

[0021]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2006年

<https://doi.org/10.15017/15429>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 21, 2007-05. Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

バージョン :

権利関係 :



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指し、研究を進めている。

本年度から、実松史幸、福原秀雄がポストドク研究員として、曹勤紅が国費留学生として、後藤和人が博士課程大学院生として、川口真喜子が修士課程大学院生として研究に参画した。また、大学院生（学術振興会特別研究員）の國崎祐哉は卒業し、技術員の野田繭子は結婚のため退職した。

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。我々は、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）。本年度は DOCK2 細胞内動態の制御機構並びに、獲得免疫系および自然免疫系における機能を解明する目的で以下のような研究を行った。

a. DOCK2-GFP ノックインマウスの開発

DOCK2 の発見以降、その細胞内動態は国内外の多くの細胞生物学者や免疫学者が関心を

寄せているテーマであった。この重要な問題を解決すべく、DOCK2 遺伝子の最終エクソン直下に GFP をコードする遺伝子を挿入したノックインマウスを作製した。このマウスを用いることで、極めて生理的な条件下で DOCK2 動態のダイナミズムを可視化できると共に、DOCK2 会合分子の網羅的解析が可能になった。

b. DOCK2 による好中球遊走の制御機構

好中球は極めて運動性の高い、生体防御システムの最前線で機能する白血球である。これまでノックアウトマウスを用いた解析より、好中球の遊走や活性酸素産生において、Rac が重要な役割を演じることが明らかにされているが、Rac 活性化に関わる分子は不明であった。私達は、DOCK2 ノックアウトマウスでは好中球の遊走や活性酸素産生が著しく障害されていることを見いだした。DOCK2 欠損好中球では、fMLP 刺激による Rac 活性化が障害されており、その結果 leading edge における F アクチン及び PIP₃ の集積が消失した。さらに、GFP ノックインマウスを用いて、DOCK2 が PIP₃ と会合し、PI3K 依存的に細胞膜移行することを明らかにした。興味深いことに、DOCK2 による Rac 活性化は、持続した PIP₃ の集積や Akt のリン酸化には重要であったが、PIP₃ の産生そのものには全く影響しなかった。以上より、DOCK2 は好中球の遊走において、Rac と PIP₃ 間の正のフィードバックループで機能する Rac 活性化分子であるが、そのフィードバック機構は PI3K の触媒活性を介したものであ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

DOCK2 欠損 B 細胞では、ケモカイン刺激によるインテグリン活性化が著しく障害されており、その結果生体内で血管内皮細胞に接着する B 細胞の数が著減する。このことから、DOCK2 はインテグリン活性化を介して B 細胞のホーミングを制御していると考えられるが、DOCK2 欠損 T 細胞をケモカインで刺激した場合、ICAM-1、VCAM-1 に対する接着性は全く正常であった。そこで、DOCK2 の T 細胞ホーミングにおける役割を明らかにするため、DOCK2 欠損 T 細胞と血管内皮細胞との相互作用をタイムラプスビデオイメージングを用いて解析し、DOCK2 が transendothelial migration には必要ではないが、血管内皮細胞上での移動 (lateral motility) に重要な役割を演じることが明らかにした。また、DOCK2 が T 細胞のリンパ節への移入のみならず、リンパ節内での運動やリンパ節からの移出をも制御することを、多光子共焦点レーザー顕微鏡を用いて実証した。

d. NKT 細胞の発生・分化における DOCK2 の役割

多様性に特徴づけられるリンパ球の中で、NKT 細胞は極めて限られた抗原受容体を発現するという点で特殊な存在であり、その発生・分化に強い抗原刺激が必要と考えられている。我々は DOCK2 欠損マウスの胸腺、脾臓、肝臓のいずれにおいても NK1.1⁺TCRαβ⁺ T 細胞が著減することを見い出した。Vα14 NKT 細胞のリガンドとなるαGalCer を投与すると、野生型マウスでは IL-4、IFN-γ の産生が認められるが、DOCK2 欠損マウスでは、検出限界以下であった。DOCK2 欠損マウスにおいても CD1d の発現は正常であり、その CD4⁺CD8⁺ 胸腺細胞は NKT 細胞ハイブリドマ (PN32D3) を野生型マウスと同程度に活性化した。また、β2 ミクログロブリン欠損マウスを用いた骨髓キメラマウスの解析から、NKT 細胞の分化・発生に

において DOCK2 の発現は CD1d 陽性細胞には必要ないが、選択される T 前駆細胞には必須であることが明らかになった。以上のことより DOCK2 は TCR の抗原認識を介して NKT 細胞の分化を制御していると考えられた。

e. 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。

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. 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.
2. 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.
3. Kunisaki Y, Nishikimi A, Tanaka Y, Takii R, Noda M, Inayoshi A, Watanabe K, Sanematsu F, Sasazuki T, Sasaki T, Fukui Y. 2006
DOCK2 is a Rac activator that regulates motility and polarity during neutrophil chemotaxis.
J. Cell Biol., 174: 647-652.
4. Shulman Z, Pasvolosky R, Woolf E, Grabovsky V, Feigelson SW, Erez N, Fukui Y, Alon R. 2006
DOCK2 regulates chemokine-triggered lateral lymphocyte motility but not transendothelial migration.
Blood, 108: 2150-2158.
5. Kunisaki Y, Tanaka Y, Sanui T, Inayoshi A, Noda M, Nakayama T, Harada M, Taniguchi M, Sasazuki T, Fukui Y. 2006
DOCK2 is required in T cell precursors for development of V α 14 natural killer T (NKT) cells.

J. Immunol., 176: 4640-4645.

6. García-Bernal D, Sotillo-Mallo E, Nombela-Arrieta C, Samaniego R, Fukui Y, Stein JV, Teixidó J. 2006
DOCK2 is required for chemokine-promoted human T lymphocyte adhesion under shear stress mediated by the integrin $\alpha 4\beta 1$.
J. Immunol., 177: 5215-5225.
7. Hundt M, Tabata H, Jeon M-S, Hayashi K, Tanaka Y, Krishna R, De Giorgio L, Liu Y-C, Fukata M, Altman A. 2006.
Impaired activation and localization of LAT in anergic T cells as a consequence of a selective palmitoylation defect.
Immunity, 24: 513-522.

総説

1. 福井宣規 . 2006
好中球遊走を制御する Rac 活性化分子 DOCK2 .
実験医学 , 24: 3269-3276.

学会発表

1. 福井 宣規 , 國崎 祐哉 , 錦見 昭彦 . 2006年12月11-13日 .
DOCK2 is a Rac activator critical for neutrophil chemotaxis.
第36回日本免疫学会総会 シンポジウム . 大阪 .
2. 福井 宣規 . 2006年12月6-8日 .
CDMファミリー分子DOCK2による好中球遊走の制御機構 .
日本分子生物学会2006フォーラム シンポジウム . 名古屋 .
3. 田中 芳彦 , 錦見 昭彦 , 國崎 祐哉 , 後藤 和人 , 稲吉 あゆみ , 福井 宣規 . 2006年12月11-13日 .
アレルギー性免疫応答制御における細胞骨格制御分子DOCK2の役割 .
第36回日本免疫学会総会 . 大阪 .
4. 後藤 和人 , 田中 芳彦 , 錦見 昭彦 , 國崎 祐哉 , 福井 宣規 .
2006年12月11-13日 .
細胞骨格制御分子DOCK2は形質細胞様樹状細胞の遊走を制御する .
第36回日本免疫学会総会 . 大阪 .
5. Akihiko Nishikimi, Yuya Kunisaki, Yoshihiko Tanaka, Ryosuke Takii, Ken-ichi Watanabe, Takehiko Sasazuki, Yoshinori Fukui. 2006年12月6-8日 .
DOCK2 is a Rac activator that regulates motility and polarity during neutrophil chemotaxis.
日本分子生物学会2006フォーラム . 名古屋 .
6. Fan Pan, Laurie M. Erickson, Mei-Shiang Jang, Terukazu Sanui, Yuya Kunisaki, Takehiko Sasazuki, Masakazu Kobayashi, Kouichi Tamura, Yoshinori Fukui, and Hongsi Jiang. 2006 年 7 月 22-27 日 .
DOCK2 is critical for alloreactive T cell homing, activation, and intragraft infiltration during transplant rejection.
World Transplantation Congress. Boston, USA

免疫制御学分野

Division of Molecular and Cellular Immunology

動向

平成18年度は多数の卒業生、学位取得者を輩出した。平成18年4月に盛裕之君がThe University of Michiganへ、一昨年度卒業の木村丹香子さんがNIHへ留学に旅立った。平成18年度は吉賀、西中村、鳥巢、白石、谷口、吉村、路の7名が博士号学位を、吉田、橋本が修士号を修得した。吉賀、西中村、谷口は学振PDとしてさらに研究に従事し白石は佐賀大学医学部助手として赴任、路は中国に帰国した。田中、鳥巢、山内、吉村が臨床に戻り、田中、山内は学位論文を準備中である。

