

[0020]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2005年

<https://doi.org/10.15017/6244>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 20, 2006-07. 九州大学生体防御医学研究所
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標とし、研究を進めている。

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した(Nature 412:826-831, 2001; Immunity 19:119-129, 2003; Immunity 21: 429-441, 2004)。本年度は *DOCK2* のシグナル伝達機構並びに機能を解明し、その臨床応用の可能性を検討する目的で以下のような研究を行った。

a. *DOCK2* 欠損のアロ心臓移植に及ぼす影響

アロ移植片拒絶は、宿主の2次リンパ組織で活性化されたアロ反応性 T 細胞が移植組織に浸潤することで惹起される。今回我々は、*DOCK2* 欠損マウスを用いて、アロ移植心臓拒絶における *DOCK2* の役割について検討した。BALB/c マウス由来の心臓を C57BL/6 マウスに移植した場合全例が激しい細胞浸潤を伴い8日以内に拒絶されたが、*DOCK2* 欠損 C57BL/6 マウスをレシピエントとした場合 100 日以上以上の生着例も含め、移植片の長期生着が可能になることを見いだした。*DOCK2* を欠損したレシピエントマウスではアロ反応性 T 細胞の増殖応答や細胞

障害活性, および移植片内における IFN- γ やグランザイム B といったエフェクター分子の発現が顕著に抑制されていた. さらに, *in vitro* において活性化した DOCK2 欠損 T 細胞を RAG1 欠損マウスに移入した場合, homeostatic proliferation や移植組織への細胞浸潤も有意に障害されていることを見いだした. 以上の結果は DOCK2 欠損により移植片拒絶において key となる複数のプロセスが同時にブロックされることを示しており, それ故 DOCK2 は新規免疫抑制剤開発の分子標的になると考えられる.

b. 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⁺TCR $\alpha\beta$ ⁺T 細胞が著減することを見出した. V α 14 NKT細胞のリガンドとなる α GalCer 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, β 2 ミクログロブリン欠損マウスを用いた骨髄キメラマウスの解析から, NKT細胞の分化・発生において 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.

c. 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細胞である. 好中球をケモアトラクタントで刺激すると, その leading edge に F-アクチンと PI(3,4,5)₃ が集積する. このような細胞極性の形成には Rac の活性化が必要であるが, 一方 PI(3,4,5)P₃ の集積は Rac 活性化を制御する. このことから PI(3,4,5)P₃ と Rac を介したポジティブフィードバック機構が存在すると考えられているが, この制御に関わる Rac 活性化因子は不明である. 我々は DOCK2 が好中球遊走に不可欠な Rac 活性化分子であり, その制御機構の一端を明らかにした.

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 ELMO1 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, ELMO1 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. また, DOCK2 の細胞内動態をリアルタイムでモニターするため, DOCK2 の C 端に GFP を挿入した遺伝子産物を発現するノックインマウスの作製を行った. このマウスは分子イメージングへの応用のみならず, 極めて生理的な条件下で, 刺激依存性に DOCK2 と会合する分子の同定に威力を発揮するものと期待される.

e. 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, その生理的機能を明らかにすべくノックアウトマウスを作製した.

業績目録

原著論文

1. Jiang H, Pan F, Erickson LM, Jang MS, Sanui T, Kunisaki Y, Sasazuki T, Kobayasi M, Fukui Y. 2005
Deletion of DOCK2, a regulator of the actin cytoskeleton in lymphocytes, suppresses cardiac allograft rejection.
J. Exp. Med., 22: 1121-1130
2. 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
3. Hundt M, Tabata H, Jeon MS, Hayashi K, Tanaka Y, Krishna R, De Giorgio L, Liu YC, 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
4. Tanaka Y, So T, Lebedeva S, Croft M, Altman A. 2005
Impaired IL-4 and c-Maf expression and enhanced Th1-cell development in Vav1-deficient mice.
Blood, 106: 1286-1295,
5. Nishikimi A, Meller N, Uekawa N, Isobe K, Schwartz MA, Maruyama M. 2005
Zizimin2: A novel, DOCK180-related Cdc42 guanine nucleotide exchange factor expressed predominantly in lymphocytes.
FEBS Lett., 579 : 1039-1046,
6. Uekawa N, Terauchi K, Nishikimi A, Shimada J, Maruyama M. 2005
Expression of TARSH gene in MEFs senescence and its potential implication in human lung cancer.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 329: 1031-1038,

総説

1. 福井宣規 . 2005 .
リンパ球の運動性を制御する分子 DOCK2 .
医学のあゆみ , 213 , 2915-2920 .

著書

1. Sasazuki T, Fukui Y. in press
MHC and Immune Regulation.
HLA 2004

学会発表

1. Fukui Y. (2006, 3/1-3/5).
Remodeling of the actin cytoskeleton in lymphocytes: from molecular mechanism to its clinical application.
8th FIMSA / IIS Advanced Immunology Course Focus on Clinical Immunology, New Delhi, India
2. Fukui Y. (2005, 4/8-4/10).
DOCK2, a regulator of the actin cytoskeleton in lymphocytes, is a novel molecular target for controlling allo-graft rejection and autoimmune diseases.
4th International Symposium of Kyoto T Cell Conference, Kyoto, Japan
3. 田中芳彦, 濱野真二郎, 國崎祐哉, 福井宣規 (2005, 12/13-12/15) .
細胞骨格制御分子DOCK2欠損によるアレルギー性免疫応答亢進の機能解析 .
第35回日本免疫学会総会, 横浜 .
4. 國崎祐哉, 錦見昭彦, 瀧井良祐, 田中芳彦, 福井宣規 (2005, 12/13-12/15) .
DOCK2は好中球遊走において細胞運動および極性を制御する .
第35回日本免疫学会総会, 横浜 .
5. 嶋田圭一, Jiang Hongsi, Kobayashi Masakazu, 國崎祐哉, 福井宣規 (2005, 12/13-12/15) .
DOCK2欠損マウスではアロ移植心の長期生着が可能となる .
第35回日本免疫学会総会, 横浜 .

免疫制御学分野

Division of Molecular and Cellular Immunology

平成17年度は多くの卒業生が留学していった。平成17年1月から助手の花田君はオーストリアのPenninger 研へ、4月、PD の城尾さんはサンデエゴの Scripps 研へ、6月に金城さんが Pennsylvania 大学へ、PD であった武田君はケンタッキーに、4年で卒業した大石君は6月に Boston へそれぞれ留学していった。さらに平成18年には4月から盛裕之君が Michigan 大へ、一昨年卒業した木村さんが1年間の松山の病院勤務を経て4月から NIH にそれぞれ留学へ旅立った。学振 PD、学術研究員として長年研究に携わってきた加藤玲子さんは平成18年3月より国立医薬品食品研究所に厚生技官として就職した。修士課程の増田さんは卒業後民間企業に就職した。平成17年度は盛裕之、緒方久信、知念孝敏の3名が博士号学位を、増田が修士号を修得した。

本年度は特筆すべき研究成果として SOCS による TGF β の制御、Spred による mast-cell、好酸球炎症の制御、Sprouty2 による消化管神経制御に関する成果が得られた。

A. Sprouty 2 は消化管神経の発生、維持に重要な役割を果たす (文献 27)

MAPキナーゼファミリーの一つ、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、ほとんど全ての細胞外刺激により活性化を受ける。基本的にはRafがMEKを、MEKがERKをリン酸化し活性化する。増殖因子の受容体は細胞内ドメインがチロシンキナーゼであり、アダプター分子を介してShc-Grb2-SOS-Ras経路によりRafが活性化されることは広く知られている。またサイトカイン受容体のようにJAK型チロシンキナーゼが非共有結合で会合している場合も同様にRas/ERK経路が活性化される。サイトカイン受容体では転写因子STATが有名な下流分子であるが、エリスロポエチン(EPO)や顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)などの造血因子の増殖作用はSTATよりむしろRas/ERK経路のほうが重要であると考えられている。一方で、G蛋白共役型受容体やVEGFR2/KDRはRas非依存性経路によりRafを活性化することが示され、Ras非依存的な活性化機構の存在も明らかとなってきた。一方でSproutyおよびSpred (Sprouty-related EVH1 domain protein)遺伝子群が単離され注目されている。これらは重要なMAPキナーゼ阻害因子と考えられている。これらは細胞膜に存在し受容体からのシグナル制御を分子レベルで理解すると言う点からも興味深い分子群である。哺乳類では4つのSprouty(mSprouty)と3つのSpredホモログが存在する。

最近我々を含めて二つのグループから mSprouty2-KO マウスの解析が報告されている。mSprouty2-KO マウスはメンデル期待値比の範囲内で出生するが、生後1ヶ月以内に半数が死亡し残ったマウスも成長障害を示す。その原因は食道吻門部閉塞による食物の停滞による栄養吸収異常によるものであり、これは食道アカラシアと酷似していた。さらに小腸、大腸でガスの貯留が認められた(文献27)。これはヒルシュスプラング病と酷似していた。食道アカラシアの病因は自己抗体による食道噴門部の神経変性が知られており、また同様にヒルシュスプラング病はGDNF受容体 Ret やエンドセリン受容体の異常による消化管神経叢の欠如による。そこでホールマウント免疫染色法によって食道および大腸の神経細胞について解析した。PGP9.5 抗体を用いて蛍光免疫染色した結果、驚くべきことにヒルシュスプラング病とは逆に食道や大腸の神経叢の細胞体数が増加しネットワークも過形成し

