, 小林隆志
アレルギー, 56(6) : 563-569, 2007.

免疫病態学分野

Division of Clinical Immunology

当部門では診療上、自己免疫疾患、血液疾患、内分泌代謝疾患など多岐にわたる病態を取り扱うため、これらに関連した多彩な基礎的研究が行われている。すなわち、自己免疫疾患や血液疾患におけるリンパ球や免疫グロブリン遺伝子の解析、TNF リガンドファミリー-APRIL の解析、細胞内脂肪滴構成蛋白に関する研究などである。

A. 関節リウマチ滑膜内 B 細胞の動態解析

関節リウマチ (RA) における B 細胞除去療法の有効性、特異性の高い抗環状シトルリン化ペプチド抗体の発見、サイトカイン産生細胞、抗原提示細胞としての B 細胞の重要性から、RA の病態形成における B 細胞の重要性が再認識されている。我々は現在までに、RA 滑膜では B 細胞のオリゴクローナルな増殖がみられること、その一部は滑膜の離れた部位で共通に存在すること、オリゴクローナルな B 細胞の増殖は長期に渡って安定してみられることを明らかにした。さらに免疫グロブリン IgD の δ 鎖の VH 領域の塩基配列の解析から、B 細胞のオリゴクローナルな増殖には体細胞突然変異の蓄積を伴うものと伴わないものがあることを明らかにした。また一部の B 細胞は滑膜内で段階的に変異を蓄積しており、RA 滑膜は B 細胞の分化、増殖の場となっていることを明らかにした。さらにこの変異を有する δ 鎖を発現する B 細胞はメモリータイプの IgM⁺IgD⁺CD27⁺B 細胞であると考えられ、circulating splenic marginal zone B 細胞類似の B 細胞である可能性を指摘した。最近では RA 滑膜内で段階的に変異を蓄積している IgA クローンのサブクラススイッチの解析を通じて滑膜内でサブクラススイッチが起きていること、体細胞変異の蓄積と、 $\alpha 1$ から $\alpha 2$ サブクラスへのスイッチが同時進行していることを報告した。現在 RA 滑膜内 IgG サブクラスごとの IgG 発現クローンの解析を通じて、サブクラスごとのクローナリティーに特徴がみられるか検討している。

B. TNF リガンドファミリー-APRIL の機能、および転写調整に関する解析

APRIL は TNF リガンドファミリーに属する Type II 膜蛋白である。その相同蛋白である BAFF は B 細胞の成熟、増殖に関与し、自己免疫疾患の原因遺伝子である可能性もある遺伝子である。しかし、APRIL に関しては、その詳細な機能は不明である。APRIL に関する転写調節機構に関しての知見はなく、我々は APRIL 遺伝子上流の DNA 断片をクローニングし、luciferase assay により、転写調節部位の解析を行っている。また、我々は以前 APRIL ノックアウトマウスを作成した。このマウスに自然発症突然変異マウス SKG を交配することにより、APRIL の関節炎にかかわる影響を検討する予定である。

C. 骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植法を用いた全身性強皮症の治療法の開発

全身性強皮症は皮膚の硬化と様々な臓器病変を伴い、広範で高度の皮膚硬化は生活の質を著しく障害し、心肺腎などの病変は生命予後を左右する。強皮症の原因は不明であるが、病初期には自己免疫学的機序が働き、後期には線維芽細胞の増殖がおこると考えられている。これまで様々な免疫抑制剤による治療が試みられているが、有効な治療法はない。侵襲の少ない骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植法を用いて、免疫系の再構築を図り、強皮症を治癒させる試み、すなわち合併症、治療関連死の少ない骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植を全身性強皮症へ応用し、新規治療法の開発を行う。プロトコルの作成、安全性と臨床効果の判定、キメリズムの解析、免疫系の解析を行う。

D. 細胞内脂肪滴構成蛋白の発現調節機構と機能解析および病態における検討

a. adipose differentiation-related protein (ADRP)に関する研究

ADRP は細胞内脂肪滴表面に存在する蛋白で、遊離脂肪酸の取り込みなど細胞内脂肪滴の形成に関与している。肝およびマクロファージにおけるこの遺伝子の発現調節機構について解析を進めている。この蛋白の発現や機能を制御する方法を開発し、細胞内脂肪の過剰蓄積に基づく病態、たとえば脂肪肝、動脈硬化、インスリン抵抗性症候群などの治療への応用を探索する。とくに抗酸化作用を有する食品成分がADRP発現を抑制することを見い出して、その機序の一端を明らかにした。補完代替医療のエビデンス構築のモデルとして、検討を進めている。

b. ADRP の病態における意義の検討

末梢血白血球におけるADRP mRNAの発現量を定量PCR法で測定したところ、糖尿病や関節リウマチの患者で有意に発現量が高い傾向を認めた。これらの疾患は動脈硬化性病変の発症率が高い疾患であることから、ADRP発現量と動脈硬化進展との関連を探るため、九州大学病院の倫理委員会の承認を得て、多数例の患者において末梢血白血球におけるADRP mRNA発現量と動脈硬化の危険因子、頸動脈内膜中膜複合体厚などを経時的に追跡する研究を開始している。

E. 補完代替医療探索研究の推進

特定保健食品、生薬、温泉など、いわゆる代替医療の効用に関する科学的エビデンスを集積する「補完代替医療探索研究拠点」の形成をめざし、以下の研究に着手している。1) 抗酸化作用を有する水素を高濃度に添加した温泉浴の生体に及ぼす生理的効果を実証し、付加価値をもった温泉療法の新たな展開をめざす。2) 抗酸化作用を有する健康補助食品の併用による慢性C型肝炎のインターフェロン治療効果の向上に関する臨床研究。

業績目録

原著論文

1. R. Otsuka, Y. Abe, T. Fujii, M. Yamamoto, J. Nishimura, R. Takayanagi, K. Muta. 2007.
Mortalin is a novel mediator of erythropoietin signaling.
Eur J Haematol. 79, 114-125.
2. 大塚理恵, 安部康信, 白土基明, 立川義倫, 末廣陽子, 加留部謙之介, 牟田耕一郎, 西村純二, 高柳涼一. 2008.
脾腫、汎血球減少をきたし、B細胞性リンパ増殖性疾患類似の所見を呈した Graves 病
臨床血液 49, 104-107.