本年度は特筆すべき研究成果として SOCS による発癌制御を中心に報告する。

A. SOCS3 と発癌

癌細胞においては STAT3 の恒常的な活性化が一般的に認められる。STAT3 は多くのサイトカインによって活性化されるが、癌細胞での STAT3 の恒常的な活性化機構は様々である。STAT3 を活性化することが知られているサイトカインは IL-6 が著名である。IL-6 は一般的には炎症性サイトカインとして知られておりマクロファージやストローマ細胞等さまざまな細胞から分泌される。IL-6 の受容体は IL-6 と結合する IL-6 受容体 α 鎖とシグナルを伝える gp130 のヘテロオリゴマーからなる。SOCS1 と SOCS3 は gp130 の重要な負の制御因子である。SOCS1, SOCS3 は SH2 ドメインを有し、SOCS1 は JAK に直接結合し、SOCS3 はチロシンリン酸化された Y759 に結合する。

IL-6 などのサイトカインはオートクライン、パラクライン機構に癌細胞において STAT3 を活性化する。それ以外にも src や Erb2 などの恒常的に活性化されたチロシンキナーゼによっても活性化される。STAT3 は増殖の促進と抗アポトーシスに寄与すると考えられている。逆に多くの癌で STAT3 を抑制すると癌細胞は増殖を止めたりアポトーシスに陥ったりする。例えば悪性線維性組織球腫(MFH)は IL-6 を自己分泌しており、STAT3 が恒常的に活性化している。我々は JAK 阻害剤(AG490)、もしくはドミナントネガティブ STAT3(dnSTAT3)の強制発現によって MFH 細胞の増殖が強力に抑制されることを報告した(文献34)。癌細胞における STAT3 の標的遺伝子は c-myc, cyclinD1, cyclinE1 などの細胞周期関連遺伝子, bcl-XL などの抗アポトーシス遺伝子、さらに VEGF などの血管新生因子, TIMP-1 などの組織再編因子が知られている。STAT3 は p53 の転写を抑制することも報告されている。これらはすべて癌の進展にプラスに作用する因子と考えられる。またわれわれは TGF β 1 も STAT3 の標的遺伝子であることを発見した(文献23, 25)。TGF β は繊維化の促進や免疫系の抑制によって癌の進展に寄与するものと考えられる。

一方癌における STAT3 の恒常的な活性化機構は十分解明されていない。最近ヒトの肝細胞癌患者において SOCS3 遺伝子の DNA メチル化とその発現減少が報告されている。我々は RT-PCR 法とウエスタンブロットを用いて、肝癌患者では確かに SOCS3 の発現が減少していることを確認した(文献18)。しかし SOCS3 遺伝子の DNA メチル化の頻度は 30%以下であり、SOCS3 の発現低下の

分子機構は十分解明されていない。

次に我々は SOCS3 の発現低下の肝細胞癌への影響を調べるために、肝臓特異的 SOCS3 欠損マウスの解析を行った。肝臓における SOCS3 の欠損は通常は肝機能に影響を与えなかった。しかし ConA や化学炎症性物質により肝炎を誘導すると、STAT3 の過剰な活性化が引き起こされ、STAT3 の標的遺伝子である VEGF, c-myc, cyclin-D1, Bcl-X などの癌促進に作用する遺伝子群の発現が促進された。このとき肝細胞は肝炎によるアポトーシスに抵抗性を示した。また肝臓特異的 SOCS3 欠損マウスは化学発癌剤による肝癌の発生が野生型に比べて増加していた（文献 18）。以上の結果より我々は SOCS3 が欠失するとそれだけで癌引き起こすわけではないが、SOCS3 は癌化の頻度を上げたり癌の進展を促す癌抑制遺伝子であることを明らかにした。

B. SOCS1 と炎症性発癌

近年、感染に由来する炎症と発癌の関係が注目されている。ヒトの癌の 20% 以上は炎症が関与するとされるほどである。我々は久留米大学内科学教室および九州大学外科学教室の協力を得て C 型肝炎患者、および肝がん患者約 200 名を対象に同意を得た生検サンプルを用いて SOCS の発現レベル、遺伝子のメチル化、STAT の活性化について検討した。その結果、先に述べたように癌部では SOCS3 の低発現と STAT3 の強い活性化が認められたが、逆に癌部では STAT1 の強い活性化が検出された（文献 18）。肝がん部での遺伝子メチル化は約 65% であり他の報告とほぼ一致した。ところが肝炎を伴わない正常な肝臓でのメチル化が 15% 程度であるのに対して、がんにはたらない C 型肝炎患者肝臓でも 50% 程度の遺伝子メチル化が観察された。このことから SOCS1 遺伝子のメチル化、そしておそらく発現低下は肝炎の進行とともに増加し STAT1 の活性と相関することが示唆された。

そこでジエチルニトロソアミン（DEN）によるマウス肝臓がんモデルを用いて 2 対の SOCS1 遺伝子のうち 1 本を欠損する SOCS1-/+（ヘテロ）マウスと野生型マウス（SOCS1+/+）を用いて肝臓がんの発生率を比較した。その結果ヘテロマウスのほうが野生型マウスよりも 3 倍程度肝臓がんの発症が多かった（昨年報告）。この結果より SOCS1 遺伝子の発現低下が肝がんに関与することが明らかとなった。

しかし肝臓特異的な SOCS1 欠損マウスは自然に肝癌を発症するわけではない。肝炎、肝癌に至るためには何らかの感染源が必要と思われる。そこで長期生存可能な SOCS1 欠損マウスを作製し観察を試みた。T 細胞と B 細胞にのみ SOCS1 遺伝子を発現させそれ以外の臓器では SOCS1 の発現のないマウス（SOCS1-/-Tg マウス）は 1 年程度生存可能であった。しかし 2 ヶ月齢程度で大腸炎を発症し、6 ヶ月齢以上を経過した SOCS1-/-Tg マウスにおいて 7 割以上の確立で大腸がんが発症することを見出した。これらのがんでは β カテニンが核内に蓄積され p53 の突然変異も観察された。しかし IFN γ -/-SOCS1-/- マウスや IFN γ 抗体処理マウスではそのような腫瘍を呈しなかった。SOCS1-/-Tg マウスの大腸では STAT1 の過剰な活性化が認められた。STAT1 の標的発がん性関連遺伝子として COX-2 と iNOS が考えられる。これらの酵素は炎症の促進や NO 産生に関与し DNA 損傷に寄与すると考えられる。SOCS1-/- マウス由来の細胞では IFN の刺激無しに COX-2 や iNOS の発現が高かった。これらのデータは SOCS1 が IFN γ /STAT1 経路の調節を行うことで慢性炎から発生するがんを予防するユニークながん抑制遺伝子であることを強く示唆する（文献 21）。

C. 肝臓における SOCS3 の糖脂質代謝における影響

炎症はインスリン抵抗性に関与し、インスリン抵抗性は代謝におけるホメオスタシスの異常を来し糖尿病の誘因となっている。SOCS3 は TNF α や IL-6 などの炎症性サイトカインによって誘導され、肝臓や脂肪細胞における炎症によるインスリン抵抗性に関わると報告されてきた。しかしながら、遺伝学的にインスリン抵抗性に SOCS3 が関わることは示されていない。そこで、我々は肝臓特異的な SOCS3 欠損マウスを作製し、インスリン感受性に関し検討した。これまでの予想通り、肝臓での SOCS3 欠損はインスリン感受性を改善した。SOCS3 は IRS1,2 のプロテオソームによる分解に関与しているとされてきた。これを確認するためにマウスから肝細胞を単離培養し、IL-6 またはインスリンで 16 時間前処理した後インスリンでの刺激を行った。野性型肝細胞では IL-6 またはインスリンによる前処理で SOCS3 のタンパク量は増加し、IRS1 のタンパク量は減少し、インスリンによる IRS1 や Akt のリン酸化は抑制されていた。一方、肝臓特異的 SOCS3 欠損マウスから単離した初代肝細胞ではインスリンによる IRS-1 や Akt のリン酸化は SOCS3 欠損した肝細胞で増強していた。さらに IL-6 やインスリン前処理による IRS1 のタンパク量および IRS1 や Akt のリン酸化の減少効果は軽度であった。これらの結果は以前から提唱されていたように、SOCS3 が IRS1 の E3 ユビキチンリガーゼとして機能するとする仮説に合致する。

しかしながら驚くべきことに、肝臓特異的 SOCS3 欠損マウスは高齢になるにつれ肥満と全身性のインスリン抵抗性を来した。インスリンシグナルは筋肉において抑制されており、肝臓での SOCS3 の欠損が他の臓器のインスリン感受性に作用していることが考えられた。抗炎症薬であるサリチル酸投与により高齢の肝臓特異的 SOCS3 欠損マウスのインスリン抵抗性は改善し、このマウスの表現形に炎症状態が関わっていることが示された。肝臓特異的 SOCS3 欠損マウスの肝臓では STAT3 が過剰に活性化しており、急性期タンパクが発現亢進していた。そしてサリチル酸による治療で改善していた。我々は肝臓において SOCS3 はインスリン抵抗性の原因となるが、肝臓の SOCS3 が無い状態では慢性炎症の様な状態になり、全身のインスリン抵抗性を生じると、結論づけた(文献6)。