ていることを見いだした。このような神経ネットワーク異常が食道吻門部の食渣停滞、消化管運動の低下につながっていると考えられる。実際に電気生理学的な解析から食道吻門部の筋肉層ではアセチルコリンに対する感受性が増加し収縮力が5倍以上増加していた。また M2 型アセチルコリン受容体の発現も著しく増加していた。ではこのような神経の過形成は何故起こるのか？消化管の神経の発生と維持には GDNF が不可欠であると考えられている。消化管を ex-vivo で GDNF で刺激すると KO の神経細胞で ERK, Akt とともにリン酸化が強くなるのが免疫染色、ウエスタンブロットにて確認された(図5)。特に mSprouty2-KO マウスの神経が WT より強く染色された。さらに抗 GDNF モノクローナル抗体を生後2週目から4週目まで投与したところ Sprouty2-KO マウスでは消化管神経の数とネットワークの著しい減少が認められアカラシア症状も解消された。これらの結果から、GDNF-RET システムが生後の消化管神経の成長維持に必要であること、mSprouty2 はその過程を負に制御しており、mSprouty2 の欠損は GDNF のシグナルを増強し神経の過剰形成を引き起こすことが明らかとなった。

また mSprouty2-KO マウスは重篤な聴覚障害を有する。この聴覚障害は内耳細胞の分化異常に起因しており、FGF8 のシグナルが過剰に入るためと考えられる。実際に Fgf8 遺伝子欠損マウスとの交配によって mSprouty2 欠損による聴覚障害は部分的に改善された。mSprouty2 は消化管神経での GDNF-RET シグナルのみならず内耳における FGF8 シグナルの制御にも関わっている。

B. Spred-1 欠損マウスの解析

Spred-1KO は3ヶ月以上を経過すると脾腫を示した。また通常野生型マウスの脾臓には巨核球はほとんど見られないが、Spred-1 KO では巨核球が増加し、色素の沈着がみられた。このような表現型は Ras/ERK 経路の抑制に関与するとされる Lnk や Dok の欠損マウスに近い。肥大脾臓で骨髓性の細胞の増加がみられたことから Spred-1 が造血において負の制御因子であることが示唆された。そこで各種サイトカイン存在下でコロニー形成能を比較したところ、骨髓で約数倍、脾臓で Spred-1KO マウスが 5-10 倍多い傾向がみられた。特に IL-3 や IL-5 によるコロニー形成が増強された。これらのことより Spred-1 が欠失することで造血前駆細胞の数が増加することが示唆された。

そこで造血系の細胞での Spred-1 の発現を確認したところ、骨髓細胞を IL3 および IL5 で誘導したマスト細胞、好酸球で高い発現が認められた。また Spred-1 欠損マウス由来の骨髓由来の細胞の増殖は野生型の骨髓細胞よりも早かった。IL3, IL-5, SCF に対する応答を骨髓由来のマスト細胞あるいは好酸球を用いて確認した。その結果 WT に比べて KO の方がいずれの刺激に対しても MAPK の活性化や細胞増殖を増強することがわかった。一方、JAK2 や STAT5 の活性化には影響がなかった。以上のことから Spred はサイトカインの2つの主要なシグナル伝達経路のうち JAK/STAT 経路ではなく Ras/Raf/ERK の経路を選択的に負に調節していることが示された。造血細胞の増殖は STAT よりもむしろ ERK に依存するという最近の知見を指示する結果と思われる。

次に個体での Spred-1 の効果を調べるために WT と KO マウスに IL5 を投与した。定常状態ではマウスの末梢血中には好酸球はほとんど存在しないが、IL5 の投与後増加する。KO の方が好酸球の増加が有意に高いことが分かった。さらに卵白アルブミン(OVA)によって誘導される喘息病態モデルの系で Spred-1 分子の役割を解析した。その結果 KO が WT に比べて抗原による気道収縮が強くなりさらに気管支肺胞洗浄液中の細胞数が約三倍になっており、中でも好酸球が著しく増加していた(文献33)。したがって Spred-1 は喘息モデルにおいて好酸球浸潤を抑制する分子であることがわかった。

C. SOCS3 と抑制性T細胞分化（文献4）

SOCS 分子はサイトカインシグナル経路を抑制的に制御し、免疫制御機構においても主要な分子である。SOCS3 ノックアウトマウスは胎生致死であり、成体における詳細な機能は不明であった。我々は T 細胞特異的 SOCS3 欠損マウスを作成し、T 細胞の分化誘導や活性化制御への SOCS3 の関与を解析した。SOCS3^{flox/flox} マウスと Lck-cre トランスジェニックマウスの交配により、T 細胞特異的に SOCS3 を欠損させたコンディショナルノックアウトマウスは野生型と比べ、胸腺、脾臓、リンパ節の大きさや細胞数に大差はなく、炎症疾患の発症なく経過した。しかし、胸腺 T 細胞の FACS 解析において、CD4-CD8-DN 細胞の割合が上昇、CD4+SP、CD8+SP 細胞の割合は低下していた。DN 細胞分画の DN3 から DN4 への移行障害を認めた。L.major 感染実験では、感染抵抗性に差はなく、Th1 型免疫応答も等しく誘導されたが、SOCS3 欠損 CD4+T 細胞は TGF- β 1、IL10 産生が増強していた。そこで *in vitro* 分化誘導で比較した。通常の IL4、IL12 添加条件では Th1 型、Th2 型とも野生型と同等に誘導されたが、IL10+TGF- β 1 添加の Th3 誘導条件では、SOCS3 欠損 T 細胞がより強く Th3 へ分化していた。SOCS3 欠損 T 細胞は STAT3 活性化が遷延していたことから、TGF- β 1 の発現に STAT3 が関与するのか、mTGF- β 1 プロモーター領域を解析したところ、STAT3 結合配列が存在し、IL6 刺激や活性化型 STAT3c によりプロモーター活性が増強した。ChIP assay では、IL6 刺激下で、TGF- β 1 プロモーターへの STAT3 のリクルートが証明された。以上の結果より SOCS3 は T 細胞の初期分化に関与しており、STAT3 の活性調節を介し、CD4+T 細胞の Th3 型分化誘導を制御していることが示唆された。

D. SOCS3 と肝線維化（文献5）

近年、ヒトの肝細胞癌患者において suppressor of the cytokine signaling-3 (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。しかし、生体内における肝細胞癌発生における SOCS3 の役割は解明されていない。RT-PCR 法とウエスタンブロットを用いて、我々は肝癌患者では SOCS3 の発現が減少していることを確認した。しかし、SOCS3 の発現減少は肝細胞癌のみでなく、非癌部においても起きており、その減少は線維化の程度が増加するにつれてより強くなっていた。さらに、SOCS3 レベルは、非肝癌部位においては、TGF- β 1 レベルと同様に STAT3 活性化と逆相関した。SOCS3 の抑制および STAT3 の過剰な活性化が肝線維化に与える影響を分子レベルで解明するために、肝臓特異的 SOCS3 欠損マウスの解析を行った。我々は、肝臓における SOCS3 の欠損により STAT3 の過剰な活性化が引き起こされ、結果的に ConA や化学物質で誘導される肝線維化を増悪させることを証明した。線維化の調節因子である TGF- β 1 の発現は、SOCS3 遺伝子欠損によって増強され、逆にドミナントネガティブ STAT3 もしくは SOCS3 の過剰発現によって抑制されることが、*in vivo* および *in vitro* で観察された。これらのデータは、TGF- β 1 が STAT3 の標的遺伝子であり、SOCS3 の欠損によって増悪する線維化の機序の一つであることを示唆している。本研究において我々は、これまで言われている STAT3 が癌遺伝子であると言う特徴に加え、STAT3 が TGF- β 1 の発現増加を介して肝線維化を増悪させることで肝細胞癌発生に関わり、一方 SOCS3 はこの過程を抑制するという、これら遺伝子の新たな役割を解明した。

E. SOCS1 と腸炎（文献6）

SOCS1 は、種々のサイトカインシグナルの強力な負の制御因子であり、免疫応答の制御や、いくつかの炎症性疾患の病態制御への関与が示唆されている。しかしながら、SOCS1 が、炎症性腸疾患の発

症および増悪において果たす役割は、これまで明らかとされていなかった。SOCS1 が炎症性腸疾患に果たす役割を探るため、我々は、SOCS1/T 細胞受容体 鎖 (TCR) 二重欠損マウスを作製した。SOCS1/TCR 二重欠損マウスは、生後9週齢までに全個体において、TCR 欠損マウスより重度の大腸炎を発症した。二重欠損マウスにおける、CD4陽性TCR 陰性TCR 陽性T細胞の割合および活性化の程度は、TCR 欠損マウスと比較し大きな差は見られなかったが、STAT1, NF- B およびその標的分子は二重欠損マウスの大腸における浸潤細胞や大腸上皮細胞において、より活性化していた。サイトカイン除去の実験により、二重欠損マウスの大腸炎の増悪は、IFN およびIL-4双方に依存している事が分かった。SOCS1 を欠損した線維芽細胞、マクロファージ、大腸上皮細胞は、IFN , IL-4, および、LPS に高感受性であった。また抗生物質投与により除菌を行なうことで、腸炎の発症は腸内細菌に依存することが明らかとなった。SOCS1 は、サイトカインシグナルを負に制御する事により、マウスにおける大腸炎の発症、増悪を抑制する重要な分子である事が分かった。SOCS1/TCR 二重欠損マウスは、ヒトの炎症性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎に類似した慢性大腸炎を確実に、短期間のうちに発症するため、ヒト炎症性腸疾患研究のための有用なモデルとなりうると考えられた。

業績目録

原著論文

1. 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.
2. Hisanobu Ogata, Takashi Kobayashi, Takatoshi Chinen, Hironori Takaki, Takahito Sanada, Yasumasa Minoda, Keiko Koga, Giichi Takaesu, Yoshihiko Maehara, Mitsuo Iida, and Akihiko Yoshimura.2006.
Deletion of the SOCS3 gene in the liver parenchymal cells promotes hepatitis-induced hepatocarcinogenesis.
Gastroenterology. in press.
4. Hanada T, Kobayashi T, Chinen T, Takaki H, Koga K, Minoda Y, Sanada T, Yoshioka T, Mimata H, Kato S, and Yoshimura A.
IFN γ -dependent, spontaneous development of colorectal carcinomas in SOCS1-deficient mice.
J.Exp. Med in press
5. Kinjyo I, Inoue M, Hamano S, Fukuyama S, Yoshimura T, Koga K, Takaki H, Himeno K, Takaesu G, Kobayashi T, Yoshimura A.2006.
Loss of SOCS3 in helper T cells resulted in reduced immune responses and hyperproduction of IL-10 and TGF- β 1.
*J. Exp. Med.*203(4):1021-1031.
6. 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- β 1 production.