総説

- 西村純二, 本村誠一, 赤木輝久. 2007.
医薬品副作用学-薬剤の安全使用のアップデート-II. 副作用概論, 血液障害
日本臨床 65 (増刊号 8). 99-105.

著書

1. 西村純二. 2007.
慢性骨髄性白血病.
Year note 2008, Selected article. 主要病態・主要疾患の論文集 (伊藤和香子, 青木裕美編)
pp1161-1168.
メディカルレビュー社, 東京.
2. 西村純二. 2007.
血液造血器.
イヤートアトラス第3版. (医療情報科学研究所編) G12-27
メディカルレビュー社, 東京.

講演

1. 生山祥一郎 (2007, 7/13)
「からだに脂肪がたまる」ということ: 脂肪蓄積のメカニズムと病態
第21回筑豊糖尿病懇話会、飯塚
2. 生山祥一郎 (2007, 7/19)
「からだに脂肪がたまるということ」-脂肪蓄積の分子機構と病態-
別府市医師会学術研修会、別府
3. 生山祥一郎 (2007, 8/20)

持効型インスリンを使いこなそう
第25回大分SDM研究会、大分

4. 生山祥一郎(2007, 9/9)
大分県北地域の糖尿病性末梢神経障害の実態
第10回大分糖尿病セミナー、大分

5. 生山祥一郎(2007, 11/29)
大分県北地域における糖尿病性末梢神経障害の実態
大分糖尿病合併症フォーラム2007、大分

6. 生山祥一郎(2008, 2/28)
インスリン治療のABC
国東市・速見郡・杵築市地区学術講演会、国東

学会発表

1. 塩川左斗志、大庭功一、赤木輝久、豊田美夏、末廣 悟、合田英明、本村誠一、生山祥一郎、西村純二 (2007, 4/26-4/29).

FDG-PETにて診断された早期高安動脈炎の一例.
第51回日本リウマチ学会総会, 横浜.

2. 赤木輝久, 本村誠一, 西村純二 (2007/4/19).
Cladribineが著効したHairy cell leukemia, Japanese variantの1例.
第84回大分臨床血液懇話会, 大分.

3. 赤木輝久, 石橋佳奈, 本村誠一, 西村純二 (2007/10/18).
自己免疫性溶血性貧血を合併したSplenic marginal zone lymphomaの1例.
第86回大分臨床血液懇話会, 大分.

4. 赤木輝久. 本村誠一. 塩川左斗志. 吉河康二. 西村純二 (2007/10/11-13).
Cladribineが著効したHairy cell leukemia, Japanese variantの1例.
第69回日本血液学会第49回日本臨床血液学会合同総会, 横浜.

5. 合田英明, 豊田美夏, 赤木輝久, 末廣 悟, 大庭功一, 本村誠一, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 西村純二 (2007, 1/13)
低カリウム性四肢麻痺と横紋筋融解症を伴った甘草誘発性偽性アルドステロン症の1例
第276回日本内科学会九州地方会, 福岡

6. 大庭功一, 後藤穰, 中島 匡, 蘆田健二, 柳瀬敏彦, 金子周司 (2007, 1/13)

Wolfram 症候群に合併した性腺機能低下症の一例：二次性骨粗鬆症に対するテストステロン補充療法とエチドロネートの併用効果

第 276 回日本内科学会九州地方会，福岡

7. 大庭功一，柳瀬敏彦，栗山 実，後藤 穰，中島 匡，大江賢治，野村政壽，岡部泰二郎，後藤公宣，名取省一，生山祥一郎，金子周司，西村純二，高柳涼一(2007, 6/14-16)

40 年間にわたり段階的にゴナドトロピン、TSH、ACTH の分泌不全が顕在化したと考えられた下垂体機能低下症の一例

第 80 回日本内分泌学会学術総会，東京

8. 園田浩一郎，大江賢治，大庭功一，野村政壽，岡部泰二郎，明石 真，野出孝一，柳瀬敏彦，高柳涼一(2007, 6/14-16)

Y-1 細胞における Ad4BP/SF-1 の発現変動周期の検討

第 80 回日本内分泌学会学術総会，東京

9. 大庭功一，柳瀬敏彦，豊田美夏，後藤 穰，蘆田健二，井口登興志，生山祥一郎，篠崎博嗣，高柳涼一，西村純二(2007, 5/24-26)

性腺機能低下症を伴った Wolfram 症候群の一例：二次性骨粗鬆症に対するテストステロン補充療法とエチドロネートの併用効果

第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会，仙台

10. 豊田美夏，生山祥一郎，大庭功一，西村純二(2007, 5/23-26)

大分県北地域における糖尿病性末梢神経障害(DN)の実態調査

第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会，仙台

11. 大庭功一，柳瀬敏彦(2007, 7/5-6)

Wolfram 症候群に合併した性腺機能低下症の一例：続発性骨粗鬆症に対するテストステロン補充療法とエチドロネートの併用効果

日本アンドロロジー学会第 26 回学術大会，浦安

12. 今西康雄，橋本 淳，古林啓介，安藤 渉，上田孝文，宮内章光，大庭功一，小谷野 肇，梶 博史，小松弥郷，後藤仁志，三木隆己，稲葉雅章，西沢良記(2007, 7/19-21)

低リン血症性骨軟化症の原因腫瘍において FGF-23 と MEPE は共発現する

第 25 回日本骨代謝学会学術集会，大阪

13. 大庭功一，生山祥一郎，西村純二(2007, 10/12-13)