D. Sprouty4 欠損マウスの作製と解析

Sprouty 遺伝子はチロシンキナーゼ型受容体シグナルを抑制する細胞膜関連タンパク質である。ショウジョウバエ Sprouty の 4 つのオルソログ(Sprouty1-4)が哺乳類では同定されている。哺乳類 Sprouty (mSprouty)の生体内での機能を解明するためにノックアウト(KO)モデルが作られている。Sprouty2 欠損マウスは我々の解析の結果、腸や食道の神経過形成により食道アカラシア、拡張した食道、腸の偽閉塞、消化運動系の生理的異常を示すことが明らかにされた。これらの表現型は GDNF に依存しており、Sprouty2 は GDNF/RET シグナルを負に制御していることを示している。今回の研究では Sprouty4 欠損マウスを作製し、特徴付けを行った。Sprouty4 欠損マウスの大部分は生直後に下顎欠損のため死亡するが、残りは生存可能で生殖能力があった。大部分の Sprouty4 欠損マウスは発育遅延を呈し、ほぼ全てに合指症・多指症がみられた。Sprouty4 欠損胎仔線維芽細胞(MEFs)において、FGF に対する ERK 活性化は遅延したが、EGF に対する ERK 活性化の遅延はみられなかった。Sprouty2 と Sprouty4 の 2 重欠損マウスは胎生致死であり、頭蓋顔面、肢、肺の形態形成に重篤な異常を認めた。これらの知見は胚発生と FGF シグナルにおける、Sprouty2 と Sprouty4 の機能が重複的であるとともに非重複的でもあることを示唆している(文

献10).

E. Spred はリンパ管の正常な発生に必須である

Spred/Sprouty ファミリー分子はRas/Raf に結合して、ERK/MAP kinase 経路を抑制する調節因子である。Spred は哺乳類では3種類報告されており、我々はSpred1, Spred2 それぞれのノックアウト(KO)マウスを作製し、解析を行ってきた。Spred1 はマスト細胞や好酸球などの末梢血液細胞の増殖を、Spred2 は胎児期の血球発生を負に制御することを示した。しかし特に胎児期においてSpred1, Spred2 は似通った発現パターンを示すことから相補的に働くことが予想された。そこでSpred1, Spred2 のダブルノックアウト(DKO)マウスを作製した。Spred1/2DKO マウスは胎生12.5日から15.5日にかけて100%致死であり、著明な出血、浮腫を認めた。免疫組織化学染色により詳細に検討したところ、リンパ管マーカー陽性の拡張した管腔を認め、同部よりの出血を認めた。一部にリンパ管、血管マーカーともに陽性の管腔を認めたが、血管系の明らかな異常は認められなかった。そこでリンパ管発生の異常を疑い、リンパ管発生に必須の VEGF-C/VEGFR-3 のシグナルについて検討した。VEGFR-3 安定発現 293 T 細胞に Spred1 を過剰発現したところ、VEGF-C 刺激による ERK のリン酸化が抑制された。次に WT および Spred1/2DKO マウス胎児線維芽細胞(MEF)を用いて VEGFR-3 の安定発現株を作製し VEGF-C 刺激を行ったところ、WT-MEF に比べ、Spred1/2-DKO-MEF で ERK のリン酸化が著しく増強し、かつ VEGF-C による増殖促進効果も増強されていた。さらに WT および Spred1/2DKO マウスの胎児を VEGF-C で直接刺激したところ、DKO のリンパ管内皮細胞での ERK のリン酸化が増強していた。さらにヒトリンパ管内皮細胞において、Spred1, Spred2 の発現を RT-PCR 法で確認した。以上の結果より、Spred はリンパ管内皮細胞に発現して VEGF-C/VEGFR-3 のシグナルの抑制分子として機能しており、胎児期のリンパ管の発生に必須の分子であると考えられた(文献1)。

業績目録

原著論文

1. Taniguchi K, Kohno RI, Ayada T, Kato R, Ichiyama K, Morisada T, Oike Y, Yonemitsu Y, Maehara Y, Yoshimura A.
Spreds are essential for embryonic lymphangiogenesis by regulating vascular endothelial growth factor receptor-3 signaling.
Mol Cell Biol. 2007 in press
2. Zhou H, Miki R, Eeva M, Fike FM, Seligson D, Yang L, Yoshimura A, Teitell MA, Jamieson CA, Cacalano NA.
2007.
Reciprocal Regulation of SOCS 1 and SOCS3 Enhances Resistance to Ionizing Radiation in Glioblastoma Multiforme.
Clin Cancer Res. 13(8), 2344-2353.
3. Nishinakamura H, Minoda Y, Saeki K, Koga K, Takaesu G, Onodera M, Yoshimura A, Kobayashi T.
An RNA-binding protein {alpha}CP-1 is involved in the STAT3-mediated suppression of NF-{kappa}B transcriptional activity.

- Int Immunol. 2007 in press
4. Sekine Y, Tsuji S, Ikeda O, Kakisaka M, Sugiyama K, Yoshimura A, Matsuda T. 2007.
Leukemia inhibitory factor-induced phosphorylation of STAP-2 on tyrosine-250 is involved in its STAT3-enhancing activity.
Biochem Biophys Res Commun. 356(2), 517-22.
 5. 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 PPAR{gamma} mRNA levels.
Mol Endocrinol. 2007 in press
 6. Torisu T, Sato N, Yoshiga D, Kobayashi T, Yoshioka T, Mori H, Iida M, Yoshimura A. 2007.
The dual function of hepatic SOCS3 in insulin resistance in vivo.
Genes Cells. 12(2), 143-54.
 7. 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 in press
 8. Robinson GW, Pacher-Zavisin M, Zhu BM, Yoshimura A, Hennighausen L. 2007.
Socs 3 modulates the activity of the transcription factor Stat3 in mammary tissue and controls alveolar homeostasis.
Dev Dyn. 236(3), 654-61.
 9. Ozawa Y, Nakao K, Shimazaki T, Shimmura S, Kurihara T, Ishida S, Yoshimura A, Tsubota K, Okano H. 2007.
SOCS3 is required to temporally fine-tune photoreceptor cell differentiation.
Dev Biol. 303(2), 591-600.
 10. Taniguchi K, Ayada T, Ichiyama K, Kohno R, Yonemitsu Y, Minami Y, Kikuchi A, Maehara Y, Yoshimura A. 2007.
Sprouty2 and Sprouty4 are essential for embryonic morphogenesis and regulation of FGF signaling.
Biochem Biophys Res Commun. 352(4), 896-902.
 11. Yajima T, Yasukawa H, Jeon ES, Xiong D, Dörner A, Iwatate M, Nara M, Zhou H, Summers-Torres D, Hoshijima M, Chien KR, Yoshimura A, Knowlton KU. 2006.
Innate defense mechanism against virus infection within the cardiac myocyte requiring gp130-STAT3 signaling.
Circulation. 114(22), 2364-73.
 12. Lu Y, Fukuyama S, Yoshida R, Kobayashi T, Saeki K, Shiraishi H, Yoshimura A, Takaesu G. 2006.
Loss of SOCS3 gene expression converts STAT3 function from anti-apoptotic to pro-apoptotic.
J Biol Chem. 281(48), 36683-90.
 13. Yoshimura T, Takeda A, Hamano S, Miyazaki Y, Kinjyo I, Ishibashi T, Yoshimura A, Yoshida H. 2006.
Two-sided roles of IL-27: induction of Th1 differentiation on naive CD4⁺ T cells versus suppression of proinflammatory cytokine production including IL-23-induced IL-17 on activated CD4⁺ T cells partially through STAT3-dependent mechanism.
J Immunol. 177(8), 5377-85.
 14. Shiraishi H, Okamoto H, Yoshimura A, Yoshida H. 2006.
ER stress-induced apoptosis and caspase-12 activation occurs downstream of mitochondrial apoptosis involving Apaf-1.
J Cell Sci. 119(Pt 19), 3958-66
 15. Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, Huang E, Tato CM, Johnson LM, Villarino AV, Huang Q, Yoshimura A, Sehy D, Saris CJ, O'Shea JJ, Hennighausen L, Ernst M, Hunter CA. 2006.

- Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system.
Nat Immunol. 7(9), 937-45.
16. Kievit P, Howard JK, Badman MK, Balthasar N, Coppari R, Mori H, Lee CE, Elmquist JK, Yoshimura A, Flier JS. 2006.
 Enhanced leptin sensitivity and improved glucose homeostasis in mice lacking suppressor of cytokine signaling-3 in POMC-expressing cells.
Cell Metab. 4(2), 123-32
 17. Takaki H, Minoda Y, Koga K, Takaesu G, Yoshimura A, Kobayashi T. 2006.
 TGF-beta1 suppresses IFN-gamma-induced NO production in macrophages by suppressing STAT1 activation and accelerating iNOS protein degradation.
Genes Cells. 11(8), 871-82.
 18. Ogata H, Kobayashi T, Chinen T, Takaki H, Sanada T, Minoda Y, Koga K, Takaesu G, Maehara Y, Iida M, Yoshimura A. 2006.
 Deletion of the SOCS3 gene in liver parenchymal cells promotes hepatitis-induced hepatocarcinogenesis.
Gastroenterology. 131(1), 179-93.
 19. Okada S, Nakamura M, Katoh H, Miyao T, Shimazaki T, Ishii K, Yamane J, Yoshimura A, Iwamoto Y, Toyama Y, Okano H. 2006.
 Conditional ablation of Stat3 or Socs3 discloses a dual role for reactive astrocytes after spinal cord injury.
Nat Med. 12(7), 829-34.
 20. Yoshimura A. 2006.
 Signal transduction of inflammatory cytokines and tumor development.
Cancer Sci. 97(6), 439-47. Review.
 21. Hanada T, Kobayashi T, Chinen T, Saeki K, Takaki H, Koga K, Minoda Y, Sanada T, Yoshioka T, Mimata H, Kato S, Yoshimura A. 2006.
 IFN-gamma-dependent, spontaneous development of colorectal carcinomas in SOCS1-deficient mice.
J Exp Med. 203(6), 1391-7.
 22. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, Inagaki Y, Takenaka K, Jinnouchi Y, Yoshida Y, Matsuura T, Narama I, Motomiya Y, Takeuchi M, Inoue H, Yoshimura A, Bucala R, Imaizumi T. 2006.
 Pigment epithelium-derived factor inhibits advanced glycation end product-induced retinal vascular hyperpermeability by blocking reactive oxygen species-mediated vascular endothelial growth factor expression.
J Biol Chem. 281(29), 20213-20.
 23. Kinjo I, Inoue H, Hamano S, Fukuyama S, Yoshimura T, Koga K, Takaki H, Himeno K, Takaesu G, Kobayashi T, Yoshimura A. 2006.
 Loss of SOCS3 in T helper cells resulted in reduced immune responses and hyperproduction of interleukin 10 and transforming growth factor-beta 1.
J Exp Med. 203(4), 1021-31.
 24. Yoshida T, Hisamoto T, Akiba J, Koga H, Nakamura K, Tokunaga Y, Hanada S, Kumemura H, Maeyama M, Harada M, Ogata H, Yano H, Kojiro M, Ueno T, Yoshimura A, Sata M. 2006.
 Spreds, inhibitors of the Ras/ERK signal transduction, are dysregulated in human hepatocellular carcinoma and linked to the malignant phenotype of tumors.
Oncogene. 25(45), 6056-66.

25. Ogata H, Chinen T, Yoshida T, Kinjyo I, Takaesu G, Shiraishi H, Iida M, Kobayashi T, Yoshimura A. 2006.
Loss of SOCS3 in the liver promotes fibrosis by enhancing STAT3-mediated TGF-beta1 production.
Oncogene. 25(17), 2520-30.
26. Chinen T, Kobayashi T, Ogata H, Takaesu G, Takaki H, Hashimoto M, Yagita H, Nawata H, Yoshimura A. 2006.
Suppressor of Cytokine Signaling-1 Regulates Inflammatory Bowel Disease in Which Both IFNgamma and IL-4 Are Involved.
Gastroenterology. 130, 373-388.
27. Moriyama M, Matsukawa A, Kudoh S, Takahashi T, Sato T, Kano T, Yoshimura A, Kojima M. 2006.
The neuropeptide neuromedin U promotes IL-6 production from macrophages and endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun*. 341(4), 1149-1154.
28. Ni R, Ihara K, Miyako K, Takemoto M, Ishimura M, Kohno H, Matsuura N, Yoshimura A, Hara T. 2006.
Association study of polymorphisms in SOCS family genes with type 1 diabetes mellitus.
Int J Immunogenet. 33, 7-10.
29. Kobayashi T, Takaesu G, Yoshimura A. 2006.
Mal-function of TLRs by SOCS.
Nat Immunol. 7, 123-124.
30. Yamada S, Tsukada J, Yoshimura A, Kubo M. 2006.
Computer simulation of the role of SOCS family protein in helper T cell differentiation.
Int Immunol. 18, 335-345.
31. Okumura AJ, Hatsuzawa K, Tamura T, Nagaya H, Saeki K, Okumura F, Nagao K, Nishikawa M, Yoshimura A, Wada I. 2006.
Involvement of a novel Q-SNARE, D12, in quality control of endomembrane system.
J Biol Chem. 281, 4495-4506.
32. Qasimi P, Ming-Lum A, Ghanipour A, Ong CJ, Cox ME, Ihle J, Cacalano N, Yoshimura A, Mui AL. 2006.
Divergent mechanisms utilized by SOCS3 to mediate interleukin-10 inhibition of tumour necrosis factor alpha and nitric oxide production by macrophages.
J Biol Chem. 281(10), 6316-24.
33. Moriyama M, Fukuyama S, Inoue H, Matsumoto T, Sato T, Tanaka K, Kinjyo I, Kano T, Yoshimura A, Kojima M. 2006.
The neuropeptide neuromedin U activates eosinophils and is involved in allergen-induced eosinophilia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 290(5), L971-7.
34. Shouda T, Hiraoka K, Komiya S, Hamada T, Zenmyo M, Iwasaki H, Isayama T, Fukushima N, Nagata K, Yoshimura A. 2006.
Suppression of IL-6 production and proliferation by blocking STAT3 activation in malignant soft tissue tumor cells.
Cancer Lett. 231, 176-184.
35. Inagaki-Ohara K, Sasaki A, Matsuzaki G, Ikeda T, Hotokezaka M, Chijiwa K, Kubo M, Yoshida H, Nawa Y, Yoshimura A. 2006.
Suppressor of cytokine signalling-1 in lymphocytes regulates the development of intestinal inflammation in mice.
Gut. 55, 212-219.
36. Minoda Y, Saeki K, Aki D, Takaki H, Sanada T, Koga K, Kobayashi T, Takaesu G, Yoshimura A. 2006.
A novel Zinc finger protein, ZCCHC11, interacts with TIFA and modulates TLR signaling.
Biochem Biophys Res Commun. 344(3), 1023-30.

37. Sekine Y, Yumioka T, Yamamoto T, Muromoto R, Imoto S, Sugiyama K, Oritani K, Shimoda K, Minoguchi M, Akira S, Yoshimura A, Matsuda T. 2006.
Modulation of TLR4 Signaling by a Novel Adaptor Protein Signal-Transducing Adaptor Protein-2 in Macrophages.
J Immunol. 176, 380-389.
38. Hamazaki Y, Fujita H, Kobayashi T, Choi Y, Scott HS, Matsumoto M, Minato N. 2007.
Medullary thymic epithelial cells expressing Aire represent a unique lineage derived from cells expressing claudin.
Nat Immunol. 8(3), 304-11.
39. King CG, Kobayashi T, Cejas PJ, Kim T, Yoon K, Kim GK, Chiffoleau E, Hickman SP, Walsh PT, Turka LA, Choi Y. 2006.
TRAF6 is a T cell-intrinsic negative regulator required for the maintenance of immune homeostasis.
Nat Med. 12(9), 1088-92.
40. Takaesu G, Kang JS, Bae GU, Yi MJ, Lee CM, Reddy EP, Krauss RS. 2006.
Activation of p38alpha/beta MAPK in myogenesis via binding of the scaffold protein JLP to the cell surface protein Cdo.
J Cell Biol. 175(3), 383-8.

総説

1. 森山麻衣子, 佐藤貴弘, 吉村昭彦, 児島将康. 2006.
炎症における神経ペプチド, ニューロメジン(NMU)の役割.
臨床免疫 45(4), 463-467.
2. 古賀敬子, 義田泰昌, 橋本雅之, 吉田亮子, 吉村昭彦. 2006.
JAK/STAT 系シグナル伝達と癌.
実験医学 Vol.24 No10(増刊), 36-45.
3. 佐藤直市, 吉村昭彦. 2006.
肥満による慢性炎症とインスリン抵抗性の分子機構.
Adiposcience Vol.3 No.2, 129-137.
4. 鳥巢剛弘, 佐藤直市, 吉村昭彦. 2006.
レプチンのシグナル伝達経路と SOCS3 による制御.
CLINICAL NEUROSCIENCE 別冊 Vol.24 No.8, 906-910.
5. 吉村昭彦, 高木宏美, 古賀敬子, 小林隆志. 2006.
自己免疫疾患とシグナル伝達制御.
遺伝子医学 MOOK 6, 198-205.
6. 吉村昭彦, 小林隆志, 知念孝敏. 2006.
SOCS 遺伝子による炎症と T 細胞分化の制御.
Medical Science Digest Vol.32(12), 20(534)-23(537).