- Oncogene*. 25(17):2520-30.
7. 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 IFN γ and IL-4 Are Involved.
Gastroenterology. 130: 373-388.
 8. 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. 26;341(4):1149-1154.
 9. 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.
 10. Kobayashi T, Takaesu G, Yoshimura A.2006.
Mal-function of TLRs by SOCS.
Nat Immunol. 7:123-124.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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):6316-6324.
 14. 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):L971-977.
 15. 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.
16. Inagaki-Ohara K, Sasaki A, Matsuzaki G, Ikeda T, Hotokezaka M, Chijiiwa 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.
17. 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.
18. Naka T, Fujimoto M, Tsutsui H, Yoshimura A.2005.
Negative regulation of cytokine and TLR signalings by SOCS and others.
Adv Immunol. 87: 61-122.
19. Tanimoto K, Saito Y, Hamanaka I, Kuwahara K, Harada M, Takahashi N, Kawakami R, Nakagawa Y, Nakanishi M, Adachi Y, Shirakami G, Fukuda K, Yoshimura A, Nakao K.2005.
SOCS1/JAB Likely Mediates the Protective Effect of Cardiotrophin-1 Against Lipopolysaccharide-Induced Left Ventricular Dysfunction In Vivo.
Circ J. 69:1412-1417.
20. Mashima R, Saeki K, Aki D, Minoda Y, Takaki H, Sanada T, Kobayashi T, Aburatani H, Yamanashi Y, Yoshimura A.2005.
FLN29, a novel interferon- and LPS-inducible gene acting as a negative regulator of toll-like receptor signaling.
J Biol Chem. 280: 41289-41297.
21. Tokumaru S, Sayama K, Shirakata Y, Komatsuzawa H, Ouhara K, Hanakawa Y, Yahata Y, Dai X, Tohyama M, Nagai H, Yang L, Higashiyama S, Yoshimura A, Sugai M, Hashimoto K.2005.
Induction of keratinocyte migration via transactivation of the epidermal growth factor receptor by the antimicrobial peptide LL-37.
J Immunol. 175: 4662-4668.
22. Miyazaki Y, Inoue H, Matsumura M, Matsumoto K, Nakano T, Tsuda M, Hamano S, Yoshimura A, Yoshida H.2005.
Exacerbation of experimental allergic asthma by augmented Th2 responses in WSX-1-deficient mice.
*J Immunol.*175: 2401-2407.
23. Nonami A, Taketomi T, Kimura A, Saeki K, Takaki H, Sanada T, Taniguchi K, Harada M, Kato R, Yoshimura A.2005.

The Sprouty-related protein, Spred-1, localizes in a lipid raft/caveola and inhibits ERK activation in collaboration with caveolin-1.

Genes Cells. 10: 887-895.

24. Moriyama M, Sato T, Inoue H, Fukuyama S, Teranishi H, Kangawa K, Kano T, Yoshimura A, Kojima M.2005.

The neuropeptide neuromedin U promotes inflammation by direct activation of mast cells.

*J Exp Med.*202: 217-224.

25. Takeda A, Hamano S, Shiraishi H, Yoshimura T, Ogata H, Ishii K, Ishibashi T, Yoshimura A, Yoshida H.2005.

WSX-1 over-expression in CD4+ T cells leads to hyperproliferation and cytokine hyperproduction in response to TCR stimulation.

Int Immunol. 17: 889-897;

26. Tsukada J, Ozaki A, Hanada T, Chinen T, Abe R, Yoshimura A, Kubo M.2005.

The role of suppressor of cytokine signaling 1 as a negative regulator for aberrant expansion of CD8 α + dendritic cell subset.

Int Immunol. 17:1167-78.

27. Yoshimura A, Nishinakamura H, Matsumura Y, Hanada T.2005.

Negative regulation of cytokine signaling and immune responses by SOCS proteins.

Arthritis Res Ther. 7: 100-110.

28. Taketomi T, Yoshiga D, Taniguchi K, Kobayashi T, Nonami A, Kato R, Sasaki M, Sasaki A, Ishibashi H, Moriyama M, Nakamura KI, Nishimura J, Yoshimura A.2005.

Loss of mammalian Sprouty2 leads to enteric neuronal hyperplasia and esophageal achalasia.

Nature Neurosci. 8, 855-857.

29. Kobayashi T, Yoshimura A.2005.

Keeping DCs awake by putting SOCS1 to sleep.

Trends Immunol. 26:177-179.

30. Takatori H, Nakajima H, Kagami S, Hirose K, Suto A, Suzuki K, Kubo M, Yoshimura A, Saito Y, Iwamoto I.2005.

Stat5 α Inhibits IL-12-Induced Th1 Cell Differentiation through the Induction of Suppressor of Cytokine Signaling 3 Expression.

J Immunol. 174:4105-4112.

31. Aki D, Mashima R, Saeki K, Minoda Y, Yamauchi M, Yoshimura A.2005.

Modulation of TLR signalling by the C-terminal Src kinase (Csk) in macrophages. *Genes Cells.* 10:357-368.

32. Hanada T, Tanaka K, Matsumura Y, Yamauchi M, Nishinakamura H, Aburatani H, Mashima R, Kubo M, Kobayashi T, Yoshimura A.2005.

Induction of hyper Th1 cell-type immune responses by dendritic cells lacking the suppressor of cytokine signaling-1 gene.

J Immunol. 174:4325-4332.

33. Ohishi M, Matsumura Y, Aki D, Mashima R, Taniguchi K, Kobayashi T, Kukita T, Iwamoto Y, Yoshimura A.2005. Suppressors of cytokine signaling-1 and -3 regulate osteoclastogenesis in the presence of inflammatory cytokines.

*J Immunol.*174:3024-3031.

34. noue H, Kato R, Fukuyama S, Nonami A, Taniguchi K, Matsumoto K, Nakano T, Tsuda M, Matsumura M, Kubo M, Ishikawa F, Moon BG, Takatsu K, Nakanishi Y, Yoshimura A.2005.

Spred-1 negatively regulates allergen-induced airway eosinophilia and hyperresponsiveness.

J Exp Med.;201:73-82.

35. Tokumaru S, Sayama K, Yamasaki K, Shirakata Y, Hanakawa Y, Yahata Y, Dai X, Tohyama M, Yang L, Yoshimura A, Hashimoto K.2005.

SOCS3/CIS3 negative regulation of STAT3 in HGF-induced keratinocyte migration. *Biochem Biophys Res*

Commun. 327:100-105.

36. Takahashi N, Saito Y, Kuwahara K, Harada M, Tanimoto K, Nakagawa Y, Kawakami R, Nakanishi M, Yasuno S, Usami S, Yoshimura A, Nakao K.2005.

Hypertrophic responses to cardiotrophin-1 are not mediated by STAT3, but via a MEK5-ERK5 pathway in cultured cardiomyocytes.

J Mol Cell Cardiol. 38:185-192.

37. Sekine Y, Yamamoto T, Yumioka T, Sugiyama K, Tsuji S, Oritani K, Shimoda K, Minoguchi M, Yoshimura A, Matsuda T.2005.

Physical and functional interactions between STAP-2/BKS and STAT5.

*J Biol Chem.*280:8188-8196.

総説

1. 吉村 昭彦, 真田 貴人, 真嶋 隆一.2005.
受容体型チロシンキナーゼ(c-kit,c-fms,Flt-3, Tie2 など)
日本臨床, 207-214.
2. 盛 裕之, 吉村 昭彦.2006.
SOCS3 によるレプチンシグナルの制御
BIO Clinica, 21(2), 83-84.
3. 吉村 昭彦, 小林 隆志, 真田 貴人, 高江洲 義一.2005.

SOCS 遺伝子による免疫制御

臨床免疫, 44(2), 169-178.

4. 盛 裕之, 佐藤 直市, 吉賀 大午, 吉村 昭彦.2005.
SOCS3 によるレプチンとインスリンシグナルの制御
最新医学, 第 60 卷 第 7 号, 29-38.
5. 吉村 昭彦, 佐藤 直市.2006.
レプチン抵抗性の分子機構 - SOCS3 の解析を中心として
医学のあゆみ, Vol.217 NO.1, 95-100.
6. 吉村 昭彦, 小林 隆志, 真田 貴人, 高江洲 義一.2005.
SOCS 遺伝子による免疫制御
臨床免疫, 44(2), 169-178.
7. 吉村 武, 吉村 昭彦, 吉田 裕樹.2006.
新規 IL-12 関連サイトカイン IL27 の役割 - 細胞性免疫の誘導と炎症抑制作用 -
臨床免疫, 45(4), 391-395.