インスリンアスパルトアレルギーの 1 例

第 45 回日本糖尿病学会九州地方会，宮崎

14. 生山祥一郎, 大庭功一, 西村純二(2007, 10/12-13)
大分県北地域における糖尿病性末梢神経障害(DN)の実態
第45回日本糖尿病学会九州地方会, 宮崎
15. 生山祥一郎, 織部元廣, 西村純二(2007, 4/26-29)
関節リウマチ(RA)専門病院のRA患者における健康食品利用の実態
第51回日本リウマチ学会学術集会, 横浜
16. 生山祥一郎, 谷 劍秋, 井口登與志, 西村純二(2007, 5/23-26)
細胞内脂肪滴蛋白 ADRP の発現調節機構とヒト白血球における発現の検討
第50回日本糖尿病学会年次学術集会, 仙台
17. 谷川和也, 赤間剛, 川島晃, Huhehasi Wu, 三島眞代, 石井則久, 高橋伸一郎, 生山祥一郎, 鈴木幸一(2007, 9/28-29)
らい菌感染マクロファージにおける細胞内脂質蓄積分子機構に関する研究
第48回日本組織細胞化学会総会, 第39回日本臨床分子形態学会総会合同学術集会, 甲府
18. 高瀬恵美子, 生山祥一郎, 徳永章二, 織部元廣, 西村純二(2007, 11/3-4)
関節リウマチ患者における健康食品利用者の特徴
第9回日本補完代替医療学会学術集会, 福岡
19. 大庭功一, 生山祥一郎, 西村純二, 蒲原行雄, 森 正樹, 石川 晃, 中野逸郎, 名取省一(2008, 1/26)
糖尿病に合併した胸部脊髄神経根障害の2例
第280回日本内科学会九州地方会, 福岡
20. 合田英明, 生山祥一郎, 末廣 悟, 石橋佳奈, 西川 寛, 赤木輝久, 大庭功一, 本村誠一, 塩川左斗志, 西村純二(2008/1/26-27).
症候性血管性紫斑・ループス膀胱炎が先行し, ついでループス腸炎を発症したSLEの一例.
第280回日本内科学会九州地方会, 福岡
21. 合田英明, 生山祥一郎, 末廣 悟, 石橋佳奈, 西川 寛, 赤木輝久, 大庭功一, 本村誠一, 塩川左斗志, 西村純二(2008, 1/26)
症候性血管性紫斑・ループス膀胱炎が先行し, ついでループス腸炎を発症したSLEの1例
第280回日本内科学会九州地方会, 福岡
22. 西川 寛, 生山祥一郎, 大庭功一, 高瀬恵美子, 西村純二(2008, 3/1)
骨関節疾患患者におけるサプリメント利用の実態-薬剤性肝障害を発症した変形性膝関節症の1例-
第18回日本老年医学会九州地方会, 福岡

23. 大庭功一, 生山祥一郎, 西川 寛, 赤木輝久, 合田英明, 本村誠一, 塩川左斗志, 西村純二 (2008, 3/1)

FDG-PET/CT にて診断された高齢発症の高安動脈炎の一例

第 18 回日本老年医学会九州地方会, 福岡

脳機能制御学分野

Division of Neurofunctional Genomics

生物にとって、その遺伝情報を担うゲノム DNA を細胞から細胞へ、親から子へと正確に伝え維持することは最も基本的な生物学的機能であるが、ゲノム DNA やその前駆体であるヌクレオチドは、酸素呼吸の過程で必然的に発生する活性酸素や生体防御のために生体が能動的に産生する活性酸素によって酸化される危険に常に曝されている。活性酸素に曝された DNA やヌクレオチドは様々な酸化的化学修飾を受けるが、このような酸化損傷は修復、除去されないと突然変異を引き起こすことで細胞のがん化の原因となり、あるいは細胞死を引き起こすことで多くの変性疾患の原因になると考えられる。本分野では、活性酸素による非増殖性細胞の障害として「脳・神経細胞死」に、また増殖性細胞の障害として「突然変異と発がん」に注目して「活性酸素によるゲノム障害とその防御機構」の解明を目指している。神経細胞はその個体の生涯を通して生存し機能する必要があるが、分裂能を欠くため加齢に伴う活性酸素等による障害により変性脱落する運命にある。そのため成体においても神経前駆細胞からの新たな神経細胞の供給など神経回路網を保持する機構が幾重にも用意されていると考えられる。成体脳における神経の新生は脳虚血や神経興奮毒性などにもとない脳障害が引き起こされた際に著しく亢進することが明らかにされている。本分野では、これまでに脳における酸化ストレス応答遺伝子として前初期遺伝子群の *jun*, *fos* ファミリー遺伝子を同定しており、神経細胞の増殖・分化・死などの「脳・神経細胞の運命決定機構」にも注目してその機能解析を進めている。

平成19年度の人事異動は次の通りであった。4月には、中西恵美と能丸寛子が医科学専攻修士課程の大学院生として入学し、岡素雅子を特別研究員として、梶谷康介、山田英孝、近間浩史を共同研究員として受け入れた。盛子敬が9月30日で外国人特別研究員を終了し、10月1日からグローバルCOEの学術研究員として赴任した。12月1日付けで、麻川和美を事務補佐員として雇用した。12月末日でテクニカルスタッフの倉元絵美子が退職した。

A. 活性酸素によるゲノム障害とその防御機構に関する研究

a. 酸化的ストレスによる細胞死と消化管がん抑制機構における MUTYH の働き

哺乳動物の MUTYH は、主要な酸化的 DNA 損傷である 8-オキシグアニン (8-oxoG) と対合したアデニン及びグアニンに対合した 2-ヒドロキシアデニン (2-OH-A) を除去す