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

抗 CD20 抗体による B 細胞除去療法の関節リウマチ (RA)における有効性、RA に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 RA 患者滑膜の RT-PCR-SSCP 法による解析により、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、また滑膜内 B 細胞のあるものは滑膜内を活発に移動している可能性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 $\text{IgM}^+\text{IgD}^+\text{CD27}^+\text{B}$ 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。現在滑膜内に marginal zone B 細胞類似の B 細胞が実際に存在するか解析中である。また滑膜内で段階的に変異を蓄積している IgA、IgG 発現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クラススイッチが起きているか否か、また体細胞突然変異蓄積との時間的關係についても解析している。

B．TNF リガンドファミリーAPRIL が腫瘍免疫に拘わる機能の解析

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 は抗原提示細胞の他、ある種の悪性腫瘍表面にも発現しており、腫瘍と免疫系の関連を検討する上で極めて興味深い。我々は、C57BL/6 マウス由来のリンパ腫細胞 EL-4 に APRIL を高発現する形質転換株を作成し、これを同マウスに接種した。組織における浸潤細胞を野生型細胞株のそれと対比したところ、APRIL 形質転換株を接種したマウスには多数のリンパ球が浸潤していた。現在腫瘍浸潤細胞の形質を免疫染色で検討している。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、まずは同系の肺がん細胞株 LLC を接種し、APRIL null background での組織的免疫的变化を検討することで腫瘍免疫にかかわる影響をさらに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、キメラズムの解析、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)の発現調節機構

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と推測されるが、その機能はよく分かっていない。肝細胞、マクロファージなどに極めて高い発現を認める。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した。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おり、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. 代替医療探索研究の推進

九州大学病院統合に伴い、別府先進医療センターの研究機能の一翼を担うため、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」の形成をめざしている。抗酸化作用を有する健康補助食品の効果に関する科学的エビデンス構築のため、臨床研究を開始している。

業績目録

原著論文

1. B.H. Chang, L. Li, A. Paul, S. Taniguchi, V. Nannegari, V. Nannegari, W.C. Heird, L Chan. 2006
Protection against fatty liver but normal adipogenesis in mice lacking adipose differentiation-related proteins.
Mol Cell Biol. 26, 1063-76.
2. M. Hatakenaka, H. Soeda, T. Okafuji, H. Yabuuchi, S. Shiokawa, J. Nishimura, H. Honda. 2006.
Steroid Myopathy : Evaluation of fiber atrophy with T2 relaxation time –rabbit and human study.
Radiology. 238, 650-657.
3. Y. Tachikawa, T. Matsushita, Y. Abe, S. Sakano, M. Yamamoto, J. Nishimura, H. Nawata, R. Takayanagi, K. Muta. 2006
Pivotal role of Notch signaling in regulation of erythroid maturation and proliferation.
Eur J Haematol. 77:273-281
4. 藤森 尚, 茶園智人, 本村誠一, 谷口 晋, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 西村純二, 吉河康二. 2006
両下肢壊疽を呈した悪性関節リウマチの一例.
九州リウマチ 25, 140-145.
5. 合田英明、秋岡博子、末廣 悟、棕園 宏、白土基明、谷口 晋、塩川左斗志、生山祥一郎、西村純二、高下光広. 2006.
一次性結核性胸骨骨髓炎を発症した関節リウマチの一例.
九州リウマチ. 26, 41-45.

総説

1. 生山祥一郎. 2006.
急性化膿性甲状腺炎
日本臨床（別冊）内分泌症候群（第2版）412-414
2. 生山祥一郎. 2006.
ウエスト・サイズ物語
（社）日本糖尿病協会 九州地方連絡協議会機関誌 「弥生」

著書

1. 西村純二. 2007
慢性骨髓性白血病
主要病態・主要疾患の論文集 2008
p1161-1168
2. 西村純二. 2006
温泉の生体作用と関節疾患の温泉治療．水-基礎・ヘルスケア・環境浄化・先端応用技術- （大森豊明 編）p244-252
技術教育出版社, 東京

3. 西村純二. 2006
血液・造血管疾患、白血球系の異常. Year Note 内科・外科等編 2007 (16th edition)
G-37-56
メディク メディア, 東京
4. 生山祥一郎
副甲状腺機能亢進症
内科学
2195-2199、医学書院、東京、2006
5. 生山祥一郎
ホルモン受容体異常症
内科学
2276-2281、医学書院、東京、2006

学会発表

国際学会

1. Ikuyama S, Wei P, Gu J, Nishimura J. (2006. 6/23-6/27)
Characterization of the core promoter region of the adipose differentiation-related protein (ADRP) gene.
88th Annual Meeting of The Endocrine Society, June 23-27, 2006, Boston, USA.
2. Masami U, Suzuki J, Handa M, Kasen M, Zenimaru Y, Takahashi S, Ikuyama S, Koizumi T, Kraemer FB, Miyamori I. (2006. 9/14-9/17)
Cardiac overexpression of adipose differentiation-related protein (ADRP) leads to myocardial steatosis
42nd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes,
Copenhagen-Malmoe, Denmark-Sweden.
3. Otsuka R, Abe Y, Fujii T, Nishimura J, Muta K (2006, 12/9-12)
Mortalin-2(mthsp70/PBP74/Grp75) mediates the erythropoietin signal to stimulate growth of purified human erythroid progenitor cells.
48th Annual Meeting of American Society of Hematology, Orlando, USA

シンポジウム

1. 生山祥一郎(2006, 3/1)
男性更年期障害
オアシスクリニック、NHK 大分(TV 出演)
2. 生山祥一郎(2006, 5/12)
メタボリック・シンドローム：どのように対処すべきか？
畑病院研修会、別府
3. 生山祥一郎(2006, 9/2)
細胞内脂肪滴構成蛋白の臨床
第14回臨床糖尿病懇談会、福岡

4. 生山祥一郎(2006, 10/27)
骨粗鬆症の病態と治療のトレンド
大分県病院薬剤師会 10 月例会、大分
5. 生山祥一郎(2006, 11/20)
二次性糖尿病を見逃すな！
第 22 回大分 SDM 研究会、大分
6. 生山祥一郎(2007, 2/5)
細胞内脂肪滴構成蛋白の発現・機能の制御と病態
第 20 回肥満と糖尿病談話会、福岡
7. 高瀬恵美子，生山祥一郎，西村純二 (2006, 10/28-29)
当院における関節リウマチ患者の健康食品 / サプリメント利用の実態
第 9 回日本補完代替医療学会学術集会，大阪
8. 西村純二 (2006,10/29)
関節リウマチの治療-最近の考え方-
日本内科学会中国支部主催第 35 回生涯教育講演会，広島

国内学会

1. 大野博文，塩川左斗志，末廣 悟，合田英明，秋岡博子，豊田美夏，谷口 晋，
本村誠一、生山祥一郎、西村純二 (2006, 4/23-4/26).
カリニ予防目的で間欠投与していた ST 合剤により発症した無菌性髄膜炎の一例。
第 50 回日本リウマチ学会総会，長崎。
2. 秋岡博子，谷口 晋，本村誠一，塩川左斗志，生山祥一郎，西村純二 (2006, 5/20)
持効型インスリンとグリニドあるいは α -GI の併用療法について
第 273 回日本内科学会九州地方会，熊本
3. 塩川左斗志，西村純二 (2006,7/26)
関節リウマチ関節滑膜内 IgM+IgD+memoryB 細胞のクローナリティーの解析
第 6 回西日本骨・関節関連疾患懇話会，福岡
4. 本村誠一，大野博文，吉河康二，西村純二 (2006,10/6-10/8)
非血縁同種骨髄移植 3 年後に致死性的ヘルペス肝炎を発症した慢性骨髄性白血病の
一例
第 68 日本血液学会 第 48 回日本臨床血液学会，福岡
5. 大庭功一，塩川左斗志，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 (2006,11/19)
FDG-PET/CT にて診断された高安動脈炎の 1 例
第 275 回日本内科学会九州地方会，大分
6. 魏 平、谷 剣秋、谷口 晋、西村純二、生山祥一郎 (2006, 5/19-5/21)
細胞内脂肪滴蛋白 adipose differentiation-related protein(ADRP)の構成的発現にかか
わる promoter 領域の解析
第 79 回日本内分泌学会学術総会、神戸

7. 生山祥一郎、谷 剣秋、魏 平、谷口 晋、西村純二(2006, 5/25-5/27)
adipose differentiation-related protein (ADRP) の構成的発現にかかわる
promoter 領域の解析
第 4 8 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京
8. 生山祥一郎、魏 平、谷 剣秋、井口登與志、西村純二(2006, 10/13-14)
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 4 4 回日本糖尿病学会九州地方会、福岡
9. 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