学会発表

1. 佐伯和子, 福山聡, 安藝大輔, 小林隆志, 吉村昭彦(2005/12/7).
新規ラフト局在タンパク質 Rafflin の遺伝子欠損マウス作製とリンパ球における機能解析
第 28 回日本分子生物学会
2. 加藤玲子, 谷口浩二, 吉村昭彦(2005/12/7)
造血系細胞における Ras/MAPK 経路抑制因子 Spred-2 の機能
第 29 回日本分子生物学会
3. 福田信治, 柳澤亮, 盛裕之, 吉村昭彦, 田賀哲也(2005/12/7)
シグナル伝達分子 SOCS3 によるアストロサイトの分化制御機構
第 30 回日本分子生物学会
4. Daigo Yoshiga, Akihiko Yoshimura(2005/12/8)
SH2-B is key regulator of adipocyte differentiation
第 31 回日本分子生物学会
5. 白石裕士, 吉村昭彦, 吉田裕樹(2005/12/8)
小胞体ストレス誘導性アポトーシスにおける Apaf-1 の役割
第 32 回日本分子生物学会
6. Takehiro Torisu, Naoichi Sato, Hiroyuki Mori, Akihiko Yoshimura(2005/12/8)
The dual function of hepatic SOCS3 in insulin resistance in vivo
第 33 回日本分子生物学会
7. 高木宏美, 高江洲義一, 小林隆志, 吉村昭彦(2005/12/9)
TGF による IFN 拮抗作用の分子メカニズム
第 34 回日本分子生物学会
8. 西中村瞳, 小林隆志, 佐伯和子, 安藝大輔, 吉村昭彦(2005/12/9)

STAT3によるTLR4シグナル抑制機構の解析

第35回日本分子生物学会

9. 谷口浩二, 向野利一郎, 加藤玲子, 森定徹, 尾池雄一, 米満吉和, 吉村昭彦(2005/12/9)
ERKシグナル抑制因子Spredはリンパ管の正常な発生に必須である
第36回日本分子生物学会
10. 簗田泰昌, 真嶋隆一, 真田貴人, 吉村昭彦(2005/12/9)
LPS刺激下の活性化マクロファージでTIFAと結合して同定されたZCCHC11のTLRシグナルにおける機能解析
第37回日本分子生物学会
11. 熱海徹, 村上正晃, 澤新一郎, 中川貴之, 澤幸久, 西原美佳, 植田尚子, 上村大輔, 吉村昭彦, 石原克彦, 平野俊夫(2005/12/13)
IL-6信号の活性化T細胞の生存に与える影響
日本免疫学会総会
12. 小林隆志, 西中村瞳, 山内盛泰, 白石裕士, 田中謙太郎, 松村友美子, 吉村昭彦(2005/12/14)
樹状細胞における抑制性サイトカインIL-10の異なる制御機構の解析
日本免疫学会総会
13. Matsumura Yumiko, Tnaka Kentaro, Kobayashi Takashi, Hanada Toshikatsu, Sato Katsuaki, Yoshimura Akihiko (2005/12/14)
Suppressor of cytokine signaling-3 regulates maturation and function of dendritic cells
日本免疫学会総会
14. 関根勇一, 辻暁司, 杉山憲司, 吉村昭彦, 松田正(2005/12/14)
アダプター分子STAP-2とFAKの機能的相互作用の解析
日本免疫学会総会
15. Yoshida Hiroki, Takeda Atsunobu, Hamano Shinjiro, Yoshimura Takeru, Ishibashi Tatsuro, Yoshimura Akihiko, Miyazaki Yoshiyuki(2005/12/15)
WSX-1 overexpression in CD4 + T cells leads to hyperproliferation and cytokine hyperproduction in response to TCR stimulation
日本免疫学会総会
16. Yoshimura Takeru, Takeda Atsunobu, Hamano Shinjiro, Miyazaki Yoshiyuki, Kinjo Ichiko, Ishibashi Tatsuro, Yoshimura Akihiko, Yoshida Hiroki(2005/12/15)
STAT3 is responsible for IL-27/WSX-1-mediated suppression of cytokine production by activated T cells
日本免疫学会総会
17. 中野貴子, 井上博雅, 福山聡, 松元崇史, 森脇篤史, 津田幸, 松元幸一郎, 中西洋一, 吉村昭彦 (2005/12/15)
SOCS1によるIL-13依存性気道炎症の制御
日本免疫学会総会
18. Moriyama Maiko, Yoshimura Akihiko, Inoue Hiromasa(2005/12/15)
The neuropeptide neuromedin U promotes inflammation by direct activation of mast cell
日本免疫学会総会

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。また microdissection法を用いた滑膜内胚中心様の構造物 (GCLS)の解析で、GCLS内ではB細胞のオリゴクローナルな増殖がみられ、その一部には段階的な突然変異の蓄積がみられること、しかしクラススイッチはみられない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。現在これらのIgM⁺IgD⁺CD27⁺B細胞の滑膜内の局在について解析中である。

B. TNF リガンドファミリー, APRIL ノックアウトマウスの作成と解析

APRIL は TNF リガンドファミリーに属する Type II 膜蛋白である。APRIL は、同じく TNF リガンドファミリーに属する BAFF とレセプター結合部位に関し、28.7%の相同性を有する。BAFF のノックアウトマウスにおいて、成熟 B 細胞は著明に減少していた。一方 BAFF のトランスジェニックマウスは、B 細胞の著増、血清免疫グロブリンの上昇、抗 DNA 抗体、免疫複合体の出現、腎炎の発症およびそれによる蛋白尿等、ループス様の所見を呈していた。以上の如く、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、その相同蛋白である APRIL に関しては、その詳細な機能は不明である。我々は、APRIL のノックアウトマウスを作成し、自己免疫疾患との関連を検索している。また、APRIL はある種の悪性腫瘍表面にも発現しており、ヒト骨髄細胞を用いて治療的応用を検討開始したところである。

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、新規治療法の実現を行う。プロトコールの作成、安全性と臨床効果の判定、キメラリズムの解析、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)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。とくにプロモーター上の Ets/AP-1 複合配列が極めて重要なエレメントであることを明らかにした。さらに構成的発現を規定するエレメントを同定した。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。

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。

c. ADRP と共役する蛋白の探索

ADRP と細胞質内で結合する蛋白として Yeast two hybrid System によるスクリーニングした PME-1 について、その生化学的解析を行い、現在ノックアウトモデルの作製を進めている。

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「代替医療探索研究拠点」の形成をめざしている。この目的のために、日本補完代替医療学会、NPO 法人代替医療科学研究センターとともに、2006 年 2 月 10 日、別府市において市民公開講座「健康の達人をめざして」を盛会裡に開催した。また、「ポストゲノム時代における補完代替医療の科学的エビデンスの集積とデータベースの構築」と題した研究プロジ

エクトを立案し、申請中である。

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. S. Kunishima, T. Matsushita, M. Shiratsuchi, T. Ikuta, J. Nishimura, M. Hamaguchi, T. Naoe, H. Saito. 2005.
Detection of unique neutrophil non-muscle myosin heavy chain-A localization by immunofluorescence analysis in MYH9 disorder presented with macrothrombocytopenia without leukocyte inclusions and deafness.
Eur J Haematol. 74, 1-5.
3. M. Zang, Y. Abe, T. Matsushima, J. Nishimura, H. Nawata, K. Muta. 2005.
Selective cyclooxygenase 2 inhibitor NS-398 induces apoptosis in myeloma cells via a Bcl-2 independent pathway.
Leuk Lymph. 46, 425-433.
4. Y. Abe, T. Matsushima, Y. Tachikawa, E. Nagasawa, J. Nishimura, H. Nawata, K. Muta. 2005.
Fludarabine-based conditioning used in successful bone marrow transplantation from an unrelated donor in a heavily transfused patient with severe aplastic anemia.
Int J Hematol. 81, 81-82.
5. Y. Suehiro, K. Muta, M. Nakashima, Y. Abe, M. Shiratsuchi, S. Shiokawa, S. Ikuyama, Y. Yoshikawa, T. Watanabe, J. Nishimura. 2005.
A novel mechanism in suppression of erythropoiesis during inflammation: a crucial role of RCAS1.
Eur J Hematol. 74, 365-373.
6. E. Nagasawa, Y. Abe, J. Nishimura, T. Yanase, H. Nawata, K. Muta. 2005.
Pivotal role of peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR) in regulation of erythroid progenitor cell proliferation and differentiation.
Exp Hematol. 33, 857-864.

7. Y. Nakashima, M. Shiratsuchi, K. Tani, Y. Abe, K. Muta, S. Shiokawa, J. Nishimura. 2005.
Molecular remission by nonmyeloablative stem cell transplantation after autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with multiple myeloma.
Leuk Lymph. 46,1217-1222.
8. P. Wei, S. Taniguchi, Y. Sakai, M. Imamura, T. Inoguchi, H. Nawata, S. Oda, Y. Nakabeppu, J. Nishimura, S. Ikuyama. 2005.
Expression of adipose differentiation-related protein (ADRP) is conjointly regulated by PU.1 and AP-1 in macrophages.
J Biochem. 138, 399-412.
9. M. Hatakenaka, H. Soeda, T. Okafuji, H. Yabuuchi, S. Shiokawa, J. Nishimura, H. Honda. 2005.
Steroid Myopathy : Evaluation of fiber atrophy with T2 relaxation time –rabbit and human study.
Radiology. 238, 650-657.
10. 生田卓也, 本村誠一, 大野博文, 白土基明, 塩川左斗志, 谷口 晋, 生山祥一郎, 境 隆太郎. 西村純二. 2005.
リウマチ性多発筋痛症の診断 3 年後に発症した慢性骨髄単球性白血病の 1 例.
九州リウマチ. 24, 173-178.
11. 谷口 晋, 生山祥一郎, 安田幹彦, 森 正樹, 西村純二. 2005.
非 Clostridium 性ガス産生性感染症を合併した 2 型糖尿病の 3 例.
糖尿病. 48, 341-346
12. 立川義倫, 安部康信, 崔日承, 大塚理恵, 永澤恵理子, 柴田恵介, 西村純二, 名和田新, 牟田耕一郎. 2005
後期生着不全に対し、免疫抑制を強化した同種骨髄非破壊的再移植を施行し安定した正着が得れた急性骨髄性白血病 .
福岡医学会雑誌. 96, 378-382.
13. 藤森 尚, 茶園智人, 本村誠一, 谷口 晋, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 吉河康二, 西村純二. 2005
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.