る DNA グリコシラーゼで、自然突然変異の抑制に関与する。近年、ヨーロッパにおいて劣性の家族性大腸腺腫症 (FAP) 患者で *MUTYH* 遺伝子の変異が見出され、腫瘍の *APC* 遺伝子に高頻度で G:C→T:A 変異が検出される事が報告された。我々は、*MUTYH* の発がん抑制機能を明らかにする目的で *Mutyh* 遺伝子欠損マウスを樹立し、自然発症がんについてその種類と頻度を野生型マウスと比較解析した。*Mutyh* 遺伝子欠損マウスでは自然発がん頻度が全身の臓器において有意に上昇しており、中でも消化管における腺がんの発生頻度の上昇が特に顕著であった。*rpsL* トランスジーンを持つ野生型および *Mutyh* 欠損マウスを用いて小腸における自然突然変異を解析した結果、*Mutyh* 遺伝子欠損により G:C→T:A 変異の有意な上昇が認められた。以上の結果から、*MUTYH* は哺乳動物において G:C→T:A 変異の生起を抑制し、その結果として特に消化管系の自然発がんを抑制すると結論される。この結果は、ヒト *MUTYH* 遺伝子の変異が家族性大腸腺腫症の直接の原因である事を世界で初めて実験動物を用いて証明したものと位置づけられる。

次に *Mutyh* 遺伝子欠損マウスと野生型マウスに KBrO_3 添加飲水の投与により酸化ストレスを負荷した。野生型マウスでは 1 個体当たり平均 1 個以下の小腸腫瘍の形成を認めるのみであったが、*Mutyh* 欠損マウスにおいては 1 個体当たり平均数十個以上の小腸腺腫の形成が認められた。さらに、*rpsL* トランスジーンを持つ *Mutyh* 欠損マウスへの KBrO_3 添加飲水の投与実験から、*Mutyh* 欠損により G:C→T:A 突然変異が野生型の 20 倍以上高頻度に生じることが明らかになった。

以上より、*MUTYH* の欠損は酸化ストレスに起因する突然変異の生起と発がんの亢進をもたらすことが明らかになった。

b. 家族性大腸腺腫症患者における *MUTYH* 遺伝子変異の解析

FAP は *APC* 遺伝子変異によって発症することが知られているが、その約 20-30% は *APC* 遺伝子変異が陰性である。ヨーロッパの *APC* 遺伝子変異のない FAP 家系において、*MUTYH* 遺伝子の変異が報告されていることから、国内における FAP 患者における *MUTYH* 遺伝子変異の有無を検討した。

九州大学大学院病態機能内科学との共同研究で *APC* 遺伝子変異陰性家族性大腸腺腫症患者 21 例を対象として、PCR-SSCP 法およびダイレクト・シーケンス法によって *MUTYH* 遺伝子変異の解析を行ったところ、対象 21 例中 14 例に *MUTYH* 遺伝子の対立遺伝子の一方に変異を認め、2 例に両対立遺伝子の変異を認めた。そのうち 1 例においては G272Q と A359V の 2 つのミスセンス変異を両対立遺伝子に認めた。機能的な組換え蛋白質が調製可能なマウス *MUTYH* のアミノ酸置換変異体を作製し、変異蛋白質を精

製して機能解析を行ったところ、ヒト MUTYH の A359V に相当するマウス MUTYH の A341V アミノ酸置換変異蛋白質の DNA グリコシラーゼ活性は野生型と同等であったが、ヒト MUTYH の G272Q に相当するマウス MUTYH の G257Q アミノ酸置換変異蛋白質ではその活性がほぼ消失していた。以上より、この 1 例の FAP 患者においては、MUTYH 遺伝子の G272Q 変異が大腸腺腫症の発症に関与している可能性が示唆された。

c. 核とミトコンドリア DNA に蓄積した酸化塩基に起因する細胞死の制御機構

MUTYH 欠損マウスおよび OGG1 欠損マウス胚より線維芽細胞株を樹立し、細胞内で NADPH 依存性に活性酸素を生成するメナジオンに対する感受性を細胞増殖、生存率、細胞死に注目して、それぞれ野生型細胞と比較解析した。MUTYH 欠損細胞は野生型より酸化ストレスによる細胞死に抵抗性を示したが、OGG1 欠損細胞は酸化ストレスに対して野生型より高い感受性を示した。OGG1 欠損細胞は、MUTYH の発現を siRNA でノックダウンすることにより酸化ストレスに抵抗性を獲得した。以上の結果は、MUTYH が積極的に細胞死を誘導することを示唆している。