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。一方で、哺乳類においては、細胞の増殖と分化、あるいは細胞増殖の停止とプログラム細胞死の誘導といった細胞運命の制御は、正常な細胞の機能や組織の恒常性を維持するための最も根幹的なメカニズムである。

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。これまでに、グアニンの酸化体である 8-oxoguanine のゲノム蓄積を抑制する MTH1, OGG1, MUTYH の欠損が自然発がん頻度の上昇をもたらすことを報告するとともに、パーキンソン病の発症にミトコンドリアにおける核酸の酸化損傷が重要な役割をもつことを明らかにした。さらに、障害を受けた脳・神経細胞における遺伝子発現の制御に関わるシグナル分子、転写因子及びその標的の解析から、神経前駆細胞の増殖・分化そして神経細胞死など「脳・神経細胞の運命決定機構」の解明を進めている。

平成 18 年度の人事異動は次の通りであった。4 月には、野中麻里（医科学専攻修士課程出身）と Nona Abolhassani（研究生）が大学院医学系学府博士課程へ進学し、猪山輝昭が大学院医学系学府博士課程へ入学した。9 月に梶谷康介を共同研究員として、10 月に鳥巢久美子を学術研究員として受入れた。9 月末に大西克典と大西陽子が米国 UTSW Medical Center に留学した。平成 19 年 3 月末で博士課程大学院生の岡素雅子、段由規彦、市川淳二が単位取得の上退学、中島めぐみが医科学専攻修士課程を修了、山田英孝が研究生を満期修了した。

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

ゲノム DNA への修飾・損傷塩基の蓄積は、遺伝情報の変化とその結果生じる突然変異やプログラム細胞死をひき起こす主要な原因の 1 つである。ゲノム DNA 中の損傷塩基は 2 つの独立した経路で生じると考えられている。ひとつは DNA 中の正常な塩基の直接の修飾によるものであり、もうひとつはヌクレオチドプール中で生じた修飾ヌクレオチドが取込まれる場合である。我々はこれまで、ゲノム DNA 中の酸化プリン塩基（8-oxoG, 2-OH-A）の除去修復酵素 OGG1, MUTYH, APEX2 とプリンヌクレオチドの酸化体、8-oxo-dGTP/8-oxo-GTP, 2-OH-dATP/2-OH-ATP の分解排除に関わる MTH1 の機能解析を進めてきた。平成 18 年度は、ヌクレオチドプール中で生じた修飾ヌク

レオチドの一種である脱アミノ化プリンヌクレオシド三リン酸の分解排除に関わる ITPase の欠損マウスの解析を進めた。また、核ゲノムとミトコンドリアゲノムに蓄積した 8-oxoG が引き起こす細胞死のメカニズムの解明を進め以下の結果を得た。

a. 酸化的脱アミノ化を受けたプリンヌクレオシド三リン酸の浄化機構

細胞内の遊離ヌクレオチドの集団をヌクレオチドプールと呼ぶ。そこにはATPや GTP,あるいはdATPなどRNA合成,あるいはDNA合成の基質となるヌクレオシド三リン酸が存在するが、これらのヌクレオチドは他の生体分子と同様に活性酸素の攻撃を受け、結果として酸化,あるいは脱アミノ化といった化学修飾を受ける。細胞内含量がもっとも多いATPは酸化的脱アミノ化によりイノシン三リン酸 (ITP) になる。ITPはATPと構造が似ているため、ATPが関与する生体反応において拮抗阻害作用を示す可能性があるが、ITPaseによりIMPに分解されることでこのような阻害効果が回避されていると考えられる。ITPase はITPに加えてdITP, XTP等、脱アミノ化プリンヌクレオシド三リン酸を分解する活性を有する。

我々はITPaseが細胞内のヌクレオチドプールの品質を維持する役割を担っていると考え、ITPaseをコードする *Itpa* 遺伝子のノックアウトマウスを作製してその表現型を調べた。*Itpa*^{+/-}マウス同士の交配で得られる仔マウスの約10%が *Itpa*^{-/-}マウスだった。この結果は、*Itpa*^{-/-}マウスはその半分以上が出生前に死亡することを意味する。生まれた *Itpa*^{-/-}マウスは、その胃にミルクを確認できるにもかかわらず成長遅延を示し生後14日前後で死亡した。*Itpa*^{-/-}マウスは運動機能障害や呼吸困難の症状を呈し、心臓の発達遅延が認められた。これらの結果から、ITPaseの欠損は細胞内ヌクレオチドプールにITPの蓄積をきたし、その結果心臓障害などを引き起こすことが示唆された。

b. 核とミトコンドリアゲノムへの酸化塩基の蓄積は独立に細胞死を誘発する

細胞ゲノムにおける 8-oxoguanine (8-oxoG) をはじめとする酸化損傷の蓄積は、細胞死を引き起こし、神経変性疾患などの原因となる可能性が報告されている。しかしながら、核とミトコンドリアゲノムのいずれに蓄積した損傷が細胞死を引き起こすのか、またどのようなメカニズムで細胞死を引き起こすのかいまだ明らかではない。我々は、DNA 中の 8-oxoG を除去する酵素 8-oxoG DNA glycosylase (OGG1)の欠損マウス胚由来線維芽細胞を樹立した。OGG1 欠損細胞に、核とミトコンドリア型のヒト OGG1 (hOGG1)の一方、あるいは両方を発現させることにより、酸化ストレス負荷後に核あるいはミトコンドリアゲノムに 8-oxoG が選択的に蓄積する系を確立した。核とミトコンドリア型 hOGG1 のいずれか一方のみを発現している細胞は OGG1 欠損細胞より高い酸化ストレス抵抗性を獲得していたが、両方を発現する細胞が最も高い抵抗性を示した。酸化ストレス負荷後に核ゲノムにのみ 8-oxoG が蓄積した細胞では、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ (PARP)に依存した Apoptosis-inducing factor の核移行を認め、PARP 阻害剤により細胞死が抑制された。一方、酸化ストレス負荷後にミトコンドリアゲノムにのみ 8-oxoG が蓄積した細胞では、カルパイン活性化をとともなうミトコンドリアの形態異常が観察され、カルパイン阻害剤により細胞死が抑制された。以上の結果から、核及びミトコンドリアゲノム 8-oxoG が蓄積すると、それぞれ異なる経路で細胞

死が引き起こされることが明らかになった。

c. ミトコンドリアゲノムへの酸化ヌクレオチドの取り込みは細胞死を引き起こす

ヒトMutTホモログタンパク質 (hMTH1) は、dATP, dGTP, ATP, GTPの酸化体をそれぞれのーリン酸に加水分解する酸化プリンヌクレオシド三リン酸分解酵素活性を有し、これらの酸化ヌクレオチドがDNA複製や転写の際にDNA及びRNAに取り込まれて生じる遺伝情報の変化に起因する細胞障害の抑制に重要な役割を持つ。これまでに我々は、マウスMTH1欠損細胞株にhMTH1を発現させると過酸化水素による細胞の機能障害や細胞死を効率よく抑制し、その抑制効果の一部がミトコンドリア機能の保護による可能性を報告した。本研究では、一酸化窒素 (NO) に起因する核酸の酸化と細胞の機能障害や細胞死に対するhMTH1の抑制効果を解析した。NOドナー sodium nitroprusside (SNP)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ゲノムへ8-oxoGを蓄積し、ミトコンドリアの変性をともなうピクノーシスに陥った。静止期のMTH1欠損細胞ではミトコンドリアゲノムのみならず8-oxoGの蓄積が見られたが、対数増殖期の細胞と同じようなピクノーシスに陥った。これらの8-oxoGのゲノムへの蓄積とピクノーシスがhMTH1の発現で効率良く抑制されたことから、ミトコンドリアのみに選択的に局在する改変型hMTH1分子を構築し、ミトコンドリアゲノムへの8-oxoGの蓄積が選択的に抑制される細胞株を樹立した。ミトコンドリアのみに選択的に局在する改変型hMTH1分子は、SNPに曝された対数増殖期の細胞の核ゲノムへの8-oxoGの蓄積は抑制しなかったが、ミトコンドリアゲノムへの8-oxoGの蓄積とピクノーシスを効率よく抑制した。以上から、NOに起因する酸化ストレスは細胞内ヌクレオチドプールの酸化を引き起こし細胞ゲノムへの酸化塩基の蓄積を招来するが、特にミトコンドリアゲノムへの酸化ヌクレオチドの取り込みを介して細胞死を引き起こすことが明らかになった。