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」
3. 生山祥一郎. 2005.
甲状腺ホルモンの薬理作用と生理作用:造血系に及ぼす作用.
日本臨床2005(増刊)臨床分子内分泌学3, 84-87.
4. 生山祥一郎, 魏 平, 井口登與志. 2005.
細胞内脂肪滴形成に関わる蛋白 adipose differentiation-related protein (ADRP)の発現
調節機構.
内分泌・糖尿病科,21:147-154.
5. 塩川左斗志. 2005.
RA 患者の疼痛対策.
Medical Practice, 22, 473-476.

著書

1. 西村純二. 2005.
慢性骨髄性白血病.
Year note 2006, Selected article. 1133-1140.
Medic Media, 東京.
2. 塩川左斗志. 2005.
基本的パターン :発症早期で活動性があるケース.
慢性疾患薬物療法のツボ 関節リウマチ(川合眞一編). 116-118
日本医事新報社, 東京.
3. 塩川左斗志. 2005.
基本的パターン :発症早期で活動性がないケース
慢性疾患薬物療法のツボ 関節リウマチ(川合眞一編).119-121
日本医事新報社, 東京.
4. 塩川左斗志. 2005.
基本的パターン :進行例で活動性があるケース
慢性疾患薬物療法のツボ 関節リウマチ(川合眞一編).122-124
日本医事新報社, 東京.

5. 塩川左斗志. 2005.
基本的パターン :進行例で活動性がないケース
慢性疾患薬物療法のツボ 関節リウマチ(川合眞一編).125-127
日本医事新報社, 東京.

学会発表

国際学会

1. S. Ikuyama.(2005. 6/2)
There existed “depository genes” first.-Regulatory mechanism of adipose differentiation-related protein (ADRP) expression.
Diabetes Cardiovascular Center Mini-symposium on Diabetes, Growth Hormone, and the Metabolic Syndrome. June 2, 2005, Athens, OH, USA. (Invited Lecture)
2. S. Ikuyama, P. Wei, S. Taniguchi ,T. Inoguchi, H. Nawata,J. Nishimura.(2005. 6/4-6/7)
Regulation of adipose differentiation-related protein (ADRP) by fatty acids in macrophages requires the possible interaction between Ets/AP-1 and PPAR .
87th Annual Meeting of The Endocrine Society, San Diego, USA.

シンポジウム

1. 生山祥一郎. (2005, 3/5)
細胞内脂肪滴蓄積の分子機構と病態
教育講演、第68回京都内分泌同好会、京都市
2. 生山祥一郎. (2005, 10/28)
患者にあわせた骨粗鬆症治療薬の選択について
特別講演 杵築市医師会学術講演会、杵築
3. 生山祥一郎.(2005, 11/6)
免疫のしくみと免疫学的検査法
第46回社会保険指導者講習会伝達講習会、大分

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. 豊田美夏, 生山祥一郎, 谷口 晋, 西村純二 (2005, 10/14-10/15).
持効型インスリンとグリニドあるいは -GI の併用療法について.

第 43 回日本糖尿病学会九州地方会, 熊本.

3. 大野博文, 本村誠一, 塩川左斗志, 西村純二. (2005, 9/17-9/19)
同種末梢血幹細胞移植後に自己免疫性血小板減少症を発症した AML の 1 例.
第 67 日本血液学会 第 47 回日本臨床血液学会, 横浜.
4. 本村誠一, 大野博文, 西村純二. (2005, 9/17-9/19)
骨髓非破壊的同種末梢血幹細胞移植をし得た肺アスペルギルス症合併急性骨髄性白血病の一例.
第 67 日本血液学会 第 47 回日本臨床血液学会, 横浜.
5. 永澤恵理子, 安倍康信, 立川義倫, 武藤敏孝, 大塚理恵, 本村誠一, 鶴池直邦, 西村純二, 牟田耕一郎.(2005, 9/17-9/19)
リンパ系悪性腫瘍に対する Tandem 移植 (Auto/Mini-allo).
第 67 日本血液学会 第 47 回日本臨床血液学会, 横浜.
6. 魏平, 谷口 晋, 井口登與志, 名和田 新, 西村純二, 生山祥一郎 (2005, 7/22-7/23)
マクロファージにおける adipose differentiation-related protein(ADRP)遺伝子の発現調節機構.
第 42 回日本臨床分子医学会学術総会, 京都.
7. 魏平, 谷口 晋, 井口登與志, 名和田 新, 西村純二, 生山祥一郎 (2005, 7/1-7/3)
細胞内脂肪滴蛋白 adipose differentiation-related protein(ADRP)の発現は転写と翻訳後のレベルで制御されている.
第 78 回日本内分泌学会学術総会, 東京.
8. 園田紀之, 井口登與志, 小林邦久, 今村美菜子, 佐藤直市, 孫田淑代, 坪内博孝, 中山三枝子, 佐々木修二, 澤田布美, 森永秀孝, 野村政壽, 谷口 晋, 生山祥一郎, 名和田 新 (2005, 5/12-5/14).
脂肪滴関連蛋白 ADRP トランスジェニックマウスの解析 組織内中性脂肪蓄積とインスリン抵抗性との関連に関する検討.
第 48 回日本糖尿病学会学術集会, 神戸.
9. 塩川左斗志, 西村純二 (2005, 4/17-4/20).
関節リウマチ (RA) と変形性関節症 (OA) 関節滑膜における B 細胞のクロナリティーの相違.
第 49 回日本リウマチ学会総会, 横浜.
10. 本村誠一, 白土基明, 生田卓也, 大野博文, 谷口晋, 塩川左斗志, 生山祥一郎,

西村純二 (2005, 4/17-4/20).

骨髓非破壊的同種造血幹細胞移植法を用いた全身性強皮症治療の試み.
第 49 回日本リウマチ学会総会, 横浜.

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、ゲノム情報はその複製過程で生じる突然変異により変化する可能性がある。突然変異、すなわちゲノムの可変性は、生物にとって2つの大きな意義を持っている。塩基置換、重複・欠失、組換え、ゲノムの倍化などのゲノムの変化が生物種の多様性を決定し、進化に寄与しているとすれば、突然変異は生物進化の原動力とみなすことができる。一方、このようなゲノムの変化は短期的に見ると個体の存続や子孫の維持の破綻の原因となることが明らかになっている。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となる様々なゲノム障害を引き起こす。ゲノム障害を被った多細胞生物においては、正常な細胞の機能や組織の恒常性を維持するために細胞増殖の停止とプログラム細胞死の誘導、あるいは細胞の増殖と分化といった細胞運命の緻密な制御が重要であると考えられる。

本分野では、活性酸素による非増殖性細胞のゲノム障害として「脳・神経細胞死」に、また増殖性細胞のゲノム障害として「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」の解明を目指して研究を進めている。さらに、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遺伝子の解析から、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」の解明を進めるとともに、「脳ゲノム機能の制御機構」の解明を目指している。

平成17年度の人事異動は次の通りであった。4月には、大学院医学系学府大学院生(博士課程)として一年次の岩間映二、湯通堂紀子の2名が加わり、久留米大学医学部より山田英孝が研究生として入学した。10月1日に Nona Abolhassani(イランからの国費留学生)が研究生として入学した。日本学術振興会の外国人特別研究員として盛子敬が10月1日より赴任した。平成18年2月より、倉元美絵子が事務補佐員として赴任した。平成18年3月末で大学院生の牛島泰宏、梶谷康介が学位取得の上修了、卒業した。事務補佐員の相浦圭伊子が平成18年3月末日付けで退職した。

A. 活性酸素によるゲノム障害とヒトゲノムの多様性

活性酸素に曝された DNA やヌクレオチドは様々な酸化化学修飾を受けるが、塩基の中ではグアニンが最も酸化されやすいことが知られており、8位が酸化された 8-oxoguanine (8-oxoG) が主要な酸化体である。我々は、ヒトの組織や培養細胞では核ゲノムあたり1万分子近くの 8-oxoG が恒常的に存在し、一方ミトコンドリアゲノム DNA にはその数倍の 8-oxoG が存在することを明らかにした。我々は、正常人の末梢リンパ球のゲノムに恒常的に存在す

る 8-oxoG の存在部位を染色体上にマップし、分布パターンを細胞間及び個体間で比較した(図参照)。その結果、ヒト染色体に恒常的に存在する 8-oxoG の分布パターンは細胞間及び個体間で高度に保存されており、ヒトゲノムには 8-oxoG が高密度に存在する領域が存在することを見出した。恒常的にゲノム上に存在する 8-oxoG は、その生成と修復のバランスを反映すると考えられ、8-oxoG が高頻度に存在する領域では常に 8-oxoG の生成が修復を上回っている状態と考えられる。