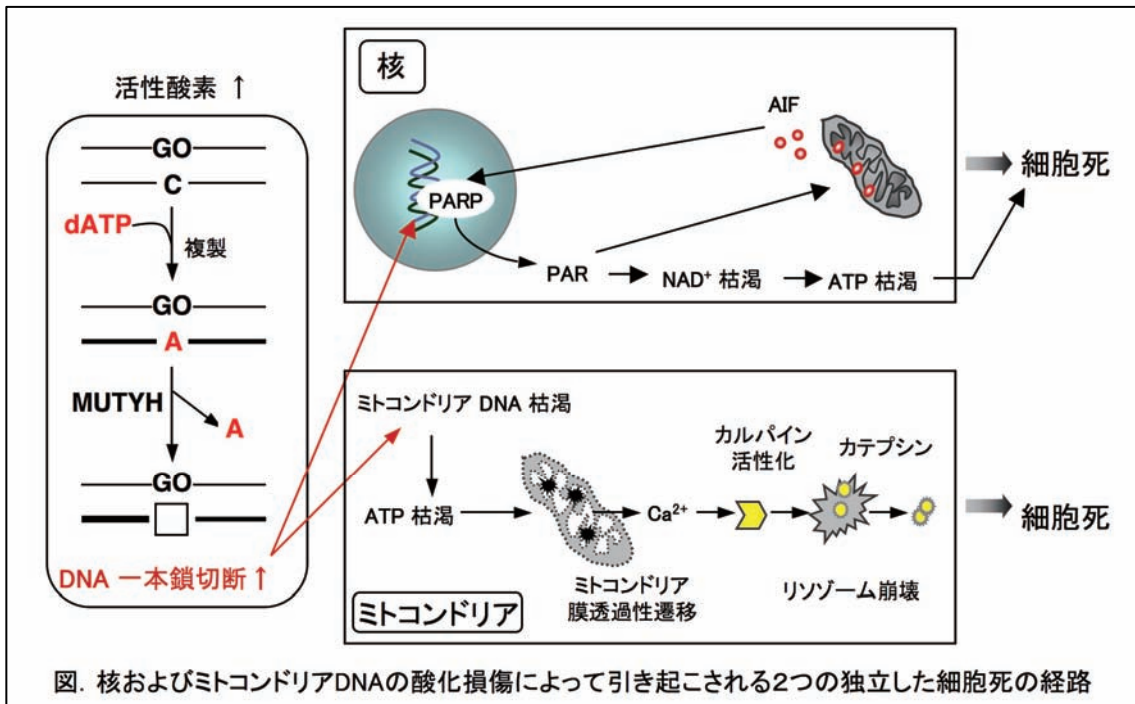
我々は、OGG1 欠損細胞株にヒト OGG1 (hOGG1) 発現プラスミドを導入することにより、hOGG1 の核型 (hOGG1-1a) とミトコンドリア型 (hOGG1-2a) の一方のみ、あるいは両方を発現する細胞株を樹立した。OGG1 欠損細胞はメナジオン負荷後核とミトコンドリア DNA の両方に 8-oxoG を蓄積し、細胞内にオートファゴゾーム様の構造体を蓄積して細胞死に陥る。一方、核型とミトコンドリア型の hOGG1 の両者を発現する細胞はいずれの DNA にも 8-oxoG を蓄積することはなく、高濃度のメナジオンに対して最も強い抵抗性を示した。核型 hOGG1-1a を発現する細胞は比較的高濃度のメナジオン負荷後にミトコンドリア DNA に選択的に 8-oxoG を蓄積し、ミトコンドリアの変性をともなってピクノーシスに陥った。ミトコンドリア型 hOGG1-2a を発現する細胞は、比較的高濃度のメナジオン負荷後に核 DNA に選択的に 8-oxoG を蓄積し、ピクノーシスに陥った。以上の結果は、核とミトコンドリア DNA に選択的に蓄積した 8-oxoG がそれぞれ独立に細胞死を引き起こすことを示すものである。

核あるいはミトコンドリア DNA に選択的に 8-oxoG を蓄積する細胞株を用いて、メナジオンで誘導される細胞死の経路を詳細に解析した。その結果、核 DNA に 8-oxoG が蓄積すると、細胞死に先だってポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼ (PARP) の活性化と核タンパク質のポリ-ADP-リボシル化に依存した Apoptosis-inducing factor (AIF) の核移行が誘導された。AIF の核移行は PARP 阻害剤で抑制され、細胞の生存率も回復した。一方、ミトコンドリア DNA に 8-oxoG が蓄積するとミトコンドリアの変性、ATP の枯渇、

ミトコンドリア Ca イオンの流出, そしてカルパインの活性化をともない細胞死が誘発された.

核あるいはミトコンドリア DNA に 8-oxoG が蓄積すると, いずれの DNA においても DNA 一本鎖切断の蓄積を認めた. しかし, いずれの細胞においても siRNA による MUTYH のノックダウンにより DNA 一本鎖切断とともに上述の細胞死の誘導経路が抑制され, 細胞死の割合が顕著に低下した.

核あるいはミトコンドリア DNA のいずれにおいても酸化ストレス下で鋳型鎖に 8-oxoG が蓄積すると, DNA 複製の際に鋳型鎖の 8-oxoG に対して新生鎖にアデニンが挿入され 8-oxoG:アデニン対合が生じる. この 8-oxoG:アデニン対合から MUTYH がアデニンを除去し塩基除去修復を開始する結果, DNA 鎖切断が過剰に生じ細胞死を誘導することが明らかになった (下図参照).



大腸腫瘍の発生を考えた場合, 腸管上皮の幹細胞や前駆細胞におけるMUTYHの機能欠損は酸化ストレスによる8-oxoGの蓄積によって引き起こされる細胞死からの回避をもたらすと同時に, 蓄積した8-oxoGががん原遺伝子やがん抑制遺伝子の突然変異を高頻度に誘発するため, その結果として発がんが促進されると結論される.

一方, アルツハイマー病やパーキンソン病 (PD) の患者脳では, ミトコンドリア DNA に 8-oxoG が蓄積し, MTH1, OGG1 や MUTYH の発現が亢進している. 我々は PD モデルマウスにおいて, 線条体ドパミン神経終末のミトコンドリア DNA への 8-oxoG の蓄積

が線条体ドパミン神経終末の変性脱落を引き起こすことを既に明らかにしている。また、カルパイン-カテプシン経路が神経細胞死に関与することも報告されており、酸化ストレス下において神経細胞のミトコンドリア DNA に 8-oxoG が蓄積すると MUTYH に依存して神経細胞死が誘発される可能性が強く示唆される。

d. ミトコンドリアヌクレオチドプールの酸化に起因する細胞死の防御機構

ヒトMutTホモログ蛋白質 (hMTH1) は、酸化プリンヌクレオシド三リン酸を一リン酸に加水分解することで、これらの酸化プリンのDNAおよびRNAへの取り込みを回避する。我々は、一酸化窒素供与体であるニトロプルシドが引き起こす細胞機能障害を hMTH1 が抑制するかどうかを検討した。ニトロプルシドに曝露された対数増殖期の MTH1 欠損細胞は核とミトコンドリアDNAに8-oxoGを蓄積し、ミトコンドリアの変性をともない細胞死に陥った。静止期のMTH1欠損細胞も8-oxoGの蓄積をともない細胞死に陥ったが、8-oxoGはミトコンドリアDNAにのみに蓄積し、核DNAには蓄積しなかった。対数増殖期と静止期のいずれの細胞においても、hMTH1の発現により8-oxoGの核とミトコンドリアDNAへの蓄積と細胞死がともに効率よく抑制された。静止期のMTH1欠損細胞の細胞死がMUTYHのノックダウンで顕著に抑制されたことから、ミトコンドリアDNAに取り込まれた8-oxoGが細胞死の主な原因であることが示唆された。この可能性を検証するために、ミトコンドリアのみに限局する改変型 hMTH1 分子、mTP-EGFP-hMTH1 を構築し、MTH1 欠損細胞において発現させた。mTP-EGFP-hMTH1 は、ニトロプルシドに曝された対数増殖期の細胞の死を効率よく抑制した。この時、ミトコンドリアDNAへの8-oxoGの蓄積は抑制されたが、核DNAへの8-oxoGの蓄積は抑制されなかった。

過度の一酸化窒素に暴露された細胞ではミトコンドリアのデオキシリボヌクレオチドプールの酸化を介してミトコンドリアDNAへ酸化塩基が蓄積し、その結果MUTYHに依存して細胞死が誘導されることが明らかになった。

e. B 細胞における AP エンドヌクレアーゼ APEX2 の機能解析

B 細胞における抗体遺伝子のクラススイッチ組換え (CSR) はスイッチ領域内における DNA 二本鎖切断 (DSB) の生成によって始まる染色体内欠失により起こる。DSB 形成の最初の数ステップの分子機序はすでに明らかにされており、そのステップは activation-induced cytosine deaminase (AID) によるシトシンの脱アミノ化とウラシル DNA グリコシラーゼによる脱塩基部位の形成に依存する。しかしながら、脱塩基部位

にどのようにして一本鎖切断が導入され、DSBへと変換されるのかはまだ明らかにされていない。脱塩基部位特異的（AP）エンドヌクレアーゼは脱塩基部位でDNAの一本鎖を切断する活性を持つが、CSRにAPエンドヌクレアーゼが関与する可能性が考えられる。そこで我々は、米国のマサチューセッツ州立大学医学部のJanet Stavnezer博士のグループと共同で主要なAPエンドヌクレアーゼであるAPEX1と我々が発見した第2のAPエンドヌクレアーゼであるAPEX2のCSRにおける役割について検討した。APEX1欠損はマウスにおいては胎生致死を引き起こすため、APEX1ハプロ欠損マウスとAPEX2完全欠損マウス、さらにAPEX1ハプロ欠損・APEX2完全欠損マウスにおけるCSRとDSBの頻度を野生型マウスと比較検討した。その結果、3つの変異マウスともCSRの低下を示し、特にAPEX2完全欠損マウスとAPEX1ハプロ欠損・APEX2完全欠損マウスにおいて最も顕著なCSRの低下が認められた。さらに、DSBの解析からAPEX1とAPEX2の両方がCSRに必要なDSBの形成に関わることを示す結果を得た。

この共同研究は、APEX2がB細胞の抗体遺伝子のクラススイッチ組換えにおいてDSBの生成に関わることを初めて明らかにしたものである。

B. 脳・神経細胞の運命決定機構に関する研究

a. 海馬における酸化ストレス応答と神経新生の制御機構

グルタミン酸受容体の強力なアゴニストであるカイニン酸をマウスに腹腔内投与すると一過性の痙攣発作をともない海馬CA3錐体細胞の変性を引き起こす。マウスへのカイニン酸投与は海馬における活性酸素の生成を誘発することでCA3ニューロンの脱落を引き起こし、さらに歯状回において*jun*, *fos*などの前初期遺伝子群の発現とともに神経新生を誘導する。我々は、カイニン酸投与後の海馬歯状回で発現が誘導される*fosB*遺伝子の機能解析を進める中で、*fosB*遺伝子を完全に欠損するマウスにおいてはカイニン酸投与1週間後の海馬歯状回顆粒細胞下層におけるプロモデオキシウリジン（BrdU）標識細胞の顕著な減少を見出した。一方、選択的スプライシングにより*fosB*遺伝子が発現する2種類のタンパク質のうちFosBを特異的に欠損し Δ FosBのみ発現するknock-inマウスでは、野生型と同じかそれ以上のBrdU標識細胞がカイニン酸投与後に出現した。

ラット胎仔脳から分離した神経幹細胞に Δ FosB発現アデノウイルスを感染させるとその増殖が促進されることから、 Δ FosBは*in vivo*でも神経幹細胞、あるいは神経前駆細胞の増殖を促進的に制御すると考えられる。

b. Galectin-1による海馬歯状回における神経新生の制御

我々は以前に、 Δ FosB の下流の標的としてガラクトース結合レクチンの1つである galectin-1 を同定している。galectin-1 は carbohydrate-binding domain を有する糖結合性蛋白質であり、末梢神経軸索切断後の軸索再生を促進する活性を有している。我々は、カイニン酸による興奮毒性障害時のマウス脳における galectin-1 の発現変化を調べ、カイニン酸投与一週間後のマウス海馬において GFAP 陽性のアストロサイトが galectin-1 を高発現していることを見出した。galectin-1 mRNA のレベルはカイニン酸投与1日後から徐々に増加し、投与1週間後にはコントロールの5倍近いレベルに達した。galectin-1 蛋白質もカイニン酸投与1週間でコントロールの4倍以上まで上昇する。カイニン酸投与による galectin-1 の発現増加の意義を明らかにする目的で、カイニン酸投与後の BrdU 標識細胞の出現の程度を galectin-1 欠損マウスと野生型マウスの間で比較解析したところ、カイニン酸投与後に増加する歯状回顆粒細胞下層の BrdU 標識細胞数が galectin-1 欠損マウスでは野生型の75%のレベルまで有意に減少していた。

カイニン酸投与により活性化されたアストロサイトが産生する galectin-1 は、海馬歯状回顆粒細胞下層における神経幹細胞や神経前駆細胞の増殖を促進的に制御すると考えられる。

業績目録

原著論文

1. Yanaru-Fujisawa, R., Matsumoto, T., Ushijima, Y., Esaki, M., Hirahashi, M., Gushima, M., Yao, T., Nakabeppu, Y. and Iida, M. (2008).
Genomic and Functional Analyses of MUTYH in Japanese Patients with Adenomatous Polyposis. Clinical Genetics, (in press).
2. Ichikawa J, Tsuchimoto D, Oka S, Ohno M, Furuichi M, Sakumi K, Nakabeppu Y. (2008).
Oxidation of mitochondrial deoxynucleotide pools by exposure to sodium nitroprusside induces cell death.
DNA Repair, 7, 418-430.
3. Oka S, Ohno M, Tsuchimoto D, Sakumi K, Furuichi M, Nakabeppu Y. (2008).
Two distinct pathways of cell death triggered by oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNAs.
EMBO J, 27, 421-432.

4. Kunisada M, Kumimoto H, Ishizaki K, Sakumi K, Nakabeppu Y, Nishigori C. (2007).
Narrow-band UVB induces more carcinogenic skin tumors than broad-band UVB through the formation of cyclobutane pyrimidine dimer.
J Invest Dermatol, 127, 2865-2871.
5. Guikema JE, Linehan EK, Tsuchimoto D, Nakabeppu Y, Strauss PR, Stavnezer J, Schrader CE. (2007).
APE1- and APE2-dependent DNA breaks in immunoglobulin class switch recombination.
J Exp Med, 204, 3017-3026.
6. Sakamoto K, Tominaga Y, Yamauchi K, Nakatsu Y, Sakumi K, Yoshiyama K, Egashira A, Kura S, Yao T, Tsuneyoshi M, Maki H, Nakabeppu Y, Tsuzuki T. (2007).
MUTYH-null mice are susceptible to spontaneous and oxidative stress induced intestinal tumorigenesis.
Cancer Res, 67, 6599-6604.
7. Kuraoka I, Suzuki K, Ito S, Hayashida M, Kwei JS, Ikegami T, Handa H, Nakabeppu Y, Tanaka K. (2007).
RNA polymerase II bypasses 8-oxoguanine in the presence of transcription elongation factor TFIIS.
DNA Repair, 6, 841-851.
8. Ohtsubo T, Ohya Y, Nakamura Y, Kansui Y, Furuichi M, Matsumura K, Fujii K, Iida M, Nakabeppu Y. (2007).
Accumulation of 8-oxo-deoxyguanosine in cardiovascular tissues with the development of hypertension.
DNA Repair, 6, 760-769.
9. Miyata K, Yasukawa T, Fukuda M, Takeuchi T, Yamazaki K, Sakumi K, Tamamori-Adachi M, Ohnishi Y, Ohtsuki Y, Nakabeppu Y, Kitajima S, Onishi S, Aso T. (2007).
Induction of apoptosis and cellular senescence in mice lacking transcription elongation factor, Elongin A.
Cell Death Differ, 14, 716-726.

総説

1. Tsuzuki T, Nakatsu Y, Nakabeppu Y. (2007).
Significance of error-avoiding mechanisms for oxidative DNA damage in carcinogenesis.
Cancer Sci, 98, 465-470.

2. Nakabeppu Y, Tsuchimoto D, Yamaguchi H, Sakumi K. (2007).
Oxidative damage in nucleic acids and Parkinson's disease.
J Neurosci Res, 85, 919-934.

著書

1. 中別府雄作 (2008).
遺伝子変異の機構
図説 分子病態学 4版 (一瀬白帝, 鈴木宏治 編集), pp107-115.
中外医学社.
2. Nakabeppu, Y., Behmanesh, M., Yamaguchi, H., Yoshimura, D. and Sakumi, K. (2007).
Prevention of the mutagenicity and cytotoxicity of oxidized purine nucleotides.
Oxidative Damage to Nucleic Acids (Evans, M.D. and Cooke, M.S. eds.), pp. 40-53.
Landes Bioscience / Springer, Austin, TX / New York, NY, U.S.A, USA.
3. Nakabeppu, Y., Maki, H., Sekiguchi, M. (2007).
DNA Replication and Transcription.
Genomics and Genetics: From Molecular Details to Analysis and Techniques. (Meyers R.A. eds.). pp.
47-73.
Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, Germany.

学会発表

1. 中津可道, 磯田拓郎, 朴晶淑, 中別府雄作, 續輝久 (2007, 12/11-12/15).
Oxidative stress-induced intestinal tumorigenesis in mice with a targeted disruption of the *Mutylh* gene.
第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会, 横浜.
2. Abolhassani, N., Sakumi, K., Ohno, M., Behmanesh, M., Nakabeppu, Y. (2007, 12/11-12/15).
ITPA-deficient mouse embryonic fibroblasts exhibit chromosomal aberrations.
第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会, 横浜.
3. 大野みずき, 作見邦彦, 中別府雄作 (2007, 12/11-12/15).
ゲノムに蓄積した 8-オキソグアニンは染色体組換えを誘発する.
第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会, 横浜.
4. 野中麻里, 土本大介, 太田詠子, 作見邦彦, 中別府雄作 (2007, 12/11-12/15).
ITP 結合タンパク質 ITPBP1 の生化学的的特性の解析.

- 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 横浜.
5. 太田詠子, 大野みずき, 土本大介, 作見邦彦, 中別府雄作 (2007, 12/11-12/15).
哺乳動物細胞における 2-OH-ATP の生物学的影響.
第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 横浜.
 6. 岡素雅子, 大野みずき, 土本大介, 作見邦彦, 古市正人, 中別府雄作 (2007, 12/11-12/15).
核とミトコンドリアゲノムに蓄積した 8-オキシグアニンは異なる 2 つの経路により細胞死を誘導する.
第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 横浜.
 7. Ichikawa, J., Tsuchimoto, D., Oka, S., Ohno, M., Sakumi, K., Nakabeppu, Y. (2007, 12/11-12/15).
Nitric oxide induces cell death through oxidation of mitochondrial deoxynucleotide pools.
第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 横浜.
 8. 朴晶淑, 磯田拓郎, 松尾知子, 中津可道, 中別府雄作, 續輝久 (2007, 11/14-11/17).
Msh2 欠損マウスにおける酸化ストレス誘発消化管発癌.
日本放射線影響学会・第 50 回大会, 千葉.
 9. 續輝久, 磯田拓郎, 山内一己, 中別府雄作, 中津可道 (2007, 11/14-11/17).
Mutyh 遺伝子欠損マウスにおける酸化ストレス誘発消化管腫瘍の解析
日本放射線影響学会・第 50 回大会, 千葉.
 10. Nakabeppu, Y. (2007, 11/25-11/28).
Disruption of Defense Mechanisms Against Oxidative Damage in Nucleic Acids and the Affect of Polyphenols.
3rd International Conference on Polyphenol and Health, Kyoto.
 11. Yutsudo, N., Honda-Ohnishi, Y., Ohnishi, Y., Nakabeppu, Y. (2007, 11/3-11/7).
 Δ FosB promotes neurogenesis in the dentate gyrus of mouse hippocampus after brain damage caused by excitotoxicity.
The 37th annual meeting of the Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA.
 12. Oka S, Ohno M, Tsuchimoto D, Sakumi K, Furuichi M, Nakabeppu Y. (2007, 10/23-10/25).
Two distinct pathways of cell death triggered by oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNAs, Nordic Region Workshop on Mitochondria (Scandomit 07), Murikka, Finland.
 13. Nakabeppu, Y. (2007, 10/20-10/24).
Defenses against damage in nucleotide pools and the suppression of carcinogenesis, neurodegeneration and heart failure.
38th Annual Meeting of the Environmental Mutagen Society, Atlanta, GA, USA.

14. Tsuzuki, T., Isoda, T., Nakabeppu, Y., Nakatsu, Y. (2007, 10/3-10/5).
Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of *Mutyh*-deficient mice,
第 66 回日本癌学会学術総会, 横浜.
15. Piao, J., Isoda, T., Matsuo, T., Nakatsu, Y., Sakumi, K., Nakabeppu, Y., Tsuzuki, T. (2007, 10/3-10/5).
Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of various DNA repair-deficient mice.
第 66 回日本癌学会学術総会, 横浜.
16. 大野みずき, 作見邦彦, 中別府雄作 (2007, 9/19-9/21).
酸化塩基, 8-オキソグアニンのゲノム蓄積は染色体組換えを促進する.
第 79 回日本遺伝学会大会, 岡山.
17. 中津可道, 磯田拓郎, 朴晶淑, 中別府雄作, 續輝久 (2007, 9/19-9/21).
Mutyh 遺伝子欠損マウスに生じた酸化ストレス誘発腫瘍における癌関連遺伝子の突然変異
解析.
第 79 回日本遺伝学会大会, 岡山.
18. 大野みずき, 作見邦彦, 中別府雄作 (2007, 8/31-9/2).
8-オキソグアニンのゲノム蓄積は相同染色体組換えを促進し遺伝的多様性を生み出す原動力となる.
第 9 回日本進化学会大会, 京都.
19. Abolhassani, N., Sakumi, K., Ohno, M., Behmanesh, M., Nakabeppu, Y. (2007, 9/5-9/9).
Analyses of ITPA-deficient mouse and embryonic fibroblasts.
The 19th annual meeting on Mouse Molecular Genetics, Cambridge, UK.
20. Kajitani, K., Kadoya, T., Horie, H., Poirier, F., Nakabeppu, Y. (2007, 9/10-9/12).
Galectin-1 promotes neurogenesis in the dentate gyrus of mouse hippocampus after brain damage
caused by excitotoxicity.
第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会
合同学会, 横浜.
21. Yutsudo, N., Honda-Ohnishi, Y., Ohnishi, Y., Nakabeppu, Y. (2007, 9/10-9/12).
 Δ FosB promotes neurogenesis in the dentate gyrus of mouse hippocampus after brain damage caused
by excitotoxicity.
第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会
合同学会, 横浜.
22. Sheng, S., Yamada, H., Nakabeppu, Y. (2007, 9/10-9/12).
Oxidative damage in nucleic acids in Huntington's disease model.

第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会
合同学会，横浜。

23. Tsuzuki, T., Isoda, T., Yamauchi, K., Nakabeppu, Y., Nakatsu, Y. (2007, 7/8-7/12).
Oxidative stress-induced intestinal tumorigenesis in mice with a targeted disruption of the *Mut* gene.
The 13th International Congress of Radiation Research, San Francisco, CA, USA.
24. Nakabeppu, Y., Yutsudo, N., Kurushima, H., Kajitani, K., Ohnishi, Y. H., Ohnishi, Y.N. (2007, 6/15-6/18).
Mice that express only Δ FosB display a hyperactive phenotype accompanied by increased neurogenesis and resistance to excitotoxicity, 30th Annual Meeting of the Canadian College of Neuropsychopharmacology (CCNP), Banff, Alberta, Canada.
25. Sakumi, K. (2007, 5/7-5/11).
ITPA knockout mice.
3rd Japan-US DNA Repair Meeting, Akiu, Sendai.
26. Nakabeppu, Y. (2007, 5/7-5/11).
Cell death caused by 8-oxoguanine.
3rd Japan-US DNA Repair Meeting, Akiu, Sendai.