B. 脳・神経細胞の運命決定機構に関する研究

ほ乳類の発生過程において、神経幹細胞から生じた神経前駆細胞は胎生期から出生直後にかけて分裂増殖し、膨大な数の神経細胞を供給することによって中枢神経系を形成する。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種々の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。マウスなどのげっ歯類では、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。我々は、グルタミン酸受容体アゴニストの1つ、カイニン酸をマウスに全身投与した後、マウス海馬における核およびミトコンドリアゲノム DNA さらに細胞内 RNA への 8-oxoG の蓄積と MTH1, OGG1, FosB, ΔFosB そして NRF2 (NF-E2 related factor2) などの修復酵素や転写因子の発現を詳細に解析した。その結果、カイニン酸による興奮毒性が海馬における選択的な FosB/ΔFosB や NRF2 の一過性の活性化を引き起こすとともに、活性酸素生成と核酸の酸化、それに続く海馬神経の脱落を誘発することが明らかになった。平成 18 年度は ΔFosB の下流で発現が

誘導されるガレクチン-1 と NRF 2 を欠損するマウスを用いて解析を進めた。

a. Galectin-1 は興奮毒性後の海馬歯状回における神経新生を促進する

Galectin-1 は carbohydrate-binding domain を有する糖タンパクであり，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．しかし，galectin-1 が中枢神経のダメージに対してどのように作用するかは不明である．我々はカイニン酸の全身投与による興奮毒性障害（excitotoxic damage）時のマウス脳における galectin-1 の発現変化を調べた．その結果，カイニン酸投与一週間後のマウス海馬において galectin-1 が GFAP 陽性のアストロサイトで高発現していることが分かった．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．ウェスタンブロッティングの結果から，galectin-1 タンパク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ことが確認された．カイニン酸投与による興奮毒性障害における galectin-1 の発現増加の意義を明らかにする目的で，カイニン酸投与による神経新生誘導の程度を galectin-1 欠損マウスと野生型マウスの間で比較解析した．その結果，カイニン酸投与後に増加する歯状回顆粒細胞下層の Bromo-deoxyuridine(BrdU)陽性細胞数が 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．この結果は，カイニン酸の全身投与による興奮毒性障害時に活性化されたアストロサイトが産生する galectin-1 は，海馬における神経新生を促進していることを示すものである．

b. 転写因子 Nrf2 はカイニン酸誘発興奮毒性への脳応答を制御する

Nrf2 は，DNA 中の抗酸化物質応答配列（ARE）に結合する転写因子であり，酸化ストレス防御系酵素群や薬物代謝第 II 相酵素群の発現調節を通じて生体防御に寄与している．我々は，Nrf2 が興奮毒性に伴う脳応答にどのように関わっているのかを明らかにする目的で，Nrf2 欠損マウスにカイニン酸を投与し，てんかん様発作について野生型マウスと比較した．その結果，Nrf2 欠損マウスは野生型マウスよりも有意にてんかん様発作を起こしやすくなっていた．次に，海馬 RNA のマイクロアレイ解析を行い，Nrf2 欠損により発現が有意に変化する遺伝子群の網羅的な探索を行った．Nrf2 欠損マウスでは，Nrf2 の標的遺伝子として既に知られている Glutathione S-transferase (GST) mu1 などの発現低下に加えて，複数の遺伝子の発現が変化していることが明らかになった．

業績目録

原著論文

1. I. Kuraoka, K. Suzuki, S. Ito, M. Hayashida, J. Seah, M. Kwei, T. Ikegami, H. Handa, Y. Nakabeppu and K. Tanaka. 2007.
RNA Polymerase II bypasses 8-oxoguanine in the presence of transcription elongation factor TFIIIS.
DNA Repair, in press.

2. T. Ohtsubo, Y. Ohya, Y. Nakamura, Y. Kansui, M. Furuichi, K. Matsumura, K. Fujii, M. Iida and Y. Nakabeppu. 2007.
Accumulation of 8-oxo-deoxyguanosine in Cardiovascular Tissues with the Development of Hypertension.
DNA Repair, in press.
3. K. Miyata, T. Yasukawa, M. Fukuda, T. Takeuchi, K. Yamazaki, K. Sakumi, M. Tamamori-Adachi, Y. Ohnishi, Y. Ohtsuki, Y. Nakabeppu, S. Kitajima, S. Onishi and T. Aso. 2007.
Induction of apoptosis and cellular senescence in mice lacking transcription elongation factor, Elongin A.
Cell Death Differ, 14, 716-726.
4. H. Kamiya, C. Cadena-Amaro, L. Dugue, H. Yakushiji, N. Minakawa, A. Matsuda, S. Pochet, Y. Nakabeppu and H. Harashima. 2006.
Recognition of Nucleotide Analogs Containing the 7,8-Dihydro-8-oxo Structure by the Human MTH1 Protein.
J Biochem, 140, 843-849.
5. T. Nakamura, Y. Kitaguchi, M. Miyazawa, H. Kamiya, S. Toma, S. Ikemizu, M. Shirakawa, Y. Nakabeppu and Y. Yamagata. 2006.
Crystallization and preliminary X-ray analysis of human MTH1 complexed with two oxidized nucleotides, 8-oxo-dGMP and 2-oxo-dATP.
Acta Crystallograph Sect F Struct Biol Cryst Commun, 62, 1283-1285.
6. T. Arima, K. Yamasaki, R.M. John, K. Kato, K. Sakumi, Y. Nakabeppu, N. Wake and T. Kono. 2006.
The human HYMAI/PLAGL1 differentially methylated region acts as an imprint control region in mice.
Genomics, 88, 650-658.
7. V.L. Thijssen, R. Postel, R.J. Brandwijk, R.P. Dings, I. Nesmelova, S. Satijn, N. Verhofstad, Y. Nakabeppu, L.G. Baum, J. Bakkers, K.H. Mayo, F. Poirier and A.W. Griffioen. 2006.
Galectin-1 is essential in tumor angiogenesis and is a target for antiangiogenesis therapy.
Proc Natl Acad Sci U S A, 103, 15975-15980.
8. S. Akatsuka, T.T. Aung, K.K. Dutta, L. Jiang, W.H. Lee, Y.T. Liu, J. Onuki, T. Shirase, K. Yamasaki, H. Ochi, Y. Naito, T. Yoshikawa, H. Kasai, Y. Tominaga, K. Sakumi, Y. Nakabeppu, Y. Kawai, K. Uchida, A. Yamasaki, T. Tsuruyama, Y. Yamada and S. Toyokuni. 2006.
Contrasting genome-wide distribution of 8-hydroxyguanine and acrolein-modified adenine during oxidative stress-induced renal carcinogenesis.
Am J Pathol, 169, 1328-1342.
9. T. Arai, J. Fukae, T. Hatano, S. Kubo, T. Ohtsubo, Y. Nakabeppu, H. Mori, Y. Mizuno and N. Hattori. 2006.
Up-regulation of hMUTYH, a DNA repair enzyme, in the mitochondria of substantia nigra in Parkinson's disease.
Acta Neuropathol, 112, 139-145.

10. Y. Sakai, H. Oda, D. Yoshimura, M. Furuichi, D. Kang, S. Iwai, T. Hara and Y. Nakabeppu. 2006.
The GT to GC single nucleotide polymorphism at the beginning of an alternative exon 2C of human MTH1 gene confers an amino terminal extension that functions as a mitochondrial targeting signal.
J Mol Med, 84, 660-670.
11. H. Arima, Y. Kiyohara, Y. Tanizaki, Y. Nakabeppu, M. Kubo, I. Kato, K. Sueishi, M. Tsuneyoshi, M. Fujishima and M. Iida. 2006.
Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism modifies the smoking-cancer association: the Hisayama Study.
Eur J Cancer Prev, 15, 196-201.
12. M. Ohno, T. Miura, M. Furuichi, Y. Tominaga, D. Tsuchimoto, K. Sakumi and Y. Nakabeppu. 2006.
A genome-wide distribution of 8-oxoguanine correlates with the preferred regions for recombination and single nucleotide polymorphism in the human genome.
Genome Res, 16, 567-575.
13. K.J. Powell, T.L. Binder, S. Hori, Y. Nakabeppu, D. R., Weinberger, B.K. Lipska and G.S. Robertson. 2006.
Neonatal Ventral Hippocampal Lesions Produce an Elevation of DFosB-like Protein(s) In the Rodent Neocortex.
Neuropsychopharmacology, 31, 700-711.
14. H. Yamaguchi, K. Kajitani, Y. Dan, M. Furuichi, M. Ohno, K. Sakumi, D. Kang and Y. Nakabeppu. 2006.
MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase, protects the dopamine neurons from oxidative damage in nucleic acids caused by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine.
Cell Death Differ, 13, 551-563.

総説

1. T. Tsuzuki, Y. Nakatsu and Y. Nakabeppu. 2007.
Significance of error-avoiding mechanisms for oxidative DNA damage in carcinogenesis.
Cancer Sci, 98(4), 465-470.
2. Y. Nakabeppu, D. Tsuchimoto, H. Yamaguchi and K. Sakumi. 2007.
Oxidative Damage in Nucleic Acids and Parkinson's Disease.
J Neurosci Res, 85, 919-934.
3. Y. Nakabeppu, K. Kajitani, K. Sakamoto, H. Yamaguchi and D. Tsuchimoto. 2006.
MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase, prevents the cytotoxicity and neurotoxicity of oxidized purine nucleotides.
DNA Repair, 5, 761-772.
4. Y. Nakabeppu, K. Sakumi, K. Sakamoto, D. Tsuchimoto, T. Tsuzuki and Y. Nakatsu. 2006.
Mutagenesis and carcinogenesis caused by the oxidation of nucleic acids.
Biol Chem, 387, 373-379.
5. 中別府雄作 , 大野みずき, 2006.