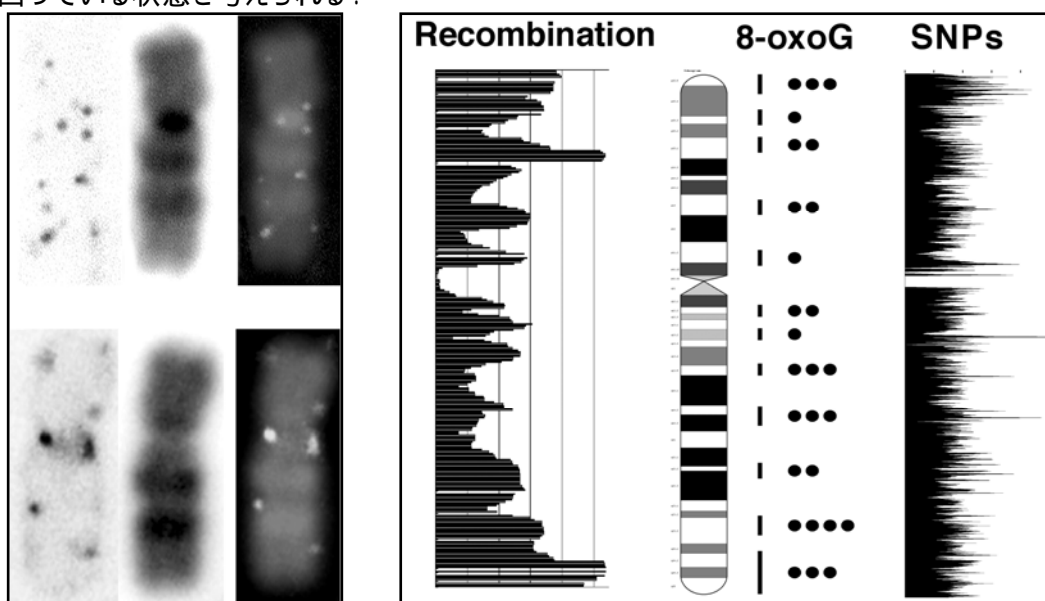


図 . ヒトゲノム上の 8-oxoG の分布は組換えと一塩基多型のホットスポットの分布と一致する。

左上図: 7 番染色体上における 8-oxoG の分布。左下図: 7 番染色体上における MutM により 8-oxoG 除去後の切断末端を蛍光ヌクレオチドで標識した。8-oxoG(上)あるいは MutM 切断点(下), DAPI のみのシグナル, それぞれの合成反転画像を左から順に示す。右図: 11 番染色体上における組換え頻度の分布(Recombination), 8-oxoG の分布, 一塩基多型(SNPs)の分布を示す。

グアニンは4つの塩基の中でも最も酸化されやすいが, GG, GGG などグアニンの繰り返し配列の 5' 側に位置するグアニンは最も酸化されやすい。また, 特異的な DNA 配列や DNA の高次構造が酸素ラジカルをトラップすることも知られており, このような DNA 配列や高次構造の違いが酸化のレベルを決定している可能性が示唆されている。一方, クロマチン構造や複製・転写の状況によって DNA 修復の効率が異なることが知られており, 8-oxoG の分布はこのように複雑な要因の影響を受けると考えられる。

我々は 8-oxoG 分布の不均一性と関連性のあるゲノムの配列情報を抽出する目的で 8-oxoG 密度と種々のゲノム配列情報との相関関係を解析した。その結果, 8-oxoG 高密度存在部位と最も高い相関を示したのは生殖細胞における減数分裂時の組換えのホットスポットであった。ヒトの精巣と卵巣では 8-oxoG の修復酵素(OGG1: 8-oxoG DNA グリコシラーゼ)の発現レベルが比較的高いことから, 8-oxoG の修復は生殖細胞系でも重要と考えられる。特に, 女性では加齢とともに生殖細胞系における組換え頻度が上昇することが知られており, 8-oxoG の蓄積が加齢と共に増加することを反映している可能性が高い。減数分裂の開始には DNA 二本鎖の切断が必須であり, その切断酵素(SPO11)を欠損するマウス

では減数分裂時の組換えが起こらないために、減数分裂が途中で停止する。興味あることに、この減数分裂の停止はいろいろな DNA 損傷を誘発することで部分的に回復される。恐らく DNA 損傷そのものによる DNA 鎖の切断、あるいは修復過程での DNA 鎖の切断が組換えを開始させると考えられ、ヒトにおいても 8-oxoG が高度に蓄積した生殖細胞のゲノム領域においてその除去修復過程で DNA 鎖の切断が生じ、領域特異的な組換えが促進されたものと考えられる。

我々は、さらに 8-oxoG がゲノムの一塩基多型 (SNP) の原因となる可能性を考え、NCBI の SNPs データをもとに、塩基置換のスペクトル別に染色体ごとの度数分布図を作成し、8-oxoG の高密度存在部位の分布と比較した。SNPs の分布とその頻度はゲノム上で一様ではなく、周囲より高い頻度を示す領域が散在していた。また、8-oxoG の高密度存在部位は、SNPs のピーク領域近傍に位置する傾向が高く、特に A T 置換を除く全ての塩基置換が 8-oxoG が高密度に存在する部位で有意に高い事が明らかになった。

DNA 中に 8-oxoG が蓄積すると主に G:C T:A 変異が生じ、低頻度ながら G:C A:T や G:C C:G の変異が生じることが報告されている。さらに、最近 8-oxoG が鋳型鎖に存在すると、DNA 複製時の DNA ポリメラーゼの種類に依存して周辺の領域でも多方向性の塩基置換が起きることが報告された。また、我々は OGG1 や 8-oxo-dGTP 分解酵素 (MTH1) を欠損するマウスで、G:C T:A 変異に加えてそれ以外の一塩基置換やフレームシフト変異の頻度が野生型マウスよりも上昇していることを見出している。すなわち、DNA 中に存在する 8-oxoG が直接塩基置換を引き起こすのみならず、その周辺領域における突然変異の発生頻度に影響を及ぼしている可能性が高い。ヒトゲノム中で 8-oxoG が高密度に存在する領域では多方向性の塩基置換が起こりやすいことが想定され、8-oxoG が SNPs の成因となっている可能性が高い。

B. 活性酸素による脳ゲノム障害とその防御機構

a. パーキンソン病モデルにおけるドパミン神経細胞の変性と核酸の酸化損傷

エネルギー消費の盛んな脳・神経組織では、ミトコンドリアは酸化障害を受けやすいことが知られているが、我々はパーキンソン病患者の剖検脳の解析からドパミン神経の脱落が著しい黒質において残存しているドパミン神経細胞のミトコンドリア DNA に 8-oxoG が高度に蓄積していることを明らかにした。パーキンソン病患者の黒質ではこれに呼応するかのようになり、正常な黒質ではほとんど検出されない MTH1 の発現が観察され、特にミトコンドリアでの発現が高い。一方、ミトコンドリア型 OGG1 も罹患初期の患者の黒質ドパミン神経細胞で発現亢進が認められた。

我々は、黒質ドパミン神経細胞死における 8-oxoG の蓄積の意義を解明する目的で、ドパミン神経の選択的な変性を誘発する 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) を投与したマウスの脳における 8-oxoG の蓄積と動態を詳細に解析した。その結果、MPTP 投与 24 時間後から黒質ドパミン神経の核やミトコンドリア DNA に 8-oxoG が蓄積することを見出した。一方、ドパミン神経が投射する線条体では、MPTP 投与後の 12 時間で既に 8-oxoG がドパミン神経終末のミトコンドリア DNA に蓄積していた。線条体のドパミン神経終末はミトコンドリアが豊富で、MPTP 投与 1 日後から変性し始め、黒質のドパミン神経細胞

体は MPTP 投与2日後以降に脱落し始める。MTH1 欠損マウスでは、線条体のドパミン神経終末のミトコンドリア DNA 中の 8-oxoG のレベルが MPTP 投与後の 12 時間で野生型マウスの3倍に達し、さらに線条体のドパミン神経終末線維の脱落が野生型よりも顕著であった。

MPTP は、グリア細胞などのモノアミノオキシダーゼ B により酸化されて 1-methyl-4-phenylpyridinium イオン (MPP⁺) となる。この MPP⁺ が実際の神経毒性を持つと考えられているが、MPP⁺ はドパミン神経に取り込まれるとミトコンドリア電子伝達系の複合体 I あるいは α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼを阻害し、スーパーオキシドの生成を増加させる。また、MPP⁺ はドパミン神経終末のシナプス小胞内のドパミンを放出させ、結果としてドパミンの自己酸化により過酸化水素の生成を増大させる。このような酸化ストレスの亢進に伴い、細胞内ヌクレオチドプールの dGTP や dATP が酸化されるのであろう。我々は MTH1 欠損線維芽細胞株の解析から、MTH1 の基質である 8-oxo-dGTP や 2-OH-dATP などの酸化プリンヌクレオチドが細胞内に蓄積すると、ミトコンドリア DNA へ取り込まれてミトコンドリア機能障害を誘発し、細胞障害や細胞死を引き起こすことを明らかにしている。MTH1 欠損マウスの黒質ドパミン神経終末のミトコンドリアにおいても、蓄積した酸化プリンヌクレオチド三リン酸がミトコンドリア DNA に取り込まれ、ミトコンドリア機能障害を引き起こし、結果として神経終末の変性が加速されたと考えられる。

b. 海馬の神経興奮毒性にともなう核酸の酸化損傷

中枢神経系における興奮毒性が酸化ストレスの亢進を伴うことは以前から指摘されており、カニン酸投与ラットの海馬において 8-oxoG が蓄積することが報告されている。我々はカニン酸投与後の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 の蓄積を免疫組織化学的に検討し、神経興奮毒性に伴う酸化ストレスの程度を細胞レベルで評価した。カニン酸の腹腔内投与後 6-12 時間をピークにミトコンドリア DNA および細胞内 RNA 中の 8-oxoG 含量が増加したが、数日後には元のレベルに復帰した。共焦点レーザー顕微鏡による観察から海馬 CA3 領域での 8-oxoG の蓄積はマイクログリアのミトコンドリア DNA で最も顕著であったが、錐体細胞、アストロサイトにおいても核 DNA あるいは細胞質 RNA に 8-oxoG の蓄積が確認された。細胞 DNA や RNA 中の 8-oxoG の蓄積は 8-oxo-dGTPase 活性を持つ MTH1 と 8-oxoG DNA グリコシラーゼ活性を持つ OGG1 によって抑制されると期待されることから、我々はカニン酸投与後の海馬における MTH1 と OGG1 の発現レベルを検討した。カニン酸投与後 MTH1 mRNA レベルは一過性に減少後増加しており、MTH1 タンパク質のレベルも増加していることが確認された。一方、OGG1 mRNA レベルはカニン酸投与により変化しなかった。MTH1-null マウスにカニン酸を投与したところ、野生型マウスと比べて海馬 CA3 の錐体細胞の脱落に差は認められないものの、CA3 領域のミトコンドリア DNA と細胞質 RNA における 8-oxoG の蓄積が有意に上昇していた。以上の結果は、MTH1 が神経興奮毒性によって惹起される海馬、特にマイクログリアへの酸化ヌクレオチドの蓄積を効率よく抑制することを初めて証明したものである。

業績目録

原著論文

1. Sakai, Y., Oda, H., Yoshimura, D., Furuichi, M., Kang, D., Iwai, S., Hara, T., and Nakabeppu, Y. 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. (in press), doi 10.1007/s00109-00006-00053-00105.
2. Arima, H., Kiyohara, Y., Tanizaki, Y., Nakabeppu, Y., Kubo, M., Kato, I., Sueishi, K., Tsuneyoshi, M., Fujishima, M., and Iida, M. 2006.
Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism modifies the smoking-cancer association: the Hisayama Study.
Eur J Cancer Prevent. 15, 196-201.
3. Ohno, M., Miura, T., Furuichi, M., Tominaga, Y., Tsuchimoto, D., Sakumi, K., and Nakabeppu, Y. 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
4. Powell, K. J., Binder, T. L., Hori, S., Nakabeppu, Y., R., D., Weinberger, Lipska, B. K., and Robertson, G. S. 2006.
Neonatal Ventral Hippocampal Lesions Produce an Elevation of Δ FosB-like Protein(s) In the Rodent Neocortex.
Neuropsychopharmacology. 31, 700-711.
5. Nakamura, T. Y., Jeromin, A., Smith, G., Kurushima, H., Koga, H., Nakabeppu, Y., Wakabayashi, S., and Nabekura, J. 2006.
Novel Role of Neuronal Ca^{2+} Sensor-1 as a Survival Factor Up-Regulated in Injured Neurons.
J Cell Biol. 172, 1081-1091.
6. Kajitani, K., Yamaguchi, H., Dan, Y., Furuichi, M., Kang, D., and Nakabeppu, Y. 2006.
MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase, suppresses the accumulation of oxidative damage of nucleic acids in the hippocampal microglia during kainate-induced excitotoxicity.
J Neurosci. 26, 1688-1698.
7. Yamaguchi, H., Kajitani, K., Dan, Y., Furuichi, M., Ohno, M., Sakumi, K., Kang, D., and Nakabeppu, Y. 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.
8. Sato, T., Hidaka, K., Iwanaga, A., Ito, M., Asano, M., Nakabeppu, Y., Morisaki, T., and Yoshioka, K. 2005.

- Impairment of cardiomyogenesis in embryonic stem cells lacking scaffold protein JSAP1.
Biochem Biophys Res Commun. 338, 1152-1157.
9. Torisu, K., Tsuchimoto, D., Ohnishi, Y., and Nakabeppu, Y. 2005.
Hematopoietic tissue-specific expression of mouse Neil3 for endonuclease VIII-like protein.
J Biochem. 138, 763-772.
 10. Wei, P., Taniguchi, S., Sakai, Y., Imamura, M., Inoguchi, T., Nawata, H., Oda, S., Nakabeppu, Y., Nishimura, J., and Ikuyama, S. 2005.
Expression of adipose differentiation-related protein (ADRP) is conjointly regulated by PU.1 and AP-1 in macrophages.
J Biochem. 138, 399-412.
 11. Kurushima, H., Ohno, M., Miura, T., Nakamura, T. Y., Horie, H., Kadoya, T., Ooboshi, H., Kitazono, T., Ibayashi, S., Iida, M., and Nakabeppu, Y. 2005.
Selective induction of Δ FosB in the brain after transient forebrain ischemia accompanied by an increased expression of galectin-1, and the implication of Δ FosB and galectin-1 in neuroprotection and neurogenesis.
Cell Death Differ. 12, 1078-1096.
 12. Kunisada, M., Sakumi, K., Tominaga, Y., Budiyo, A., Ueda, M., Ichihashi, M., Nakabeppu, Y., and Nishigori, C. 2005.
8-Oxoguanine Formation Induced by Chronic UVB Exposure Makes Ogg1 Knockout Mice Susceptible to Skin Carcinogenesis.
Cancer Res. 65, 6006-6010.
 13. Campalans, A., Marsin, S., Nakabeppu, Y., O'Connor T, R., Boiteux, S., and Radicella, J. P. 2005.
XRCC1 interactions with multiple DNA glycosylases: A model for its recruitment to base excision repair.
DNA Repair. 4, 826-835.
 14. Tamura, K., Hua, B., Adachi, S., Guney, I., Kawauchi, J., Morioka, M., Tamamori-Adachi, M., Tanaka, Y., Nakabeppu, Y., Sunamori, M., Sedivy, J. M., Kitajima, S. 2005.
Stress response gene ATF3 is a target of c-myc in serum-induced cell proliferation.
EMBO J. 24, 2590-2601.

総説

1. Nakabeppu, Y., Kajitani, K., Sakamoto, K., Yamaguchi, H., and Tsuchimoto, D. 2006.
MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase, prevents the cytotoxicity and neurotoxicity of oxidized purine nucleotides. *DNA Repair.* in press,
doi:10.1016/j.dnarep.2006.1003.1003.
2. Nakabeppu, Y., Sakumi, K., Tsuchimoto, D., Tsuzuki, T., and Nakatsu, Y. 2006.
Mutagenesis and Carcinogenesis Caused by the Oxidation of Nucleic Acids.
Biol Chem. 387, 373-379.

3. Nakabeppu, Y., Behmanesh, M., Yamaguchi, H., Yoshimura, D., and Sakumi, K. 2006. Prevention of the mutagenicity and cytotoxicity of oxidized purine nucleotides. *Oxidative Damage to Nucleic Acids*, M. D. Evans, and M. S. Cooke, eds. (Georgetown, TX 78626: Landes Bioscience (<http://eurekah.com/abstract.php?chapid=2920&bookid=214&catid=78>)).
4. Miura, T., Ohnishi, Y., Kurushima, H., Horie, H., Kadoya, T., and Nakabeppu, Y. 2005. Regulation of the Neuronal Fate by Δ FosB and its Downstream Target, Galectin-1. *Curr Drug Targets*. 6, 437-444.
5. 中別府雄作. 2006
活性酸素による核酸の酸化とゲノム応答.
細胞工学, 25, 137-142
6. 中別府雄作. 2006
核酸の酸化と発癌
医学のあゆみ, 214, 949-952.
7. 土本大介, 中別府雄作. 2006
酸化的DNA損傷と防御機構.
別冊「医学のあゆみ」, レドックス・ストレス防御の医学 (淀井淳司・松尾禎之 編), pp.61-66.
医歯薬出版株式会社, 東京.
8. 中別府雄作, 2005.
ミトコンドリアゲノムの酸化傷害に対する防御機構.
蛋白質 核酸 酵素, 50, 1770-1773.
9. 中別府雄作. 2005
酸化ストレスから細胞を守る酵素:MTH1
蛋白質 核酸 酵素, 50, 940-948.
10. 中別府雄作. 2005.
核酸の酸化障害の防御に関わる酵素とその発現変動.
酸化ストレスマーカー (二木鋭雄・野口範子・内田浩二編), pp.188-193.
学会出版センター, 東京.