活性酸素によるゲノムの酸化とヒトゲノムの多様性

実験医学, 24 (12), 756-1753.

6. 中別府雄作, 2006.
脳神経変性疾患と酸化ストレス
分子細胞治療, 5 (6), 35-43.
7. 中別府雄作, 2006.
活性酸素と生命機能の制御
BIO Clinica, 21 (12), 79-83.
8. 中別府雄作, 2006.
酸化ストレスとミトコンドリア
Clinical Neuroscience, 24, 639-642.

著書

1. Y. Nakabeppu, M. Behmanesh, H. Yamaguchi, D. Yoshimura and K. Sakumi. (2007), in press.
Prevention of the mutagenicity and cytotoxicity of oxidized purine nucleotides.
In Evans, M.D. and Cooke, M.S. (eds.), *Oxidative Damage to Nucleic Acids*.
Landes Bioscience / Eurekah, Georgetown, TX, USA.
2. Nakabeppu Y, Maki H, Sekiguchi M (2007).
DNA Replication and Transcription:
In Meyers RA (eds.), *Genomics and Genetics: From Molecular Details to Analysis and Techniques*. p47-73.
Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, Germany.

学会発表

1. Sugako Oka, Mizuki Ohno, Daisuke Tsuchimoto, Kunihiro Sakumi, Masato Furuichi, and Yusaku Nakabeppu (2007/2-2/3).
Mutyh mediates two distinct cell death pathways by monitoring buildup of 8-oxoguanine in nuclear and mitochondrial genomes.
4th Meeting of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, Seoul.
2. Carol E. Schrader, Jeroen E.J. Guikema, Yusaku Nakabeppu, Daisuke Tsuchimoto, Janet Stavnezer (2007/2/6-2/12).
AP Endonuclease Makes DNA Breaks in Switch Regions During Immunoglobulin Class Switch Recombination.
Keystone Symposia on Biology of B Cells in Health and Disease. Banff, Alberta.
3. 市川淳二, 土本大介, 大野みずき, 岡素雅子, 中別府雄作 (2006/12/14-12/16).
MTH1 は, 一酸化窒素に起因する酸化ストレスが誘発する細胞死を, ミトコンドリアゲノムへの酸化ヌクレオチドの取り込みを抑制する事で効率良く抑制する.
第6回日本ミトコンドリア学会年会, 横浜.
4. 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 (2006/12/6-12/8).
核とミトコンドリアゲノムに蓄積した酸化障害は異なる2つの経路により細胞死を誘導する.

- 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
5. 大野みずき, 土本大介, 作見邦彦, 中別府雄作 (2006/12/6-12/8).
8-オキシグアニンの蓄積と姉妹染色分体の早期分離.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
6. 作見邦彦, ベーマネシュ マーダッド, 岡素雅子, 豊國伸哉, 土本大介, 中別府雄作 (2006/12/6-12/8).
ITPase 欠損と心臓の異常.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
7. 太田詠子, 大野みずき, 土本大介, 作見邦彦, 中別府雄作 (2006/12/6-12/8).
哺乳動物細胞における 2-OH-ATP および 8-oxo-GTP の生物学的影響.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
8. 段由規彦, 梶谷康介, 湯通堂紀子, 作見邦彦, 土本大介, 伊東健, 山本雅之, 中別府雄作 (2006/12/6-12/8).
転写因子 Nrf2 はカニン酸誘発興奮毒性への脳応答を制御する.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
9. 野中麻里, 土本大介, 太田詠子, 作見邦彦, 中別府雄作 (2006/12/6-12/8).
ITP 結合タンパク質 ITPBP1 の生化学的特性.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
10. 土本大介, 野中麻里, 太田詠子, 作見邦彦, 中別府雄作 (2006/12/6-12/8).
ATP 固定化樹脂を用いた損傷ヌクレオチド結合タンパク質の探索.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
11. 朴晶淑, 磯田拓郎, 松尾知子, 中津可道, 作見邦彦, 中別府雄作, 続輝久 (2006/12/6-12/8).
DNA 修復遺伝子欠損マウスにおける酸化ストレス誘発消化管発癌.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
12. Takuro Isoda, Yoshimichi Nakatsu, Kazumi Yamauchi, Takashi Yao, Masazumi Tsuneyoshi, Yusaku Nakabeppu, Teruhisa Tsuzuki (2006/12/6-12/8).
Analysis of oxidative stress-induced tumors in the small intestines of Mutyh-deficient mice.
日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋.
13. Yoshinori N. Ohnishi, Yoko H. Ohnishi, Hideaki Kurushima, Kunihiro Ssakumi, Yusaku Nakabeppu (2006/10/14-10/18).
Increased expression of deltaFosB causes hyperlocomotor activity and fearless behavior, and to which FosB efficiently counteracts and also attenuates ΔFosB-independent exploratory behavior.
The 36th annual meeting of the Society for Neuroscience, Atlanta GA.
14. Yoko H. Ohnishi, Yoshinori N. Ohnishi, Hitoshi Ishibashi, Kei Eto, Kunihiro Sakumi, Mami Noda, Yusaku Nakabeppu (2006/10/14-10/18).
FosB and ΔFosB determine susceptibility to excitotoxicity induced by kainate.
The 36th annual meeting of the Society for Neuroscience, Atlanta GA.
15. 中別府雄作 (2006/9/6-9/9).

- ヌクレオチドプール浄化機構の生物学的意義.
日本放射線影響学会第 49 回大会, 札幌.
16. 赤塚慎也, 白瀬智之, ダッタ ココン クマール, 李文華, 蔣麗, 劉玉亭, 大貫ジャニス, 内藤裕二, 葛西宏, 作見邦彦, 中別府雄作, 豊國伸哉 (2006/9/28-9/30).
マウス染色体における酸化的 DNA 損傷の分布.
第 65 回日本癌学会学術総会, 横浜.
 17. 磯田拓郎, 中津可道, 中別府雄作, 續輝久(2006/9/28-9/30).
Mutyh 遺伝子欠損マウスにおける酸化ストレス誘発小腸腫瘍の解析.
第 65 回日本癌学会学術総会, 横浜.
 18. 中別府雄作 (2006/9/25-9/27).
8-オキシグアニンとヒトゲノムの多様性.
日本遺伝学会第 78 回大会, つくば.
 19. 大野みずき, 三浦智史, 中別府雄作 (2006/9/25-9/27).
ヒトゲノムに及ぼす 8-オキシグアニンの影響.
日本遺伝学会第 78 回大会, つくば.
 20. 大野みずき, 三浦智史, 中別府雄作 (2006/8/29-8/31).
8-オキシグアニンはゲノム進化の原動力か? .
日本進化学会 2006 年大会, 東京.
 21. 中別府雄作 (2006/7/14).
核酸の酸化による生体障害とその防御機構 - 発がんから神経変性まで - .
第 17 回中国四国生体ラジカル研究会, 岡山.
 22. 中別府雄作 (2006/7/1-7/2).
活性酸素による核酸の化学修飾と様々な生命現象.
変異機構研究会・第 19 回夏の学校, 瀬戸.
 23. 段由規彦, 梶谷康介, 湯通堂紀子, 伊東健, 山本雅之, 中別府雄作 (2006/7/18-7/21).
転写因子 Nrf2 はカニン酸誘発興奮毒性への脳応答を制御する.
第 29 回日本神経科会大会, 京都.
 24. 梶谷康介, 山口浩雄, 段由規彦, 古市正人, 中別府雄作 (2006/7/18-7/21).
プリンヌクレオシド三リン酸分解酵素 MTH1 は, 海馬ミクログリアにおいて神経興奮毒性にともなう核酸の酸化損傷の蓄積を抑制する.
第 29 回日本神経科会大会, 京都.
 25. Yusaku Nakabeppu (2006/6/24).
ITPase is a quality controller of the ATP pool.
IUBMB Satellite Symposium on Frontiers in Redox Sciences, Kyoto.
 26. 大野みずき, 三浦智史, 土本大介, 作見邦彦, 古市正人, 中別府雄作 (2006/5/19-5/21).
ヒトゲノムの多様性と 8・オキシグアニン.
第 8 回日本がん分子疫学研究会 / 第 29 回日本がん疫学研究会合同学術集会, 広島.
 27. 藤澤律子, 松本主之, 牛島泰宏, 中別府雄作, 飯田三雄 (2006/4/20-4/22).
APC 遺伝子変異陰性の家族性大腸腺腫症患者における *MUTYH* 遺伝子変異の解析.
第 92 回日本消化器病学会総会, 北九州.