学会発表

1. 久留島秀朗, 大星博明, 北園孝成, 井林雪郎, 飯田三雄, 中別府雄作 (2006, 3/19-3/20)
前脳虚血後に発現する Δ FosB はガレクチン-1 と共に神経の保護・新生に関与する.
第 31 回日本脳卒中学会総会, 横浜.
2. Takeo Arai, Jiro Fukae, Taku Hatano, ShinOichiro Kubo, Yusaku Nakabeppu, Hideo Mori, Yoshikuni Mizuno, Nobutaka Hattori (2005, 12/14-12/17).
hMUTYH is up-regulated in Substantia Nigra in Parkinson's disease.
International Conference on Mitochondria and Life 2005, Tokyo.
3. Yusaku Nakabeppu, Hiroo Yamaguchi, Kosuke Kajitani, Yukihiko Dan, Masato Furuichi,

- Mizuki Ohno, Kunihiko Sakumi (2005, 12/14-12/17).
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.
International Conference on Mitochondria and Life 2005, Tokyo.
4. 中別府雄作, 岡素雅子, 山口浩雄, 大野みずき, 岩間映二, 市川淳二, 土本大介, 作見邦彦 (2005, 12/7-12/10).
核酸の酸化に起因する細胞死の制御機構
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 5. 大西克典, 作見邦彦, 本田(大西)陽子, 中別府雄作 (2005, 12/7-12/10).
マウス胚性幹細胞における FosB の発現亢進は基底膜を構成する Laminin および Collagen type IV とその発現制御に関わる Akt/PKB および GATA6 mRNA レベルを上昇させる.
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 6. 本田(大西)陽子, 大西克典, 江藤圭, 石橋仁, 梶谷康介, 作見邦彦, 野田百美, 中別府雄作 (2005, 12/7-12/10).
FosB はカイン酸興奮毒性に対する脳の応答を抑制的に制御する.
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 7. 梶谷康介, 山口浩雄, 段由規彦, 作見邦彦, 大野みずき, 古市正人, 中別府雄作 (2005, 12/7-12/10).
MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase, suppresses the accumulation of oxidative damage of nucleic acids in hippocampus during kainate-induced excitotoxicity.
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 8. 作見邦彦, Behmanesh Mehrdad, 豊國伸哉, 土本大介, 中別府雄作 (2005, 12/7-12/10).
ITPA-null mutation leads to postnatal lethality due to accumulation of inosine nucleotides in RNA and nucleotide pool.
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 9. 土本大介, 鳥巢久美子, 中別府雄作 (2005, 12/7-12/10).
Neil3 遺伝子改変マウスにおける末梢白血球減少.
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 10. 市川淳二, 土本大介, 吉村大輔, 大野みずき, 中別府雄作 (2005, 12/7-12/10).
酸化プリンヌクレオシド三リン酸分解酵素 MTH1 の生物学的重要性の検討
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 11. 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 (2005, 12/7-12/10).
核とミトコンドリアゲノムに蓄積した 8-oxoG は異なる経路により細胞死を誘導する.
第28回日本分子生物学会年会, 福岡.
 12. 紙谷浩之, Claudio Cadena, 薬師寺浩之, 南川典昭, 松田彰, Sylvie Pochet, 中別府雄作, 原島秀吉 (2005, 12/7-12/10).

ヒト MTH1 蛋白質の合成ヌクレオチドアナログの認識(2) .

第28回日本分子生物学会年会, 福岡 .

13. Yusaku Nakabeppu, Mehrdad Behmanesh, Koske Kajitani, Hiroo Yamaguchi, And Kunihiko Sakumi (2005, 11/9-11/11).
Mutagenecity and cytotoxicity of oxidized purine nucleotides and their prevention.
The 3rd Meeting of the International Redox Network, Kyoto.
14. Makoto Kunisada, Kunihiko Sakumi, Yohei Tominaga, Arief Budiyo, Masato Ueda, Masamitsu Ichihashi, Yusaku Nakabeppu, And Chikako Nishigori (2005, 11/9-11/11).
The involvement of 8-oxoguanine formation in ultraviolet B induced skin carcinogenesis.
The 3rd Meeting of the International Redox Network, Kyoto.
15. Merhdad Behmanesh, Kunihiko Sakumi, Yoshinori Ohnishi and Yusaku Nakabeppu (2005, 8/23-8/25).
Biological significance of mouse Itpa gene encoding inosine triphosphatase.
13th Iranian Biology conference and the first international conference of Biology. Rasht, I.R. Iran.
16. Furuya H, Ikezoe K, Hayashi T, Fukumaki Y, Nakabeppu Y, Kira J and Fujii N (2005, 10/19-10/22).
SOME FLAVONOIDS PREVENT CIS- AND TRANS- EFFECT OF EXPANDED CTG REPEATS IN A STABLE PC12 CELL TRANSFORMANTS.
5th The International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting, Québec.
17. Yusaku Nakabeppu (2005, 10/23-10/26).
Mutagenesis and Carcinogenesis Caused by Oxidation of Nucleic Acids
International Conference on Chronic oxidative stress and cancer: Mechanisms, biomarkers and prevention, Heidelberg.
18. Yoshinori Ohnishi, Kunihiko Sakumi, Katsuhisa Yamazaki, Yoko Honda-Ohnishi, Tomofumi Miura, Yohei Tominaga, Yusaku Nakabeppu (2005, 11/12-12/16).
Behavioral and microarray analysis of knock-in mouse which express Δ FosB exclusively from fosB gene.
The 35th Annual meeting, Society for Neuroscience, Washington, DC.
19. Yoko Honda-Ohnishi, Yoshinori Ohnishi, Kei-ichiro Takase, Hitoshi Ishibashi, Kei Eto, Kosuke Kajitani, Kunihiko Sakumi, Mami Noda, Suminobu Goto, Yusaku Nakabeppu(2005, 11/12-12/16).
 Δ FosB determines resistance to excitotoxicity induced by kainic acid.
The 35th Annual meeting, Society for Neuroscience, Washington, DC.
20. Yusaku Nakabeppu, Yoshinori Ohnishi, Yoko Honda-Ohnishi, Kunihiko Sakumi (2005, 9/29-9/30).
Regulation of brain functions by Δ FosB, a naturally occurring truncated form of FosB.
第48回日本神経化学会大会, 福岡 .
21. Yoshinori Ohnishi, Kunihiko Sakumi, Katsuhisa Yamazaki, Yoko Honda-Ohnishi, Tomofumi

- Miura, Yohei Tominaga, Yusaku Nakabeppu (2005, 9/29-9/30).
Behavioral and microarray analysis of knock-in mouse which express Δ FosB exclusively from fosB gene.
第 48 回日本神経化学会大会, 福岡.
22. Yoko Honda-Ohnishi, Yoshinori Ohnishi, Kei-ichiro Takase, Hitoshi Ishibashi, Kei Eto, Kosuke Kajitani, Kunihiko Sakumi, Mami Noda, Suminobu Goto, Yusaku Nakabeppu(2005, 9/29-9/30).
 Δ FosB determines resistance to excitotoxicity induced by kainic acid.
第 48 回日本神経化学会大会, 福岡.
23. Kosuke Kajitani, Hiroo Yamaguchi, Kunihiko Sakumi, Mizuki Ohno, Masato Furuichi, Yusaku Nakabeppu (2005, 9/29-9/30).
Accumulation of oxidative damage in nucleic acids of brain following kainic acid-induced excitotoxicity is suppressed by MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase.
第 48 回日本神経化学会大会, 福岡.
24. 国定充, 作見邦彦, 富永洋平, 上田正登, 市橋正光, 中別府雄作, 錦織千佳子 (2005, 9/14-9/16).
慢性紫外線 (UVB) 照射は皮膚に 8-oxoguanine の蓄積を誘発し, *Ogg1* ホモ欠損マウスにおいて皮膚発癌発生率を有意に増加させる.
第 64 回日本癌学会学術総会, 札幌.
25. 中別府雄作, 岡素雅子, 牛島泰宏, 大野みずき, 古市正人, 土本大介, 作見邦彦 (2005, 9/14-9/16).
酸化的ストレス下における細胞死の MTH1, OGG1, MUTYH による制御と発がんにおける意義.
第 64 回日本癌学会学術総会, 札幌.
25. 作見邦彦, Behmanesh Mehrdad, 中別府 雄作 (2005, 9/14-9/16).
Itpa 遺伝子ノックアウトマウスの作製.
第 64 回日本癌学会学術総会, 札幌.
26. 中津可道, 山内一巳, 磯田拓郎, 中別府 雄作, 續輝久 (2005, 9/14-9/16).
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 64 回日本癌学会学術総会, 札幌.
27. 蔵忍, 中津可道, 中別府 雄作, 續輝久 (2005, 9/14-9/16).
Ogg1 遺伝子欠損マウスにおける X 染誘発突然変異の解析.
第 64 回日本癌学会学術総会, 札幌.
28. Sugako Oka, Mizuki Ohno, Kunihiko Sakumi, Masato Furuichi, Daisuke Tsuchimoto and Yusaku Nakabeppu (2005, 9/3-9/8).
Two distinct pathways for cell death triggered by accumulation of 8-oxoguanine in nuclear and mitochondrial genomes.
9th International Conference on Environmental Mutagens, San Francisco.
29. Keiji Hashimoto, Yusaku Nakabeppu and Masaaki Moriya (2005, 9/3-9/8).

- Postreplicative protection mechanism against 8-oxo-dG induced mutagenesis in mammalian cells.
9th International Conference on Environmental Mutagens, San Francisco.
30. Teruhisa Tsuzuki, Kazumi Yamauchi, Yoshimichi Nakatsu, Katsumi Sakamoto, Yohei Tominaga, Kaoru Yoshiyama, Takuro Isoda, Kunihiko Sakumi, Hisaji Maki, Yusaku Nakabeppu (2005, 9/3-9/8).
Spontaneous mutagenesis in mice with a targeted disruption of the *Mutyh* gene.
9th International Conference on Environmental Mutagens, San Francisco.
31. Mizuki Ohno, Tomofumi Miura, Masato Furuichi, Yohei Tominaga, Daisuke Tsuchimoto, Kunihiko Sakumi, Yusaku Nakabeppu (2005, 7/22-7/24).
Genome-wide distribution of 8-oxoguanine in human genome and the genomic variability.
Shirokane International Symposium, Tokyo
32. 中別府雄作 (2005, 7/26-7/28).
MPTP 誘発ドパミン神経障害における酸化塩基 8-オキソグアニンの蓄積の意義
第 28 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜.