

[0017]九州大学生体防御医学研究所年報：2002年

<https://doi.org/10.15017/6249>

出版情報：九州大学生体防御医学研究所年報. 17, 2003-07. 九州大学生体防御医学研究所
バージョン：
権利関係：



個 体 機 能 制 御 学 部 門
Department of Immunobiology and Neuroscience

免疫制御学分野

Division of Molecular and Cellular Immunology

研究室の目標

当教室の目標は“細胞の増殖、分化、死のメカニズムを分子レベルで明らかにし、あわせてその成果をもって医学、医療に貢献すること”である。研究費は病に苦しむ人々や失業に泣く人々から未来を託されて与えられたものである。したがって当教室では基礎研究を通じて病気（免疫関連疾患と癌）を理解し、新たな治療法に結びつくような研究をめざす。我々の研究は分子生物学の知識と技術をベースに行われ、より広く医学を下支えするもの、10年後、20年後にも知識や技術として広く使われるべきものである。

研究室の動向

平成14年度は人事に大きな変動があった。岸原健二助手は平成14年4月に感染制御学分野に転出し、現在徳島大学で助教授に昇任し活躍している。14年4月から安芸、緒方、盛、知念の4名の大学院生が入学した。14年9月に長年助手として協力してくれた箕口滋君が東京大学医科学研究所に転任した。はじめての泊まり込みでのリトリートの世話では疲労困憊しながらも非常に奮闘してくれた。代わって平成15年2月より学術振興会特別研究員であった花田俊勝君が助手となつた。大学院生の箕口真弓さんは学位論文を完成させ、夫とともに医科研へ特別研究生として移動し現在中内教授のもとで再生医学研究に取り組んでいる。学振特別研究員（PD）の佐々木敦朗君は14年11月よりアメリカ合衆国UCSDで粘菌を使った新たな研究にチャレンジすることとなつた。彼の論文はReviewerとの激闘の末15年1月にNature Cell Biologyにacceptされた。久留米時代より研究補助員として働いてくれていた奥さんの美加さんもともにアメリカに旅立つた。同じく研究補助員として活躍してくれた竹内道代さんは出産のため退職したが15年6月より復帰している。久留米大学より派遣されていた庄田孝則君（整形外科）はJCIに論文を発表し14年3月に、吉田隆文君（内科）はJEMに論文を発表し15年3月に医局にもどつた。吉田君は3年の早期修了となつたが久留米大学で3年で学位取得した第一号だそうである。現在も臨床のかたわら研究に取り組んでる。厚生流動研究員であった稻垣匡子さんは平成15年4月より宮崎医科大学寄生虫学教室に転任した。平成14年10月より学術支援研究員として真嶋隆一君が参画しプロテオミックスを用いた研究に従事してくれている。D4であった金城市子君はImmunityに論文を発表し平成15年3月無事学位を取得し卒業、さらにCOE研究員として研鑽を続けることになった。平成14年4月よりPREST研究員であった山中篤君は15年3月で退職し4月より長崎大学医学部に学士入学した。事務の補佐をしてくれた井上さんが出産のために退職しかわって山浦文子さんが手伝いをしてくれている。

研究成果

A. Sprouty4によるRas-independentなMAPキナーゼ活性化の抑制機構

Drosophilaの気管の発生異常をきたす遺伝子としてSproutyは発見された。変異によって気管の分

枝が多くなり、出芽 (Sprout) したような状態になることから Sprouty と命名された。遺伝学的な解析から FGF シグナルに antagonize する分子と考えられた。哺乳類では 4 種類のホモログが知られており、少なくとも Sprouty2, Sprouty4 は EGF、FGF、フォルボールエステルなどの刺激によって MAP キナーゼを介して転写誘導される。我々は Sprouty2,4 が FGF による MAP キナーゼの活性化を抑制するものの、EGF による MAP キナーゼ活性化には影響しないことをすでに報告しており、チロシンキナーゼによる MAP キナーゼの活性化には Sprouty 感受性と非感受性の経路があることが示唆される。我々は Sprouty の N 末端に保存されたチロシン残基に注目し、これをフェニルアラニンに置換すると野生型 Sprouty に対しドミナントネガティブ型分子として作用し、FGF シグナルを増強することを発見した。しかしこのチロシン残基は通常のレベルではリン酸化されることはなくその分子機構は今だ不明である。また Sprouty が Ras の上流で働くのか、下流で働くのかすら明らかではなかった。

我々は Sprouty が Ras 非依存的に Raf-MAP キナーゼ経路を抑制する可能性について検討した。そのために Ras 非依存的に、PKC に依存して MAP キナーゼを活性化する VEGF を用いた。すでに東大医科研の渋谷らのグループにより VEGF は PLC γ -PKC 経路によって Raf を活性化すること、その際に Ras は全く使用しないことが証明されている。我々は Sprouty2, Sprouty4 が非常に強力に VEGF による MAP キナーゼの活性化を抑制することを見出した。このとき PKC の活性化は抑制しないことから sprouty は PKC と raf の間で作用する。我々は Sprouty は Raf と恒常に会合しており会合は C 末端の cycstein に富む領域で起っていることを示した。Raf と会合できない mutant は VEGF による MAP キナーゼの活性化を遷延化することから dominant-negative 的に作用した。また驚くべきことに N 末端領域を欠く Sprouty も VEGF による MAP キナーゼの活性化を抑制した。以上の結果は FGF を抑制するメカニズムと VEGF を抑制するメカニズムは異なることを示唆する。我々は Sprouty は Raf と会合することで Raf キナーゼによって Raf が活性化されるステップが阻害されると考えている。Sprouty を用いて選択的に VEGF シグナルのみを抑制することが可能となり腫瘍の血管新生抑制などに応用できると考えられる。

B . HCV コア蛋白質による STAT3 の恒常的活性化と細胞癌化

STAT3 の恒常的活性化は多くのヒト腫瘍や慢性炎症性疾患で観察されるがそのメカニズムについてはほとんど解明されていない。C 型肝炎ウイルス (HCV) は C 型慢性肝炎の原因であり、これらの患者は肝がん発症の高危険グループである。しかし試験管内で効率よくウイルスを増殖させる系がないこと、およびチンパンジー以外に C 型肝炎の疾患モデルがないことなどから肝発がんの分子機構は十分理解されていない。そのためにウイルス感染による肝疾患の解析をするにはウイルスの遺伝子を発現させた細胞における細胞増殖の変化を解析するか、HCV 遺伝子の一部あるいは全てを発現するトランスジェニックマウスを用いた解析が必要である。これらの研究結果よりコアタンパク質が癌化に関与することが知られている。しかしその分子機構は明らかにされていなかった。我々は HCV のコア蛋白が STAT3 と直接結合しチロシンリン酸化と転写活性の増強を行うことを見いだした。コア蛋白の強制発現によって STAT3 依存性に cyclinD や BclX の発現が増強し細胞増殖が促進された。さらに STAT3 の活性化をドミナントネガティブ (dn)STAT3 で抑制すると癌細胞の

増殖が抑制された。コア蛋白による 3T3 細胞の癌化や造腫瘍能にも STAT3 が必要であった。本研究はウイルス蛋白が STAT3 を直接活性化することで形質転換を誘導しうることをはじめて示したもので、感染細胞の癌化および免疫系からのエスケープ機構のひとつと考えられる。

C . 新規アダプター分子 STAP2 のクローニングとノックアウトマウスの解析

c-kit を bait としたスクリーニングを行った。その結果 STAP-1 および STAP-2 と呼ぶ新規遺伝子をクローニングした。この遺伝子は Pleckstrin homology (PH) ドメイン、Src homology 2 (SH2) ドメインを有するアダプター分子で c-kit や EGF によってチロシンリん酸化された。 RT-PCR の結果、STAP-1 の発現は c-kit を有する骨髄細胞に限局するが STAP-2 は全身の組織で発現することが明かとなった。STAP-2 は C 末端に STAT3 の認識配列である YXXQ モチーフを有する。STAP-2 は骨髄細胞や肝実質細胞において LIF や IL-6 によって強く誘導された。また肝細胞株において STAP-2 を強制発現させると IL-6 による急性蛋白の発現上昇が観察された。これらの作用には YXXQ モチーフが必要であった。次に STAP-2 のノックアウトマウスを作製して LPS による肝臓における STAT3 の活性化と急性蛋白の産生を測定した。その結果 STAP-2 を欠損する肝細胞では IL-6 による STAT3 の活性化の早期の低下と急性蛋白産生の減少が認められた。以上の結果より STAP-2 は STAT3 の活性に関与するアダプター分子であることが証明された。このようなアダプター分子の存在はこれまで報告はなく全く新しい STAT3 の活性化機構を提唱することができた。

D . SOCS1 による LPS シグナルの抑制

グラム陰性細菌細胞壁成分であるリポ多糖(lipopolysaccharide, LPS)は、生体の免疫反応を強力に誘起するとともに致死的な影響を与えることもある物質である。LPS の重要な標的細胞はマクロファージや単核球細胞であり、TNF- α 、IL-1、IL-6、IFN- γ などの炎症性サイトカインや活性酸素、亜硝酸イオン NO₂-の産生を誘導する。 LPS が LPS 結合タンパク(LPBP) とともに、細胞膜上の TLR4-MD2 複合体に結合すると、アダプター分子 MyD88 を介して、セリンスレオニンキナーゼ IRAK を活性化する。IRAK は、アダプター分子 TRAF6 を介して I κ B kinase(IKK)を活性化させ、リン酸化をうけた I κ B α が分解されると、NF- κ B が核内へ移行して、転写因子として iNOS や TNF α などの発現を誘導する。 また、同時に JNK/SAPK, p38, ERK, などの MAPK のカスケードも活性化され、転写因子 AP-1 も活性化されることが知られている。最近、MyD88 欠損マクロファージでも LPS による NF- κ B や JNK/SAPK, p38 の活性化をみとめることから、LPS から NF- κ B, JNK/SAPK, p38 を活性化する MyD88 非依存性の経路が存在する可能性が報告された。一方 SOCS (suppressor of cytokine-signaling) ファミリーはサイトカインシグナル経路を負に制御する分子として同定されたが、SOCS-1、SOCS-3 分子が、JAK-STAT 経路だけでなく、マクロファージにおいて LPS や CpG-ODN 刺激によっても発現誘導されることが報告された。我々も、LPS によるマクロファージの活性化を抑制する IL-10 の作用に SOCS-3 が重要な役割を果たしていることを見い出した。さらに SOCS-1 欠損マウスやマクロファージを用いた解析から SOCS1 が LPS のシグナルやトレランスを制御していることを明らかにした。今後抑制分子のさらなる解析を通して、細菌感染によって引き起こされるエンドトキシンショックなどの致命的な障害の治療への応用が期待される。

E . ノックアウトマウスを用いた細胞死・細胞分化の解析

Apaf1 はミトコンドリア依存性アポトーシス誘導機構においてカスパーゼを活性化するアダプターモルエドニアであり、神経系の発生や細胞の癌化に重要な役割を果たす。Apaf1 とアポトーシス抑制遺伝子 Bcl-x を欠損するマウスの解析により、カスパーゼや Apaf1 依存性アポトーシス、非依存性細胞死がさまざまな細胞・組織において使い分けられていることを明らかにした。

F . IL-27 による Th1 分化の誘導メカニズム

サイトカインバランスは感染や自己免疫疾患の経過に影響する。IL-12 が Th1 反応を誘導する一方、IL-4 は Th2 反応を惹起する。Th1 反応の誘導に重要な分子 WSX-1(IL-27 受容体)の下流で、Jak1/Stat1 が活性化し、Th1 特異的転写因子 T-bet が誘導されることを明らかにした。IL-27/WSX-1 シグナルが Th1 反応の誘導や炎症反応の制御により、さまざまな自己免疫疾患や感染において重要な役割を果たすことを明らかにしつつある。

業績目録

原著論文

1. Haraguchi M, Tsujimoto H, Fukushima M, Higuchi I, Kurabayashi H, Utsumi H, Nakayama A, Hashizume Y, Hirato J, Yoshida H, Hara H, Hamano S, Kawaguchi H, Furukawa T, Miyazono K, Ishikawa F, Toyoshima H, Kaname T, Komatsu M, Chen ZS, Gotanda T, Tachiwada T, Sumizawa T, Miyadera K, Osame M, Noda T, Yamada Y, Akiyama S: Targeted deletion of both thymidine phosphorylase and uridine phosphorylase and consequent disorders in mice. *Mol Cell Biol* 22: 5212-21., 2002
2. Yoshida H, Okada Y, Kinoshita N, Hara H, Sasaki M, Sawa H, Nagashima K, Mak TW, Ikeda K, Motoyama N: Differential requirement for Apaf1 and Bcl-X(L) in the regulation of programmed cell death during development. *Cell Death Differ* 9: 1273-1276., 2002
3. Ferry S, Matsuda M, Yoshida H, Hirata M: Inositol hexakisphosphate blocks tumor cell growth by activating apoptotic machinery as well as by inhibiting the Akt/NFkappaB-mediated cell survival pathway. *Carcinogenesis* 23: 2031-2041., 2002
4. Takayanagi H, Kim S, Koga T, Nishina H, Isshiki M, Yoshida H, Saiura A, Isobe M, Yokochi T, Inoue J, Wagner EF, Mak TW, Kodama T, Taniguchi T: Induction and Activation of the Transcription Factor NFATc1 (NFAT2) Integrate RANKL Signaling in Terminal Differentiation of Osteoclasts. *Dev Cell* 3: 889-901, 2002
5. Inagaki-Ohara K, Takamura N, Yada S, Alnadjim Z, Liu E, Yu X, Yoshida H, Lin T: Radiation-induced crypt intestinal epithelial cell apoptosis in vivo involves both caspase-3-dependent and -independent pathways. *Dig Dis Sci* 47: 2823-30, 2002
6. Okamoto T, Yamagishi SI, Inagaki Y, Amano S, Koga K, Abe R, Takeuchi M, Ohno S, Yoshimura A, Makita Z. 2002. Angiogenesis induced by advanced glycation end products and its prevention by cerivastatin. *FASEB J.* 16 , 1928-1930.

7. Kinjyo I, Hanada T, Inagaki-Ohara K, Mori H, Aki D, Ohishi M, Yoshida H, Kubo M, and Yoshimura A .2002.
SOCS1/JAB Is a Negative Regulator of LPS-Induced Macrophage Activation.
Immunity.17 , 583-591
8. Seki YI, Hayashi K, Matsumoto A, Seki N, Tsukada J, Ransom J, Naka T, Kishimoto T, Yoshimura A, Kubo M. 2002.
Expression of the suppressor of cytokine signaling-5 (SOCS5) negatively regulates IL-4-dependent STAT6 activation and Th2 differentiation.
Proc Natl Acad Sci U S A.99 , 13003-13008
9. Okamoto T, Yamagishi S, Inagaki Y, Amano S, Takeuchi M, Kikuchi S, Ohno S, Yoshimura A. 2002.
Incadronate disodium inhibits advanced glycation end products-induced angiogenesis in vitro.
Biochem Biophys Res Commun.297 , 419-424.
10. Hanada T and Yoshimura A . 2002
Regulation of cytokine signaling and inflammation
Cytokine and Growth Factor Reviews , 13 , 413-421.
11. Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T, Kosai K, Sata M, Kohara M, Yoshimura A . 2002
Activation of STAT3 by the Hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation *J. Exp. Med.* . 196 , 641-653.
12. Nagai H, Kim Y, Konishi N, Baba M, Kubota T, Yoshimura A, Emi M. 2002
Combined hypermethylation and chromosome loss associated with inactivation of SSI-1/SOCS-1/JAB gene in human hepatocellular carcinomas.
Cancer Lett.186 , 59-65.
13. Ben-Yair L, Slaaby R, Herman A, Cohen Y, Biener E, Moran N, Yoshimura A, Whittaker J, De Meyts P, Herman B, Gertler A.2002
Preparation and expression of biologically active prolactin and growth hormone receptors and suppressor of cytokine signaling proteins 1, 2, 3, and 6 tagged with cyan and yellow fluorescent proteins.
Protein Expr Purif . 25 , 456-464.
14. Biener E, Maurice S, Sandowski Y, Cohen Y, Gusakowsky EE, Hooghe R, Yoshimura A, Livnah O, Gertler A.2002
Recombinant human CIS2 (SOCS2) protein , subcloning, expression, purification, and characterization.
Protein Expr Purif . 25 , 305-312.
15. Berlato C, Cassatella MA, Kinjyo I, Gatto L, Yoshimura A, Bazzoni F. 2002
Involvement of suppressor of cytokine signaling-3 as a mediator of the inhibitory effects of IL-10 on lipopolysaccharide-induced macrophage activation.
J Immunol. 168 , 6404-6411.
16. Gasperini S, Crepaldi L, Calzetti F, Gatto L, Berlato C, Bazzoni F, Yoshimura A, Cassatella MA. 2002
Interleukin-10 and cAMP-elevating agents cooperate to induce suppressor of cytokine signaling-3 via a protein kinase A-independent signal.
Eur Cytokine Netw. 13 , 47-53.
17. Hara H, Takeda A, Takeuchi M, Wakeham AC, Itie A, Sasaki M, Mak TW, Yoshimura A, Nomoto K, Yoshida H. . 2002
The apoptotic protease-activating factor 1-mediated pathway of apoptosis is dispensable for negative selection of thymocytes. *J Immunol*;168 , 2288-95
18. Foley HA, Ofori-Acquah SF, Yoshimura A, Critz S, Baliga BS, Pace BS. 2002
Stat3beta Inhibits gamma globin gene expression in erythroid cells.

J Biol Chem. 277 , 16211-16219.

19. Tonko-Geymayer S., Goupille O, Tonko M., Soratro C, Yoshimura A, Streuli C., Ziemiczki A., Kofler R, and Soppler W. 2002
 Regulation and function of the cytokine inducible SH-2 domain proteins CIS and SOCS3 in mammary epithelial cells
Mol. Endocrinol. 16 , 1680-1695

20. Flodstrom M, Maday A, Balakrishna D, Cleary MM, Yoshimura A and Sarvetnick N 2002
 Antiviral defenses expressed by the pancreatic b cell govern the development of type 1 diabetes after Coxsackievirus B4 infection.
Nature Immunology 3 , 373-382,

21. Hara H, Takeda A, Takeuchi M, Wakeham AC, Itie A, Sasaki M, and Mak TW, Yoshimura A, Nomoto K and Yoshida H 2002.
 The apoptotic protease-activating factor 1-mediated pathway of apoptosis is dispensable for negative selection of thymocytes.
J Immunol 168 , 2288-95 .

22. Ohtsuka S, Takaki S, Iseki S, Miyoshi K, Nakagata N, Kataoka Y, Yoshida N, Takatsu K and Yoshimura A 2002.
 SH2-B is Required for both Male and Female Reproduction.
Mol Cell Biol 22 , 3066-3077 .

23. Yasukawa H, Ohishi M, Mori H, Murakami M, Chinen T, Aki D, Hanada T, Takeda K, Akira S, Hoshijima M, Hirano T, Chien KR, and Yoshimura A 2003.
 IL-6 induces an anti-inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages
Nature Immunol. in press

24. Saeki K, Miura Y, Aki D, Kurosaki T, Yoshimura A. 2003.
 The B cell-specific major raft protein, Raftlin is necessary for the integrity of lipid raft and BCR signal transduction.
EMBO J in press

25. Sasaki,A, Taketomi T, Kato R, Saeki K, Nonami A, Sasaki M, Kuriyama M,Saito N,Shibuya M, Yoshimura A. 2003.
 Mammalian Sprouty4 suppresses Ras-independent ERK activation by binding to Raf1.
Nature Cell Biol. 5:427-432.

26. Shibata R, Kai H, Seki Y, Kato S, Wada Y, Hanakawa Y, Hashimoto K, Yoshimura A, Imaizumi T. 2003.
 Inhibition of STAT3 prevents neointima formation by inhibiting proliferation and promoting apoptosis of neointimal smooth muscle cells.
Human Gene Therapy in press

27. Nagata T, Kai H, Shibata R, Koga M, Yoshimura A, Imaizumi T. 2003.
 Oncostatin M, an IL-6 family cytokine, upregulates matrix metalloproteinase-9 through the MEK-ERK pathway in cultured smooth muscle cells.
Arteriosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology in press

28. Minoguchi S, Minoguchi M, Yoshimura A. 2003.
 Differential control of the NIMA-related kinases, Nek6 and Nek7, by serum stimulation.
Biochem Biophys Res Commun. 301: 899-906.

29. Yasukawa H, Yajima T, Duplain H, Iwatake M, Kido M, Hoshijima M, Weitzman MD, Nakamura T, Woodard S, Xiong D, Yoshimura A, Chien KR, Knowlton KU.2003.
 The suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS1) is a novel therapeutic target for enterovirus-induced cardiac injury.
J Clin Invest. 111: 469-478.

30. Matsumoto A, Seki YI, Watanabe R, Hayashi K, Johnston JA, Harada Y, Abe R, Yoshimura A, Kubo M. 2003.
 A Role of Suppressor of Cytokine Signaling 3 (SOCS3/CIS3/SSI3) in CD28-mediated

Interleukin 2 Production.
J Exp Med. 197: 425-436.

31. Du L, Frick GP, Tai LR, Yoshimura A, Goodman HM. 2003.
 Interaction of the growth hormone receptor with cytokine-induced SRC homology domain 2 protein in rat adipocytes.
Endocrinology 144:868-876.

32. Endo T, Sasaki A, Minoguchi M, Joo A, and Yoshimura A. 2003.
 CIS1 interacts with the Y532 of the Prolactin Receptor and Suppresses Prolactin-Dependent STAT5 Activation 2003.
J. BioChem 133, 109-113

33. Minoguchi M, Minoguchi S, Aki D, Joo A, Yamamoto T, Yumioka T, Matsuda T, Yoshimura A. 2003.
 STAP-2/BKS, an adaptor/docking protein, modulates STAT3 activation in acute-phase response through its YXXQ motif.
J Biol Chem 278: 11182-11189

34. Sasaki A, Inagaki-Ohara K, Yoshida T, Yamanaka A, Sasaki M, Yasukawa H, Koromilas AE, Yoshimura A. 2003.
 The N-terminal truncated isoform of SOCS3 translated from an alternative initiation AUG codon under stress conditions is stable due to the lack of a major ubiquitination site, Lys-6.
J Biol Chem. 278:2432-2436

35. Wollberg P, Lennartsson J, Gottfridsson E, Yoshimura A, Ronnstrand L. 2003.
 The adapter protein APS associates to the multifunctional docking sites Tyr568 and Tyr936 in c-Kit: possible role in v-Kit transformation.
Biochem J. in press

36. Yamada S, Shiono S, Joo A, Yoshimura A. 2003
 Control mechanism of JAK/STAT signal transduction pathway.
FEBS Lett. 534:190-196.

37. Lehmann U, Schmitz J, Weissenbach M, Sobota RM, Hortner M, Friederichs K, Behrmann I, Tsiaris W, Sasaki A, Schneider-Mergener J, Yoshimura A, Neel BG, Heinrich PC, Schaper F. 2003
 SHP2 and SOCS3 contribute to Y759-dependent attenuation of IL-6-signaling through gp130.
J Biol Chem. 278: 661-671

総説

1. 吉村昭彦、庄田孝則. 2002.
 サイトカインシグナルの負の制御因子と炎症性疾患.
 炎症と免疫 Vol.10 no.2.72-80
2. 吉村昭彦、横内雅博、松永俊三、米 和徳、小宮節郎. 2002.
 細胞内蛋白分解系を介する骨吸収調節機構.
 THE BONE Vol.16 No.3.71-75
3. 吉村昭彦、庄田孝則、吉田隆文、花田俊勝. 2002.
 炎症性疾患における CIS/SOCS ファミリーの発現とアデノウイルスを用いた実験的関節炎の抑制.
 蛋白質核酸酵素 Vol.47 No.16.2355-2361,2091
4. 吉村昭彦. 2002.
 サイトカインの抑制因子 CIS/SOCS ファミリーと炎症性疾患.
 臨床免疫 38(5).536-543

5. 吉村昭彦、花田俊勝、金城市子.2003.
CIS/SOCS ファミリーと炎症性疾患.
Annual Review 免疫 2003.257-264
6. 吉村昭彦、加藤玲子、佐伯和子.2003.
チロシンキナーゼシグナルの正と負の抑制.
実験医学 Vol.21 No.2(増刊).28-34
7. 吉村昭彦、花田俊勝、金城市子.2003.
サイトカインの抑制因子 CIS/SOCS ファミリーと炎症性疾患.
分子細胞治療 vol.2 no.2.43-50

学会発表

1. 吉村昭彦 . (2002,1/12) .
サイトカインのシグナル伝達の制御機構とその破綻 .
第 2 回分子血管研究会 , 大阪
2. 吉村昭彦 . (2002,5/14) .
サイトカインシグナルの負の制御とその破綻 .
日本分子生物学会・第 2 回春季シンポ , 広島
3. Hideo Yasukawa,Kenneth R.Chien and Akihiko Yoshimura . (2002,5/30) .
Negative Regulation of Cytokine Signaling (SOCS)Genes in Cardiomyopathies and Heart Failure .
心筋症・心不全国際会議 , 京都
4. 吉村昭彦 . (2002,6/14) .
サイトカインシグナルの制御とその破綻 .
第 5 回分子動脈硬化研究会 , 九大
5. 吉村昭彦 . (2002,7/18) .
Negative regulation of cytokine Signaling by SOCS family proteins and inflammatory diseases .
第 67 回日本インターフェロン/サイトカイン学会 , 東京
6. 吉村昭彦 . (2002,9/6) .
Negative regulation of cytokine Signaling pathway .
第 2 回出入-日本科学協力事業セミナー , 日光
7. 吉村昭彦 . (2002,9/12) .
サイトカインシグナルの伝達機構と制御機構 .
第 64 回日本血液学会総会、第 44 回日本臨床血液学会総会 , 横浜
8. Akihiko Yoshimura . (2002,10/5) .
Negative regulation of cytokine Signaling by SOCS and SPRED .
3rd International Aachen Workshop on Cytokine signalling ,
ドイツ アーヘン大学
9. Akihiko Yoshimura Ichiko Kinjo (2002,10/6 ~ 10/10)

SOCS-1JAB is a negative regulator for a LPS-induced macrophage activation CYTOKINES and INTERFERONS 2002 Joint meeting ,

イタリア トリノ

10. 吉村昭彦 . (2002,10/12) .

サイトカインシグナルの制御機構とその破綻による免疫異常 .

第 17 回九州免疫血液研究会 , 福岡

11. 吉村昭彦 . (2002,10/15) .

MAP キナーゼ制御分子 Sprouty / Spred ファミリーの作用機構 .

第 75 回日本生化学学会 , 京都

12. 吉村昭彦、野波篤、武富孝治、加藤玲子 . (2002,11/8) .

Spred による造血系細胞のサイトカインシグナル制御 .

第 22 回血液幹細胞シンポジウム , 東京

13. 吉村昭彦 . (2002,11/16) .

Spred による造血系細胞のシグナル制御 .

第 1 回造血分子研究会 , 東京

14. 吉村昭彦 . (2002,12/14) .

サイトカインシグナルの正と負の制御 .

第 5 回 Cardiovascular Research Forum (CVRF), 東京

15. Akihiko Yoshimura . (2003,3/7) .

Suppression of TLR Signaling and Inflammation by SOCS Family Proteins .

Molecular and Cellular Basis of Septic Shock (D 3), 夕木市

16. 吉村昭彦 . (2003,4/4) .

サイトカインシグナルの制御による自己免疫疾患の克服 .

第 26 回日本医学会総会 , 福岡

17. 吉田裕樹 (2002,5/17)

癌化および胸腺細胞分化における Apaf1 依存性アポトーシスの解析

第二回山口大学院医学研究科応用医工学系シンポジウム

「ストレスに対する生体の戦略」

18. 吉田裕樹 (2002,8/24-27)

WSX-1 is required for the initiation of Th1 responses and interferon-gamma-dependent resistance to *L. major* and *T. cruzi* infection

第二回あわじしま感染症・免疫フォーラム

19. 武田篤信 吉田裕樹 石橋達朗 吉村昭彦 (2002,12/4-6)

WSX-1レセプターを介したシグナル伝達機構にはSTAT4のチロシンリン酸化が関与する
第32回日本免疫学会 (2002,12/4-6)

20. 濱野真二郎 吉田裕樹、石井一成、山中敦、佐藤伸一郎、Mak TW、姫野國祐 (2002,12/4-6)

WSX-1分子は *Trypanosoma cruzi* 感染時のTh1応答惹起および感染抵抗性に寄与する

第32回日本免疫学会

21. 吉田裕樹 (2003,3/7-8)

Critical role of IL-27/WSX-1 signaling in the commitment of Th1 development
第一回東大医科研・生医研合同シンポジウム

22. 濱野真二郎 他 (2003,3/28-30)

Trypanosoma cruzi 感染防御に果たす新規サイトカイン受容体 WSX-1 の
役割

第 72 回日本寄生虫学会大会

免疫遺伝学分野

Division of Immunogenetics

免疫システムは多様な感染源との相互作用を通して進化してきた生体にとって必須の防御機構である。このため、T細胞受容体 (TCR) は理論上 10^{15} を越す高度の多様性を獲得し得るが、実際には TCR は胸腺において自己の主要組織適合抗原 (MHC) およびそれと結合した自己ペプチドを同時に認識することによって、この多様性の中から (1) 自己 MHC による拘束性の獲得、および (2) 自己反応性 TCR の除去、という二大選択を受け、免疫システムのフレームワークが決定されている。一方胸腺におけるこの二大選択を経て生き延びた T 細胞は、末梢において自己の MHC と結合した細菌やウイルス由来のペプチドを認識して、量的にも質的にも様々な免疫応答を惹起し、感染防御あるいは逆に自己免疫疾患発症など、生体にとっては正負の両面の機能を有する。

当分野では、①胸腺における正および負の選択機構、②末梢における MHC 多重遺伝子族による免疫応答の制御機構、をそれぞれ分子レベルで解明し、その理解に立脚して、③先鋭的な免疫応答制御法を確立することで、感染症、自己免疫疾患、アレルギー、GvH 病、癌など現代医学が抱える難治性疾患の真の治療法、予防法の確立に資すると共に、④免疫・造血系の細胞高次機能を司る細胞骨格制御機構を解明することを目的に研究を行っている。

平成 13 年 9 月 30 日をもって 笹月健彦教授が退官され、国立国際医療センター研究所長に就任された。

A. DOCK2 を介したシグナル伝達機構の解明とその機能解析

Caenorhabditis elegans、ヒトおよび *Drosophila melanogaster*において、CED-5、DOCK180、Myoblast City という構造上相同性を示す分子が同定され、その頭文字をとって CDM ファミリー分子と呼ばれている。これらの分子はいずれも低分子量 GTP 結合蛋白質 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いるが、その哺乳類における機能は不明であった。我々はこれまでにリンパ球特異的に発現する CDM ファミリー分子 DOCK2 を単離し、ノックアウトマウスを作製することで、この分子がリンパ球遊走に不可欠であることを明らかにした。しかしながら CED-5 や Myoblast City がさまざまな細胞高次機能を制御していることを考えると、DOCK2 はリンパ球遊走以外の機能発現にも関与していることが示唆される。本年度は「DOCK2 を介したシグナル伝達機構の解明とその機能解析」をテーマとして以下のようないくつかの研究を行った。

a. 免疫シナップス形成における DOCK2 の役割

T 細胞において、その TCR が抗原提示細胞(APC)上の MHC/ペプチド複合体を認識すると、免疫シナップスと呼ばれる分子複合体が APC との接触面に形成されることが知られている。免疫シナップス形成とは、細胞骨格の再構築を介した大規模な分子移動と理解されているが、その形成機序の詳細や生物学的意義は明らかではない。我々は TCR トランスジェニック-DOCK2 欠損マウスを樹立し、免疫シナップス形成過程を詳細に解析することで、DOCK2 が免疫シナップス形成過程において TCR 及び lipid raft の clustering に必須であるが、PKC-θ や LFA-1 の分子移動には必要ではないということを明らかにした。DOCK2 欠損 T 細胞では、TCR 刺激による Rac 活性化が完全に消失している。

ことから、DOCK2 はケモカイン受容体のみならず、TCR の下流においても機能し、Rac 活性化を介して免疫シナプス形成を制御していると考えられる。また、DOCK2 欠損 T 細胞の末梢及び胸腺での機能を解析することで、免疫シナプス形成は T 細胞レパートリー形成や T 細胞増殖応答には必須ではないが、これらにおける T 細胞応答の閾値を制御していることを明らかにした。

b. DOCK2 機能ドメインとそれに会合する分子の同定

DOCK2 を初め CDM ファミリー分子は、Rac を活性化することで、細胞骨格の再構築を制御している。リンパ球の Rac 活性に関わる DOCK2 機能ドメインを同定することを目的に、DOCK2 の発現を欠く T リンパ腫細胞株に種々の DOCK2 欠失変異体を発現させた細胞株を樹立し、細胞形態、極性化、アクチン重合、Rac 活性化につき比較解析した。うち、ある DOCK2 欠失変異体では Rac 結合能が保持されているにもかかわらず、Rac 活性化能が顕著に低下し、その結果アクチン重合が誘導できることを見い出し、この欠失部分に会合する分子を同定した。

c. 免疫応答制御における標的としての DOCK2

DOCK2 はリンパ球特異的に発現し、リンパ球遊走および免疫シナプス形成において重要な役割を演じていることから、人為的に免疫応答を制御する上で格好の標的分子になると考えられる。この考えを検証するため、移植片拒絶および自然発症自己免疫疾患に DOCK2 欠損がどのような影響を及ぼすかにつき解析を行った。

B. 新たな遺伝子操作マウスの作製

免疫・造血系における CDM ファミリー分子を介したシグナル伝達機構を解明する目的で、新たに 2 種類の遺伝子欠損マウスを作製し、現在その機能解析を進めている。

業績目録

原著論文

1. Sanui T, Inayoshi A, Noda M, Iwata E, Oike M, Sasazuki T, Fukui Y.
DOCK2 is essential for antigen-induced translocation of TCR and lipid rafts, but not PKC-
Q and LFA-1, in T cells.
Immunity, in press, 2003.

総説

1. 讀井彰一、福井宣規. 2003.
免疫応答におけるリンパ球の動態-HCH 欠損マウスの情報-
感染・炎症・免疫, 33:52-54.
2. 讀井彰一、福井宣規、笹月健彦. 2002.
CDM ファミリー分子 DOCK2 によるリンパ球遊走の制御.
Medical Science Digest, 28:550-551.
3. 福井宣規. 2002.
CDM ファミリー分子 DOCK2 によるリンパ球遊走の制御.

Molecular Medicine 増刊「免疫 2003」.

4. 福井宣規 . 2002 .

リンパ球遊走に不可欠な CDM ファミリー分子 DOCK2 .

蛋白質核酸酵素増刊「免疫研究の最前線：高次複雑免疫システムの包括的理

5. 福井宣規 . 2002 .

リンパ球遊走，ホーミングの制御機構 .

医学のあゆみ増刊「免疫疾患-state of arts」342-346.

学会発表

1. Fukui Y. (2003,2/20-2/23).

Remodeling of actin cytoskeleton by the CDM family protein DOCK2: its critical role in migration and function of lymphocytes.

International Symposium on Regulation of Immune Response in Health and Disease, シンポジウム, Osaka.

2. Fukui Y. and Sasazuki T. (2002,4/3-4/5).

A novel cytoskeleton-regulating protein, DOCK2: its critical role in migration and function of lymphocytes.

The 3rd International Workshop Kyoto T cell Conference, シンポジウム, Kyoto.

3. Fukui Y. (2002, 8/24-8/27).

Critical roles of the CDM family protein DOCK2 in migration and function of lymphocytes.

The Awaji International Forum on Infection and Immunity, 招待講演, Awaji.

4. Sasazuki T, Fukui Y. (2002, 5/21).

HLA and immune regulation,

International Congress of Histocompatibility and Immunogenetics, Seattle.

5. Igarashi O, Kim JK, Fukui Y, Yuki Y, Kiyono H. (2002, 12/4).

Development of soluble MHC class II covalently linked with an Immunodominant cholera toxin epitope for the detection of antigen-specific mucosal Th cells.

第32回日本免疫学会総会, 東京 .

6. 讀井 彰一, 福井 宣規, 笹月 健彦. (2002,12/4) .

リンパ球の細胞高次機能制御における CDM ファミリー分子 DOCK2 の役割 .

第32回日本免疫学会総会, 東京 .

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、テロメラーゼの解析と活性制御機構などに関する研究と、細胞内脂肪滴構成蛋白に関する研究などである。

人事面では、平成14年7月1日付で福富崇能(研修登録医・肝臓病学)が米国留学より帰国、着任し、10月1日付で非常勤講師となり、平成15年3月31日付で国立九州がんセンターへ転出し、平成15年3月31日付で坂井義之(助手、内分泌・代謝学)が福岡県立嘉穂病院へ転出した。また平成14年4月1日より魏平が九州大学大学院生となり、引き続き研究に従事している。

研究活動の概況

A. 関節リウマチ滑膜内B細胞の動態解析

B細胞が自己反応性T細胞の活性化に重要な役割をはたしていること、抗環状シトルリン化ペプチド抗体など関節リウマチ(RA)に特異性の高い新たな自己抗体の発見などにより、RAの病態形成におけるB細胞の重要性が再認識されつつある。関節滑膜内B細胞は大量の自己抗体を產生していると考えられているが、なぜ関節滑膜に集積するのか、認識抗原は何か、滑膜内でB細胞は通常の二次リンパ組織と同様の分化、成熟を遂げているのかなど不明な点が多い。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。また免疫グロブリン 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。現在、より詳細に滑膜におけるB細胞の動態を明らかにするために、microdissection法を用い、複数の胚中心様の構造物、その他のリンパ球の浸潤領域別にクラス毎に免疫グロブリンレパートアの解析を行っている。

B. 多発性骨髓腫に対する抗テロメラーゼ細胞療法の確立

染色体末端のテロメアの長さの調節に中心的役割を果たすテロメラーゼの活性はほとんどの悪性腫瘍で検出されるが、正常細胞にはごく一部しか検出されないことが分かっている。われわれはこれまでに多発性骨髓腫においてテロメラーゼ活性が検出され、その強さは細胞増殖と密接な関連があることを明らかにした。また、テロメラーゼ構成蛋白であるTERTの一部はクラスI HLAによって細胞表面に表出してあり、細胞療法の標的となる可能性が示唆されている。われわれはhTERTペプチドにてパルスした樹状細胞を用いて誘導された細胞傷害性Tリンパ球は多発性骨髓腫細胞株、患者骨髓腫細胞を傷害することを確認した。現在、多発性骨髓腫に対する抗テロメラーゼ療法の臨床応用をめざし、テロメラーゼ活性を有する正常細胞である活性化リンパ球に対する傷

害性を検討している。

C. 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検討を進めており、発現制御に関わるいくつかの因子を明らかにした。今後、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 の関連遺伝子の探索

ADRP (adipose differentiation-related protein) や perilipin(PLN)は特に脂肪細胞において細胞内脂肪滴構成蛋白としての役割が報告されている。ADRP や PLN 以外にも細胞内脂肪滴構成蛋白が存在する可能性を想定し、脳および心筋の cDNA ライブラリーより ADRP cDNA を用いてスクリーニングをおこなったが、得られたクローンはすべて ADRP と同一であり、現時点ではこれらの組織でも ADRP が機能しているものと考えられる。

c. ADRP の心筋および臍β細胞における役割に関する検討

心筋および臍β細胞における脂肪酸過剰の病態生理的意義は十分には解明されておらず、脂肪酸が糖尿病発症に関する役割については lipotoxicity という概念で論じられているが、十分には理解されていない。心筋および臍β細胞に ADRP を組織特異的に発現させる系を開発中で、これを用いて解析を進める。

また、細胞内に過剰に脂肪が蓄積する状態は種々の疾患でみられる。病態における意義を明らかにするため、動脈硬化でのマクロファージの泡沫化過程、および臍β細胞での脂肪毒性への ADRP の関わりについて、検討を進めている。今後、ADRP 過剰発現マウスを作製し、とくに臍β細胞機能、肝細胞機能、マクロファージ機能など個々の細胞の機能を解析するとともに、動脈硬化の発症、インスリン抵抗性など個体レベルでの表現型を解析し、ADRP の機能を明らかにする。

d. ADRP と共に働く蛋白の探索

ADRP と細胞質内で結合する蛋白を探索するために、Yeast two hybrid System によるスクリーニングを行い、いくつかのクローンを得た。現在、その生化学的解析、および遺伝子改変動物の作製をめざして、ノックアウトベクターの作製を行っている。

e. ビタミンD受容体機能異常における脱毛に関する因子について

毛周期の維持に不可欠な、VDR のターゲットジーンを同定すると共に、VDR のリガンド非依存性の生理的役割を明らかにする。この目的で VDR ノックアウトマウスと wild type マウスの表皮を用いて DNA アレイによる解析を行った。変化がみられた遺伝子について、表皮細胞培養系で生

理的意義を解析している。

業績目録

原著論文

1. S. Shiokawa, T. Matsushima, I. Choi, Y. Abe, M. Shiratsuchi, Y. Suehiro, K. Muta, K. Ohshima, J. Nishimura. 2003.
Re-entry of tumor B cells into the cycle of somatic mutation and isotype switching in follicular lymphoma.
Br. J. Haematol. 120, 492-495.
2. S. Shiokawa, N. Matsumoto, J. Nishimura. 2003.
Clonal analysis of B cells in the synovial membrane of patients with rheumatoid arthritis.
Scand. J. Rheumatol. 32, 12-18.
3. Shiratsuchi, M., Muta, K., Abe, Y., Motomura, S., Taguchi, F., Takatsuki, H., Uike, N., Umemura, T., Nawata, H., Nishimura, J. 2002.
Clinical significance of telomerase activity in multiple myeloma.
Cancer 94, 2232-2238.
4. S. Suehiro, S. Shiokawa, S. Taniguchi, Y. Sakai, H. Goda, M. Shiratsuchi, T. Sugimura, M. Hatakenaka, Y. Yoshikawa, S. Ikuyama, J. Nishimura. 2003.
Gallium-67 scintigraphy in the diagnosis and management of chronic sarcoid myopathy.
Clin. Rheumatol. 22, 146-148.
5. Y. Abe, I. Choi, K. Hara, T. Matsushima, J. Nishimura, S. Inaba, H. Nawata, K. Muta. 2002.
Hemophagocytic syndrome: a rare complication of allogeneic nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation.
Bone Marrow Transplant. 29, 799-801.
6. Y. Abe, S. Yashiki, I. Choi, K. Hara, T. Matsushima, J. Nishimura, S. Inaba, H. Nawata, K. Muta. 2002.
Eradication of virus-infected T-cells in a case of adult T-cell leukemia/lymphoma by nonmyeloablative peripheral blood stem cell transplantation with conditioning consisting of low-dose total body irradiation and pentostatin.
Int J Hematol. 76, 91-93.
7. M. Imamura, T. Inoguchi, S. Ikuyama, S. Taniguchi, K. Kobayashi, N Nakashima, H. Nawata. 2002.
ADRP stimulates lipid accumulation and lipid droplet formation in murine fibroblasts.
Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 283, E775-E783.
8. K. Kato, K. Ohshima, S. Shiokawa, T. Shibata, J. Suzumiya, M. Kikuchi. 2002.
Rearrangement of immunoglobulin heavy and light chains and VH family in thyroid and salivary gland lymphomas.
Pathol. Int. 52, 747-754.
9. 生山祥一郎、白土基明、谷口 晋、坂井義之、杉村隆史、塩川左斗志、西村純二. 2002.
リウマチ患者を対象とした経皮吸収型鎮痛消炎貼付剤（フェルビナクP「EMEC」の使用感および効果.
Progress in Medicine, 22, 3158-3167.
10. 谷口 晋、末廣 悟、杉村隆史、北村陽介、合田英明、白土基明、坂井義之、

塩川左斗志、生山祥一郎、西村純二. 2002.
非定型的な皮膚硬化の分布を示した強皮症の一例.
九州リウマチ, 21, 108-111.

11. 末廣 悟、白土基明、末廣陽子、大島孝一、塩川左斗志、西村純二. 2002.
自己免疫性血小板減少症を伴った血管免疫芽球性リンパ腫.
臨床血液, 43, 841-845.

12. 安部康信、牟田耕一郎、平瀬伸尚、崔 日承、松島孝充、原 敬一、田口文博、
末松栄一、柴田恵介、鵜池直邦、西村純二、名和田 新. 2002.
骨髓異形成症候群におけるビタミンK₂の使用経験.
臨床血液, 43, 117-121.

13. 永澤恵理子、安部康信、松島孝充、崔日承、立川義倫、西村純二、稻葉頌一、
名和田 新、牟田耕一郎. 2002
骨髓非破壊的同種末梢血幹細胞移植後、T細胞混合キメラが持続した悪性リン
パ腫.
臨床血液, 43, 1014-1019.

14. 崔 日承、松島孝充、藤井智美、白土基明、安部康信、西村純二、名和田 新、
牟田耕一郎. 2002.
再発時に p190 type bcr/abl キメラ mRNA を認めた急性リンパ性白血病.
臨床血液, 43, 836-840.

著 書

1. 西村純二. 2002
血液・造血器疾患、白血球系の異常.
Year Note 内科・外科等編 (12th edition) G-36-56
Medic Media, 東京.
2. 生山祥一郎. 2002.
単純性甲状腺腫
今日の治療指針 2002 年版, 479
医学書院, 東京.
3. 生山祥一郎、西村純二. 2003.
関節リウマチと骨粗鬆症.
実践骨代謝マーカー, 349-357
メディカルレビュー社、東京.
4. 生山祥一郎、名和田 新. 2003.
下垂体疾患.
長寿科学事典, 558-559
医学書院, 東京.

5. 坂井義之、生山祥一郎、名和田 新. 2003.

骨代謝マーカーによる治療効果のモニター：5. ステロイド骨粗鬆症.

実践骨代謝マーカー, 275-283

メディカルレビュー社、東京.

学会発表

1. S. Ikuyama, S. Taniguchi, Y. Sakai, J. Nishimura. (2002, 6/19-22).

PPARs stimulate promoter activity of the adipose differentiation-related protein (ADRP) gene in NMuLi mouse liver cells.

84th Annual Meeting of The Endocrine Society, San Francisco, USA.

2. S. Ikuyama, S. Taniguchi, Y. Sakai, Wei Ping, J. Nishimura. (2002, 10/21-25).

PPARs regulate the adipose differentiation-related protein (ADRP) gene through AP-1 site in the promoter in mouse liver cells.

International Congress of Hormonal Steroids and Hormone and Cancer, Fukuoka, Japan.

3. Y. Suehiro, K. Muta, M. Nakashima, Y. Abe, M. Shiratusuchi, S. Shiokawa, S. Ikuyama, Y. Yoshikawa, T. Watanabe, J. Nishimura. (2002, 12/6-10).

Involvement of macrophages in induction of apoptosis of human erythroid progenitor cells.

44th Annual Meeting of American Society of Hematology, Philadelphia, USA.

4. 白土基明, 末廣 悟, 末広陽子, 塩川左斗志, 西村純二, 谷 憲三朗. (2002,

4/18).

著明な脾腫、骨髓浸潤をきたした CD4、8 陰性 T 細胞リンパ腫.

第 64 回大分臨床血液懇話会, 大分.

5. 塩川左斗志, 末広陽子, 中島 学, 生山祥一郎, 吉河康二, 渡邊 武, 西村純二.

(2002, 4/22-4/24).

慢性関節リウマチ (RA)関節滑膜における腫瘍関連抗原 RCAS1 の発現解析.

第 46 回日本リウマチ学会総会, 神戸.

6. 末廣 悟, 谷口 晋, 塩川左斗志, 坂井義之, 小寺隆元, 合田英明, 白土基明,

杉村隆史, 生山祥一郎, 吉河康二, 西村純二. (2002, 4/22-4/24).

下腿の筋膨隆にて発見された非乾酪性肉芽腫性筋炎の 1 例.

第 46 回日本リウマチ学会総会, 神戸.

7. 生山祥一郎, 谷口 晋, 西村純二. (2002, 5/17-19).

adipose differentiation-related protein (ADRP)の発現調節機構 : PPAR α によるプロモーター活性増強効果.

第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会, 東京.

8. 今村美菜子, 井口登與志, 坪内博孝, 佐藤直市, 孫田淑代, 垣本真如, 江藤 隆,

于海 燕, 小林邦久, 中島直樹, 生山祥一郎, 名和田 新. (2002, 5/17-19).

adipose differentiation-related protein (ADRP)はマクロファージの泡沫化を促進する.

第 45 回日本糖尿病学会年次学術集会, 東京.

9. 末廣 悟, 谷口 晋, 坂本理笑子, 小寺隆元, 合田英明, 白土基明, 坂井義之, 杉村隆史, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 西村純二, 安部明夫. (2002, 5/25). 家族内発症を認めた家族性特発性脳石灰化症の一例. 第 257 回日本内科学会九州地方会, 北九州.

10. 合田英明他. (2002, 6/20). 結核性脊椎炎の一例. 第 64 回大分県リウマチ懇話会, 大分.

11. 生山祥一郎, 谷口 晋, 西村純二. (2002, 6/28-30). adipose differentiation-related protein (ADRP)の発現調節機構 : PPAR α によるプロモーター活性増強効果 (Hot Topics 5). 第 75 回日本内分泌学会学術総会, 大阪.

12. 坂井義之, Chen CH, 西村純二, 名和田 新, Demay MB. (2002, 6/28-30) ヒトビタミン D 受容体(hVDR)の表皮細胞特異的発現による、VDR ノックアウトマウス(VDRKO)における脱毛の制御.(Hot Topic 9). 第 75 回日本内分泌学会学術総会, 大阪.

13. 棕園 宏, 白土基明, 末廣陽子, 塩川左斗志, 西村純二, 谷 憲三朗. (2002, 7/18). 出血傾向、著明なフィブリノーゲン低値、XIII 因子低値を来たした非活動性 SLE の 1 例. 第 65 回大分臨床血液懇話会, 大分.

14. 棕園 宏, 江藤知明, 生田卓也, 末廣 悟, 合田英明, 末廣陽子, 白土基明, 谷口 晋, 坂井義之, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 西村純二. (2002, 8/31-9/1). 非活動期に出血傾向、著明なフィブリノーゲン低下、XIII 因子低下を認めた SLE の一例. 第 24 回九州リウマチ学会, 北九州.

15. 千住猛士, 谷口 晋, 坂井義之, 白土基明, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 西村純二. (2002, 8/31). 経過中 I 型糖尿病を発症し、橋本病も認めた混合性結合組織病 (MCTD) の一例. 第 258 回日本内科学会九州地方会, 大分.

16. 白土基明, 合田英明, 末廣陽子, 塩川左斗志, 西村純二, 谷 憲三朗. (2002, 9/12-9/15). IL-2 併用 DLI が著効した同種造血幹細胞移植後再発 AML の 1 例. 第 44 回日本臨床血液学会総会, 横浜.

17. 棕園 宏他. (2002, 9/19). 成人スタイル病類似の二例. 第 65 回大分県リウマチ懇話会, 大分.

18.江藤知明, 白土基明, 塩川左斗志, 西村純二, 谷 憲三朗. (2002, 10/17).
自己免疫性血小板減少を伴った強皮症の 1 例.
第 66 回大分臨床血液懇話会, 大分.

19.坂井義之, 千住猛士, 谷口 晋, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 西村純二. (2003,
10/18-19).
混合性結合織病(MCTD)の経過中に発症し、自己免疫性甲状腺異常を認めた 1
型糖尿病の 1 例.
第 40 回日本糖尿病学会九州地方会. 宜野湾.

20.白土基明, 末廣 悟, 末広陽子, 塩川左斗志, 西村純二, 谷 憲三朗, 大島孝
一. (2002, 10/24-10/25).
同種末梢血幹細胞移植が著効した治療抵抗性 PTCL の一例.
第 25 回日本造血細胞移植学会総会, 大阪.

21.棕園 宏他. (2002, 12/12).
対称性関節炎を合併した尋常性狼そうの一例.
第 66 回大分県リウマチ懇話会, 大分.

22.生山祥一郎, 高柳涼一, 中垣博之, 山王なほ子, 名和田 新. (2003, 2/4-5).
シンポジウム「代謝異常症合併例の管理」
先端巨大症に合併した糖代謝異常の病態と治療.
第 13 回日本間脳下垂体腫瘍学会, 松江.

23.棕園 宏, 江藤知明, 中嶋康博, 末廣 悟, 合田英明, 白土基明, 谷口 晋, 坂井
義之, 福富崇能, 塩川左斗志, 生山祥一郎, 西村純二. (2003, 2/8).
対称性関節炎を合併した尋常性狼そうの一例.
第 260 回日本内科学会九州地方会, 福岡.

24.安田幹彦他. (2003, 3/14).
Baker 囊胞に感染を合併した関節リウマチ.
第 67 回大分県リウマチ懇話会, 大分.

講演

1.生山祥一郎. (2002, 12/8).
下垂体疾患の診断・治療のすすめ方.
第 46 回社会保険指導者講習会伝達講習会, 大分.

脳機能制御学分野

Division of Neurofunctional Genomics

生物にとって、その遺伝情報を担うゲノム DNA を細胞から細胞へ、親から子へと正確に伝え維持することは最も基本的な生物学的機能であるが、ゲノム DNA やその前駆体であるヌクレオチドは、酸素呼吸の過程で必然的に発生する活性酸素や生体防御のために生体が能動的に産生する活性酸素によって酸化される危険に常に曝されている。活性酸素に曝された DNA やヌクレオチドは様々な酸化的化学修飾を受けるが、このような酸化損傷は修復、除去されないと突然変異を引き起こすことで細胞のがん化の原因となり、あるいは細胞死を引き起こすことで多くの変性疾患の原因になると考えられる。本分野では、活性酸素による非増殖性細胞の障害として「神経細胞死」に、また増殖性細胞の障害として「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。我々は、さらに活性酸素ストレスを受けた細胞におけるゲノム複製と遺伝子発現の制御に関わるシグナル伝達系と前初期遺伝子群及びその標的に注目して、細胞増殖・分化そして細胞死など「細胞運命の決定メカニズム」の解明を進めている。

当分野の研究の一部は、「活性酸素による脳・神経細胞の障害とその防御機構」の課題で、平成10年12月1日より平成15年11月30日までの5年間、科学技術振興事業団の戦略的創造研究推進事業からの研究費のサポートを受けている。

平成14年度の人事異動は次の通りであった。平成14年7月15日付けで、相浦圭伊子が科学技術振興事業団からの派遣職員として赴任した。助手の富永洋平が9月1日付け休職の上、米国 NIH, NIDDK へ留学した。大学院医学系学府大学院生として一年次の梶谷康介(分子常態医学専攻)、牛島泰宏(機能制御医学専攻)の2名が新たに加わった。平成14年11月末で大学院生の井手康人が、また平成15年3月末で平野世紀が単位取得の上退学した。科学技術振興事業団からの派遣職員の常岡倫子、実験補助員の西ノ原美根子が平成15年3月31日付けで退職した。

A. 活性酸素によるゲノム障害とその防御機構に関する研究

a. MTH1 による酸化ストレス障害の抑制

MTH1 は酸化プリンヌクレオシド三リン酸分解活性を持つ事から、複製や転写の際にゲノム DNA や RNA に酸化プリンヌクレオチドが取り込まれる結果引き起こされる突然変異や翻訳エラーを回避することで遺伝情報の維持に重要な役割を持つと考えられている。我々は、*Mth1* 欠損マウス由来胎児線維芽細胞 (*Mth1*^{-/-} MEF) にヒト MTH1 (hMTH1) 蛋白質を強制発現させた細胞株を樹立し、過酸化水素(H₂O₂)負荷後の細胞の機能障害や細胞死に注目して解析した。*Mth1* 欠損細胞は H₂O₂ に対して高い感受性を示し、ポリ・ADP-リボース・ポリメラーゼ及びカスパーゼ非依存性の細胞死に陥るが、この細胞死は hMTH1 の発現により効率よく抑制された。HPLC-MS/MS および蛍光免疫染色法による解析から H₂O₂ に曝された *Mth1* 欠損細胞の核およびミトコンドリア DNA にデオキシグアノシンの酸化体である 8-オキソデオキシグアノシン (8-oxodG) が継続的に蓄積することが明らかになった。hMTH1 を発現させることにより、H₂O₂ 負荷 8 時間後以降の核およびミトコンドリアゲノム DNA 中における 8-oxodG のレベルは有意に低下した。H₂O₂ 負荷後の *Mth1* 欠損細胞に

おいては、電子顕微鏡観察により電子密度の高い異常な構造体の出現を伴うミトコンドリアの形態変化が高頻度に検出された。このようなミトコンドリアの形態変化は hMTH1 の発現によりほぼ完全に抑制されたことから、hMTH1 が酸化ストレスによるミトコンドリア障害を効率よく抑制している事が明らかになった。8-oxo-dGTP 分解活性を選択的に喪失した hMTH1 (W117Y) あるいは 2-ヒドロキシ(OH)-dATP 分解活性を選択的に喪失した hMTH1 (D119A) 変異蛋白質の発現によつて、いずれも野生型の hMTH1 の発現時に比較すると低いレベルではあるが、H₂O₂による細胞死が有意に抑制された。以上の結果は、hMTH1 が酸化プリンヌクレオチドを分解することで酸化ストレスによる細胞の機能障害や細胞死から細胞を保護する機能を有し、その保護効果の一部はミトコンドリア機能障害の抑制に起因することを示唆する。今回の結果から、8-oxo-dGTP 以外の酸化ヌクレオチドが細胞障害に関わっていることが示され、さらに hMTH1 がその抑制に寄与していることも初めて明らかになった。

我々は、8-oxoG DNA グリコシラーゼをコードする *Ogg1* 遺伝子の欠損マウスでは野生型に比べて高頻度に肺腫瘍が発生することを報告し、さらに *Ogg1/Mth1* 二重遺伝子欠損マウスでは肺腫瘍の自然発生頻度が野生型と同じレベルまで抑制されることを明らかにした。hMTH1 が酸化プリンヌクレオチドを分解することで酸化ストレスによる細胞の機能障害や細胞死から細胞を保護する機能を有する事から、*Ogg1/Mth1* 二重遺伝子欠損マウスでは *Mth1* 欠損により酸化ストレスに起因する細胞死が促進される結果、癌の発症が抑制されている可能性が高いと考えられる。さらに、我々は脳腫瘍において 8-oxodG の蓄積と hMTH1 の高発現が腫瘍の悪性度と相関する事を見出した。以上の結果から、酸化ストレス抵抗性の腫瘍細胞は、hMTH1 の高発現により酸化ストレス耐性となつてゐる事が示唆される。

我々は、hMTH1 高発現腫瘍における hMTH1 の発現抑制や hMTH1 酵素活性の阻害により効率良くその酸化ストレス抵抗性を抑制できると考えている。このような hMTH1 の阻害剤等を他の抗癌剤と併用することによりその抗癌剤の用量の軽減や、放射線療法時の照射線量の軽減、さらにこれらの療法に抵抗性の癌の化学療法及び放射線療法に応用できるものと期待される。しかしながら、このような阻害剤を簡便且つ確実にスクリーニングできる系は未だ見出されていない。例えば、hMTH1 は試験管内では酸化プリンヌクレオシドニリン酸により効率よく阻害されるが、酸化プリンヌクレオシドニリン酸は細胞膜を透過できないために薬剤としては使用できない。すなわち、hMTH1 を阻害する薬剤をスクリーニングする際に無細胞スクリーニング系を用いると、細胞膜透過性を有しない薬剤が得られるという問題がある。本研究の結果は、*Mth1* 欠損線維芽細胞に hMTH1 を強制発現させた細胞を用いて hMTH1 の酵素活性を阻害する薬剤のスクリーニングが可能となることを示しており、hMTH1 阻害剤のスクリーニング系として特許を出願した。

b. MUTYH による修復反応の試験管内再構成系の開発

DNA 中の 8-oxoG に誤って取り込まれたアデニンは、次の複製を経て G→T トランスバージョン変異を引き起こす。アデニン DNA グリコシラーゼ活性を有する MUTYH は、A:8-oxoG 対合からアデニンを除去することにより修復反応を開始する。我々は、MUTYH によりアデニンが除去されて生じる修復中間体（脱塩基部位：8-oxoG）が 8-oxoG DNA グリコシラーゼ (OGG1) と AP エンドヌクレアーゼ (APEX1) の基質となる事を精製 APEX1 と OGG1 を用いた *in vitro* 修復反応系で見

出した。この実験事実から MUTYH による塩基除去修復反応中間体から DNA の二本鎖切断が生じることが示唆される。DNA の二本鎖切断は複製阻害や細胞死の原因となることから、細胞は何らかのメカニズムで二本鎖切断の発生を抑制し、A:8-oxoG 対合を C:8-oxoG、そして C:G 対合へ修復すると考えられる。我々は、野生型および MUTYH 欠損マウスの胸腺細胞から調製した全細胞抽出液および精製蛋白質を用いた実験系で、MUTYH 自身が A:8-oxoG 対合からアデニンを除去後も基質 DNA から解離せず、MUTYH により生じた 8-oxoG 対側の脱塩基部位を APEX1 による切断から保護する事を見出した。現在、MUTYH による二本鎖切断の抑制の *in vitro* 再構成系を用いた詳細な解析を進めている。

c. マウス MUTYH の個体レベルでの発現と機能解析

ヒト MUTYH (hMUTYH) 蛋白質はアデニン DNA グリコシラーゼと 2-OH-アデニン DNA グリコシラーゼ活性をもち、核とミトコンドリアに局在する。核型およびミトコンドリア型 hMUTYH 蛋白質は異なるエクソン 1 をもつ mRNA にコードされ、異なるアミノ末端の配列を有している。我々は、マウスの *Mutyh* 遺伝子のゲノム構造と転写産物の解析から、マウス *Mutyh* 遺伝子は 17 個のエクソンからなり、エクソン 2 と 6 の択一的スプライシングにより 3 種類の mRNA (type a, b, c) をコードすることを明らかにした。マウスのほとんどの臓器において 3 つの *Mutyh* mRNA の発現が確認された。いずれの臓器においても type b mRNA のレベルが最も高いものであった。type c については脳、心臓、腎臓で相対的に高い発現を認めた。type a と type b の翻訳領域は同一で、分子量 57.7 kDa の蛋白質 (mMUTYH α) をコードすることが予測された。一方、type c の場合は翻訳領域が異なり、分子量 50.2 kDa の蛋白質 (mMUTYH β) をコードすることが予測された。type b および type c mRNA の *in vitro* 翻訳反応産物中には、抗 hMUTYH 抗体と反応する 50kDa と 47kDa の蛋白質がそれぞれ検出された。

MUTYH の機能解析を目的として、*Mutyh* 遺伝子を完全に欠損したマウス ES 細胞を樹立し、まず MUTYH 蛋白質の発現とアデニン DNA グリコシラーゼ活性を解析した。野生型 ES 細胞で検出された 50kDa と 47kDa の蛋白質は *Mutyh* 欠損細胞では完全に消失し、8-oxoG に対合したアデニンの塩基除去修復能も完全に欠損していた。さらに、*Mutyh* 欠損細胞では自然突然変異率が 2 倍から 3 倍上昇していた。このような自然突然変異率の上昇は、野生型 *Mutyh* cDNA (type b) の発現ベクターの導入により完全に抑制された。

我々は、MUTYH による自然突然変異抑制と発癌抑制における意義を解明する目的で *Mutyh* 遺伝子欠損マウスを樹立し、野生型マウスと比較して解析した。*Mutyh* 遺伝子欠損マウスでは自然発癌頻度が有意に上昇しており、特に小腸における腺癌の発生が顕著であった。小腸における自然突然変異を解析した結果、*Mutyh* 遺伝子欠損マウスでは G:C→T:A 変異の有意な上昇が認められた。最近、劣性の遺伝性大腸腺腫症患者で *MUTYH* 遺伝子に変異が見出され、かつ腫瘍細胞の *APC* 遺伝子に高頻度で G:C→T:A 変異が検出される事が報告されている。すなわち我々の結果は、MUTYH が哺乳動物において G:C→T:A 変異を抑制し、その結果として消化管系の自然発癌を抑制することを示しており、ヒト *MUTYH* 遺伝子の劣性変異が遺伝性大腸腺腫症の直接の原因である事を裏付ける。また、*Mutyh* 遺伝子欠損マウスがヒト *MUTYH* 遺伝子の劣性変異に起因する遺伝性大腸腺腫症のモデル動物として有用である事が示唆された。この研究は、九州大学大学院医学研究院の續輝久

教授のグループと協力して進めている。

d. マウスモデルを用いたパーキンソン病発症機構の解析

野生型及び *Mth1* 遺伝子欠損マウスにミトコンドリア呼吸鎖阻害活性を持つ 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) 又はロテノンを投与し、中脳黒質と線条体の神経細胞の核及びミトコンドリアにおける核酸の酸化損傷の蓄積と神経細胞障害に注目して病理および生化学的な解析を行い、以下の成果を得た。

浸透圧ポンプによるロテノンの全身持続投与で、投与 1 週間後から個体の死亡が観察され、投与後 4 週間の生存率は 65% であった。生存したマウスの大部分に、投与後 1 週間目に顕著な自発運動の低下を認めた。ロテノン投与 1 週間後の自発運動の低下に対して L-DOPA を投与したが、自発運動の低下の回復はみられず、自発運動の低下の原因としてドバミン系以外の関与が考えられた。

ロテノン投与後 4 週間目のマウスで自発運動の低下が認められ、さらに Rotarod score の低値を認めるマウスでは、線条体におけるチロシン水酸化酵素 (TH) 染色性の低下と黒質緻密部でのドバミンニューロンの減少を認めた。また、線条体においては ΔFosB の発現増加が認められ、線条体におけるドバミン枯渇が示唆された。LC-MS/MS により脳組織 DNA 中の 8-oxodG を定量したところ、ロテノン投与後 4 週間目において小脳以外の脳組織で 8-oxodG の蓄積量が増加しており、ロテノン投与により、広範囲の脳組織で酸化ストレスが増加している事が示唆された。

ヒトや猿において薬物性パーキンソン病を引き起こす神経毒、MPTP によるマウスの黒質ドバミン神経の変性を解析する目的で、野生型と *Mth1* 遺伝子欠損マウスに腹腔内注射により 1 日 1 回、MPTP 30mg/kg を 5 日間連続で投与した。最終投与から 1 週間後には、いずれのマウスとも線条体および黒質において TH 染色性の低下を認めたが、ロテノン投与と異なり顕著な行動の異常は認められなかった。現在、これらのマウスについて詳細な解析を進めている。

e. パーキンソン病における DNA 修復酵素 OGG1, MUTYH の発現異常

我々は、ヒト剖検脳を用いて MTH1 の発現について検討し、パーキンソン病患者で発現が増加していることを報告している。OGG1, MUTYH の発現についてもパーキンソン病患者 4 例、また進行性核上性麻痺 (PSP)、皮質基底核変性症 (CBD) について各 2 例ずつ OGG1 の発現について検討した。結果としてはパーキンソン病患者では進行例を除く 3 例について OGG1, MUTYH の発現亢進が認められた。PSP, CBD については病変部位の比較的軽度な部位に一致して発現を認めた。パーキンソン病患者の重症例の残存細胞では染色を認めないことから、これら修復酵素はまず防御的に発現が増加し、変性が更に進行すると発現が低下することが予想される。事実、正常対照でも 88 歳の高齢者の剖検脳では発現が増加していた。特に、OGG1 は NO によるシステインの S-ニトロソ化反応により不活化される事が明らかになっており、長期的な酸化ストレスに曝された変性神経細胞では、これらの修復酵素が失活し、分解されている可能性が高い。PSP, CBD でも最も病変部位の強いところでは発現が低下し、中等度の病変を持つ部位では発現が増加していたことも上記仮説を支持するものと考えられる。アルツハイマー病患者脳及び筋萎縮性側索硬化症患者の脊髄前角細胞でこれら酵素の発現が低下していた事実は、パーキンソン病と比してこれらの疾患の進行が早いことを示しているのかもしれない。この研究は、順天堂大学医学部の水野美邦教授のグループと

の共同研究である。

f. 虚血再灌流障害における細胞 DNA の 8-oxoG 蓄積と *OGG1* 発現変動

脳、心、腎などの種々の臓器における虚血後の再灌流は、虚血再灌流 (I/R) の過程で生成される活性酸素により臓器障害を惹起する。我々は、虚血再灌流障害におけるゲノム DNA の酸化損傷と防御遺伝子の関わりを解明する目的で、ラット腎の虚血再灌流障害モデルの解析を進めた。

ラット腎の虚血再灌流(I/R)障害では、主に髄外髄質(OM)の尿細管が障害されるが、近位尿細管に壊死、遠位尿細管にアポトーシスを認める。この障害は、2週間のうちにほとんど消失する。我々は、I/R 障害をうけたラット腎において、8-oxodG の蓄積量を測定し、*OGG1* 遺伝子の発現について検討した。HPLC-MS/MS では、I/R 後 1 時間で、腎皮質および OM から抽出した核 DNA に、8-oxodG の増加を認めた。また、免疫組織染色でも、皮質および OM とともに、尿細管の核に 8-oxodG の蓄積を認めた。皮髓境界と OM の尿細管では細胞質に核より遅れて 8-oxodG が蓄積しはじめ、特に遠位尿細管より近位尿細管での蓄積が顕著であった。免疫組織染色における細胞質の染色は、ミトコンドリア DNA への 8-oxodG の蓄積と考えられ、その蓄積は I/R 後 6 時間で最も著明で、OM の近位尿細管壊死に先行していた。リボヌクレアーゼプロテクションアッセイでは、*OGG1* mRNA は正常腎で高発現しており、I/R 後 3 時間で OM の発現は減少し、1～7 日後には皮質および OM とともに発現は回復し、さらに増加していた。*In situ* ハイブリダイゼーションでは、正常腎で *OGG1* mRNA は皮質より OM の尿細管で高発現していたが、その発現は I/R 後 3 時間には著しく減少した。以上のように、核 DNA よりもミトコンドリア DNA における 8-oxodG の蓄積が、*OGG1* の発現変動を伴った尿細管壊死に関与していると考えられる。この研究は、九州大学医学部附属病院の平方秀樹博士のグループとの共同研究である。

g. *Apex2* 遺伝子欠損マウスの解析

DNA 中に生じた損傷塩基や一部の誤対合塩基は特異的な DNA グリコシラーゼにより除去され、生じた脱塩基部位の 5' 側で脱塩基部位特異的 DNA エンドヌクレアーゼ(AP エンドヌクレアーゼ)によりリン酸ジエステル結合が切断されることにより塩基除去修復(BER)が進行する。従来より、哺乳動物では主要な AP エンドヌクレアーゼとして APEX1 が知られていた。これに対して、我々は、第 2 の AP エンドヌクレアーゼ (APEX2)をコードするヒト及びマウス遺伝子のクローニングに成功した。

APEX2 の個体レベルでの機能解析を目的としてノックアウトマウスを樹立し、その表現形の解析を進めた。4 週齢の *Apex2* 遺伝子欠損マウスの体重を測定したところ、同腹野生型マウスの平均値の約 83% であった。そこでさらに 8 腹由来の *Apex2* 遺伝子欠損マウス 10 匹と野生型マウス 11 匹について 3 週齢以降、約 3 ヶ月齢までの体重変化を継続的に調べたところ、一貫して *Apex2* 遺伝子欠損マウスの発育遅延を認めた。新生児マウスの体重を測定したところ、*Apex2* 遺伝子欠損マウスの体重は同腹の野生型マウスの平均値に対して 84% と低い値を示し、胎生期において既に発育遅延が発症していることが示された。4 週齢のマウスについて各臓器重量を測定したところ、*Apex2* 遺伝子欠損マウスにおいては脾臓、精巣、腎臓、心臓、肺、肝臓、脳の各臓器重量が体重の低下と同程度に低下しており、全身性の発育遅延が明らかになった。

h. 大腸菌 Endonuclease VIII (NEI) 類似タンパク質 NEIL3 をコードするヒトおよびマウス遺伝子のゲノム構造と発現解析

APEX2 のユニークな C 末端領域にはヒトトポイソメラーゼ 3 (TOP3) の C 末端に相同意を示す領域や PCNA 結合配列が存在する。この APEX2 の C 末端領域アミノ酸配列に相同意を有するタンパク質をデータベース上で検索し、Hypothetical human protein (Acc. no. NP_060718)を見いだした。このポリペプチドの N 末端領域は酸化ピリミジン DNA グリコシラーゼである大腸菌 Endonuclease VIII (Nei) と相同意を有する。最近 NEI と相同意を有する 2 つのタンパク質 (NEIL1, 2) が報告されていることから、我々は今回同定したタンパク質を NEI like protein 3 (NEIL3) と命名した。ヒト NEIL3 cDNA の配列に相同意を示すマウス EST (Acc. nos. BG917224 and BF607936) の配列を元に PCR プライマーを設計し、マウス cDNA ライブライバーを鑄型とした PCR によりマウス NEIL3 をコードする cDNA をクローニングした。ヒト *NEIL3* とマウス *Neil3* 遺伝子は各々 4 番、8 番染色体に位置し、10 個のエクソンからなる。ヒトおよびマウス NEIL3 cDNA は各々 605 と 606 アミノ酸からなるポリペプチドをコードしており、そのアミノ酸配列はヒトとマウス間で 74% 一致した。NEIL3 の N 末端側の配列はヒト NEIL1, NEIL2, 大腸菌 MutM, Nei に対して約 20% の相同意を示し、特に活性中心とされる N 末端付近の配列、DNA 結合に関わるとされる H2TH ドメイン、Zn フィンガーモチーフなどが保存されている。しかし MutM/Nei ファミリーの DNA グリコシラーゼ活性の活性中心と考えられている N 末端プロリンは NEIL3 ではバリンに置換されていた。NEIL3 の C 末端領域の配列には APEX2 と TOP3 に相同意を示す領域が保存されているが、APEX2 に存在する PCNA 結合配列は存在しなかった。

i. イノシン酸三リン酸分解酵素 (ITPase) をコードするヒトおよびマウス遺伝子のゲノム構造と発現解析

ヌクレオチドの酸化障害として酸化的脱アミノ化反応が知られている。アデニン、グアニンそしてシトシンのアミノ基は活性酸素によりケト基に分解され、それぞれヒポキサンチン、キサンチン、ウラシルへ変換される。このような脱アミノ化が dATP, dGTP, dCTP などのヌクレオチドで生じると複製の際に DNA 中に取り込まれ、突然変異の原因となる。また ATP, GTP, CTP などのリボヌクレオチドの場合、RNA 合成の誤りやシグナル伝達に異常を来すと予想される。我々は、このような脱アミノ化ヌクレオチドを細胞内から分解排除する活性を持つと期待されるヒトおよびマウスのイノシン酸三リン酸分解酵素 (ITPase) をコードする cDNA およびゲノム遺伝子をクローニングし、その構造を決定した。また、リコンビナント蛋白質を発現、精製しその基質特異性などの生化学的な解析からマウス、ヒト ITPase ともに ITP と dITP を効率良く分解する事が確認された。また、遺伝子破壊マウス樹立のためにマウスのゲノム解析を進める過程で、マウスにはイントロン / エクソン構造を持つ *Itpa* 遺伝子の他に、イントロンを持たない processed type の遺伝子が 3 つ以上存在し、その内の 1 つは完全なコーディング領域を維持している事から、processed gene の 1 つと考えられた。現在、ES 細胞での遺伝子破壊と processed gene の発現解析を進めている。

B. 細胞運命決定機構に関する研究

a. ガレクチン-1の機能解析

我々は、AP-1 転写因子に属する Δ FosB 蛋白質によって発現制御される蛋白質のひとつとしてガレクチン-1 および、その N 末端 6 アミノ酸が欠損した新規アイソフォームを同定し、それぞれガレクチン-1 α 、ガレクチン-1 β と命名した。これら 2 つのガレクチン-1 アイソフォームの機能解析を行うためにリコンビナント蛋白質の大量発現系を構築し、組み換えガレクチン-1 α 、 β タンパク質を大量生産、精製し、その生化学的な比較解析を行った。アミノ末端の 6 アミノ酸を欠くガレクチン-1 β は、糖結合能を有するものの大部分がモノマーで存在する。一方、ガレクチン-1 α は、還元状態ではホモダイマーで存在し糖結合能を保持しているが、酸化されると糖結合能を失う事が明らかになった。血球凝集試験からガレクチン-1 α がガレクチン-1 β の 10 倍以上の血球凝集能を有することが明らかになった。我々は、虚血やカイニン酸刺激により海馬 CA1 や CA3 領域に Δ FosB が発現誘導されることを明らかにし、 Δ FosB が中枢神経系における細胞の増殖・分化や細胞死などの細胞運命の決定に重要な役割を果たしている可能性を示唆するデータを得ている。虚血時には海馬でガレクチン-1 の発現も大きく変化することから、中枢神経系における細胞運命の決定に注目してガレクチン-1 α および β の機能解析を進めている。現在、組み換えガレクチン-1 α 、 β による後根神経節の切断神経の軸索再生促進活性について比較解析を進めている。

b. ガレクチン-1の組織再生への関与の検討

我々は、組織再生モデルとしてシスプラチニン投与による腎障害後の尿細管再生を取り上げ、ガレクチン-1 の組織再生への関与を検討した。Sprague-Dawley ラット（雄、7～8 週齢）にシスプラチニン（8 mg/kg）を静脈内投与することにより腎臓の OM を中心に尿細管間質障害を認めた。主に近位尿細管の壊死が顕著であった。障害は 3 日目より明らかとなり、5 日目がもっとも顕著であった。7 日目には、尿細管腔の拡張、尿細管上皮の扁平化がみられ、14 日目には正常近くにまで改善していた。腎機能について、BUN および creatinine は 3 日目より上昇し始め、5 日目にもっとも高値であったが、その後速やかに改善し、10 日目には正常レベル近くにまで低下した。ガレクチン-1 の免疫組織染色では、正常腎でガレクチン-1 は血管の平滑筋細胞、および間質の細胞で発現を認めるのみであったが、シスプラチニン投与後 7 日目には、障害が顕著である OM の尿細管周囲の間質にガレクチン-1 発現細胞が増加していた。現在、培養腎臓細胞を用いて、ガレクチン-1 の投与実験を行っている。この研究は、九州大学医学部附属病院の平方秀樹博士のグループとの共同研究である。

c. *fosB* 遺伝子機能の解析

Δ FosB のみを発現するマウスと *fosB* 遺伝子完全欠損マウスが樹立できたので、これらのマウスを用いて個体レベルで FosB と Δ FosB の脳神経系における機能を解析する目的で、C57BL/6J にもどし交配を進めている。また、FosB および Δ FosB を発現するアデノウイルスベクターを構築し、現在 Rat1A 細胞への感染実験でこれまで ER-FosB および ER- Δ FosB で観察された細胞運命の制御機能を確認している。また、ラット大脳への感染実験により、海馬 CA1 神経細胞死と神経前駆細胞の増殖分化への影響に注目して解析を進めている。

業績目録

原著論文

1. K. Sakumi, Y. Tominaga, M. Furuichi, P. Xu, T. Tsuzuki, M. Sekiguchi, and Y. Nakabeppu. 2003. *Ogg1* Knockout-associated Lung Tumorigenesis and Its Suppression by *Mth1* Gene Disruption. *Cancer Res.*, 63(5), 902-905.
2. S. Matsukura, H. Soejima, T. Nakagawachi, H. Yakushiji, A. Ogawa, M. Fukuhara, K. Miyazaki, Y. Nakabeppu, M. Sekiguchi, and T. Mukai. 2003. CpG methylation of *MGMT* and *hMLH1* promoter in hepatocellular carcinoma associated with hepatitis viral infection. *Br. J. Cancer*, 88(4), 521-529.
3. K. Tsuruya, M. Furuichi, Y. Tominaga, M. Shinozaki, M. Tokumoto, T. Yoshimitsu, K. Fukuda, H. Kanai, H. Hirakata, M. Iida, and Y. Nakabeppu. 2003. Accumulation of 8-oxoguanine in the cellular DNA and the alteration of the *OGG1* expression during ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *DNA Repair*, 2(2), 211-229.
4. Y. Ide, D. Tsuchimoto, Y. Tominaga, Y. Iwamoto, and Y. Nakabeppu. 2003. Characterization of the genomic structure and expression of the mouse *Apex2* gene. *Genomics*, 81(1), 47-57.
5. H. Arima, Y. Kiyohara, Y. Tanizaki, Y. Nakabeppu, M. Kubo, I. Kato, K. Sueishi, M. Tsuneyoshi, M. Fujishima, and M. Iida. 2002. Detection of angiotensin-converting enzyme gene insertion/ deletion polymorphism from paraffin-embedded tissues: the Hisayama study. *Circ. J.*, 66(11), 1034-1036.
6. D. Zhang, L. Zhang, D.W. Lou, Y. Nakabeppu, J. Zhang, and M. Xu. 2002. The dopamine D1 receptor is a critical mediator for cocaine-induced gene expression. *J Neurochem*, 82(6), 1453-1464.
7. K. Yamazaki, L. Guo, K. Sugahara, C. Zhang, H. Enzan, Y. Nakabeppu, S. Kitajima, and T. Aso. 2002. Identification and biochemical characterization of a novel transcription elongation factor elongin A3. *J. Biol. Chem.*, 277(29), 26444-26451.
8. T. Nunoshiba, T. Watanabe, Y. Nakabeppu, and K. Yamamoto. 2002. Mutagenic target for hydroxyl radicals generated in *Escherichia coli* mutant deficient in Mn- and Fe-superoxide dismutases and Fur, a repressor for iron-uptake systems. *DNA Repair*, 1(5), 411-418.
9. M. Takahashi, F. Maraboeuf, Y. Sakai, H. Yakushiji, M. Mishima, M. Shirakawa, S. Iwai, H. Hayakawa, M. Sekiguchi, and Y. Nakabeppu. 2002. Role of tryptophan residues in the recognition of mutagenic oxidized nucleotides by human antimutator MTH1 protein. *J. Mol. Biol.*, 319(1), 129-139.
10. N. Kohya, K. Miyazaki, S. Matsukura, H. Yakushiji, Y. Kitajima, K. Kitahara, M. Fukuhara, Y. Nakabeppu, and M. Sekiguchi. 2002. Deficient Expression of O⁶-Methylguanine-DNA Methyltransferase Combined With Mismatch-Repair Proteins hMLH1 and hMSH2 Is Related to Poor Prognosis in Human Biliary Tract Carcinoma. *Ann. Surg. Oncol.*, 9(4), 371-379.
11. H. Kikuchi, A. Furuta, K. Nishioka, S. O. Suzuki, Y. Nakabeppu, and T. Iwaki. 2002. Impairment of mitochondrial DNA repair enzymes against accumulation of 8-oxoguanine in the spinal motor neurons of amyotrophic lateral sclerosis.

Acta Neuropathol., 103, 408-414.

12. T. Nishioka, K. Sakumi, T. Miura, K. Tahara, H. Horie, T. Kadoya, and Y. Nakabeppu. 2002.
fosB gene products trigger cell proliferation and morphological alteration with an increased expression of a novel processed form of galectin-1 in the rat 3Y1 embryo cell line.
J. Biochem., 131, 653-661.

学会発表

1. 大西克典, 作見邦彦, 三浦智史, 山崎勝久, 本田陽子, 富永洋平, 中別府雄作(2002/7/13).
 Δ FosB と FosB による Galectin-1 の発現制御.
 第 5 回九州大学生体防御医学研究所リトリート, 九重.
2. 許萍, 吉村大輔, 善岡克次, 三浦智史, 作見邦彦, 富永洋平, 中別府雄作(2002/7/13).
In vitro 神経分化系を用いた JNK カスケードスキヤフォールド蛋白質 JSAP1 の機能解析.
 第 5 回九州大学生体防御医学研究所リトリート, 九重.
3. 山崎勝久, 北嶋繁孝, 麻生悌二郎, 中別府雄作(2002/7/13).
 転写伸長因子 Elongin A を欠損するマウス ES 細胞の樹立と解析.
 第 5 回九州大学生体防御医学研究所リトリート, 九重.
4. 山口浩雄, 古市正人, 大野みづき, 作見邦彦, 中別府雄作(2002/7/13).
 ロテノン投与マウスにおける核酸の酸化損傷と神経機能障害の解析, 第 5 回九州大学生体防御医学研究所リトリート, 九重.
5. 富永洋平, 平野世紀, 一戸晶元, 作見邦彦, 松本吉博, 中別府雄作(2002/7/13).
 MYH 蛋白質による酸化塩基 8-オキソグアニンに起因する自然突然変異の抑制機構解析.
 第 5 回九州大学生体防御医学研究所リトリート, 九重.
6. 布柴達男, 石田力也, 佐々木三智, 中別府雄作, 山本和生 (2002/9/18).
 出芽酵母における大腸菌 MutT 機能的ホモログの分離・同定,
 日本放射線影響学会第 45 回大会, 仙台.
7. 作見邦彦, 古市正人, 許萍, 富永洋平, 繁輝久, 関口睦夫, 中別府雄作(2002/10/1).
 $OGG1$ 遺伝子欠損と肺の自然発癌.
 第 61 回日本癌学会総会, 東京.
8. 坂本勝美, 富永洋平, 江頭明典, 蔵忍, 中津可道, 作見邦彦, 八尾隆史, 恒吉正澄, 増田康治, 中別府雄作, 繁輝久(2002/10/1).
 MYH 遺伝子欠損マウスにおける自然発癌の解析.
 第 61 回日本癌学会総会, 東京.
9. 古市正人, 岩井成憲, 中別府雄作(2002/10/1).
 ゲノム DNA 中の 2-OH-dA は 8-oxo-dG と同様に老化にともない増加するのか?
 日本遺伝学会第 74 回大会, 福岡.
10. 井手康人, 土本大介, 富永洋平, 中別府雄作(2002/10/1).
 マウス *Apex2* 遺伝子のゲノム構造解析とその産物の発現解析.
 日本遺伝学会第 74 回大会, 福岡.

11. 平野世紀, 富永洋平, 本田陽子, 三浦智史, 松本吉博, 中別府雄作(2002/10/1).
MUTYH 蛋白質によるアデニン:8-オキソグアニン誤塩基対の複製後修復.
日本遺伝学会第 74 回大会, 福岡.
12. 一戸晶元, 富永洋平, 平野世紀, 中別府雄作(2002/10/1).
択一的スプライシングにより翻訳される 2 種類のマウス MYH 蛋白質の解析.
日本遺伝学会第 74 回大会, 福岡.
13. 作見邦彦, 古市正人, 土本大介, 富永洋平, 平野世紀, 井手康人, 吉村大輔, 三浦智史, 酒井康成, 中別府雄作(2002/10/3).
哺乳動物における活性酸素による核酸の酸化障害とその修復・防御機構.
日本遺伝学会第 74 回大会 (ワークショップ), 福岡.
14. 布柴達男, 石田力也, 佐々木三智, 中別府雄作, 山本和生(2002/10/3).
出芽酵母における大腸菌 MutT 機能的ホモログの分離・同定.
日本遺伝子学会第 74 回大会, 福岡.
15. 山口浩雄, 大野みづき, 鶴屋和彦, 古市正人, 作見邦彦, 富永洋平, 平方秀樹, 中別府雄作(2002/10/16).
活性酸素による細胞の機能障害と核酸の酸化損傷.
第 75 回生化学学会 (シンポジウム), 京都.
16. 服部信孝, 深江治郎, 高梨雅史, 水野美邦, 西岡憲一, 作見邦彦, 大坪俊夫, 富永洋平, 中別府雄作(2002/10/16).
パーキンソン病におけるミトコンドリア機能異常.
第 75 回日本生化学会大会 (シンポジウム), 京都.
17. Kazuhiko Tsuruya, Masatomo Taniguchi, Kohsuke Masutani, Makoto Hirakawa, Masanori Tokumoto, Kyoichi Fukuda, Hidetoshi Kanai, Hideki Hirakata, Hidenori Horie, Toshihiko Kadoya, Mitsuo Iida, Yusaku Nakabeppu (2002/11/1).
Possible involvement of galectin-1 (Gal-1) in renal tubular regeneration of cisplatin-induced acute renal failure (ARF).
35th Annual Meeting & Scientific Exposition.
The American Society of Nephrology, Philadelphia, PA, USA.
18. Y. Ohnishi, K. Sakumi, T. Miura, K. Yamazaki, Y. Ohnishi, Y. Tominaga, H. Horie, T. Kadoya, Y. Nakabeppu (2002/11/2).
Expression of a multi-functional lectin, galectin-1 is dependent on fosb.
32nd Annual meeting, Society for Neuroscience, Orlando, Florida, USA.
19. 布柴達男, 石田力也, 佐々木三智, 中別府雄作, 山本和生(2002/11/27).
酵母の大腸菌 MutT 機能的ホモログの分離・同定.
第 31 回日本環境変異原学会大会, 東京.
20. 富永洋平, 土本大介, 平野世紀, 一戸晶元, 作見邦彦, 三島正規, 白川昌宏, 中別府雄作(2002/12/11).
MUTYH は, DNA 中の 8-oxoG に対して取り込まれた adenine の除去修復反応中間体を OGG1 と APEX1 による二本鎖切断から保護する.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

21. Mehrdad Behmanesh, Masato Furuichi, Kumiko Torisu, Yasunari Sakai, Yohei Tominaga, Kunihiko Sakumi, and Yusaku Nakabeppu (2002/12/11).
Molecular cloning and characterization of mammalian inosine triphosphate pyrophosphatase genes.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

22. 一戸晶元, 富永洋平, 平野世紀, 中別府雄作(2002/12/11).
複数の転写産物をコードするマウス *Mutyh* 遺伝子のゲノム構造とその翻訳産物の解析.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

23. 吉村大輔, 古市正人, 酒井康成, 大野みづき, 中別府雄作(2002/12/11).
酸化プリンヌクレオシド三リン酸分解酵素 MTH1 の生物学的意義の検討: 酸化ストレスによる細胞機能障害, 細胞死を抑制する機能について.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

24. 許萍, 善岡克次, 吉村大輔, 富永洋平, 中別府雄作(2002/12/11).
JNK カスケードスキヤフオールド蛋白質 JSAP1 は, 脳の初期発生に重要である.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

25. 山口浩雄, 古市正人, 大野みづき, 作見邦彦, 中別府雄作(2002/12/11).
MPTP, 口テノン投与マウスにおける核酸の酸化損傷と神経機能障害の解析.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

26. 紙谷浩之, Laurence Dugu, 薬師寺浩之, Sylvie Pochet, 中別府雄作, 原島秀吉(2002/12/11).
ヒト MTH1 蛋白質の基質認識--合成ヌクレオチドアナログを用いたアプローチ.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

27. 山内一己, 坂本勝美, 中津可道, 富永洋平, 中別府雄作, 真木寿治, 繁輝久(2002/12/11).
Mutyh 遺伝子欠損マウスにおける自然発がんと自然突然変異の解析.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

28. 善岡克次, 許萍, 中別府雄作, 佐藤慎二, 西田純, 伊藤道彦, 柴忠義(2002/12/11).
哺乳動物のストレス応答 MAP キナーゼ経路における足場タンパク質の機能解析.
第 25 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム), 横浜.

29. 大西克典, 作見邦彦, 三浦智史, 山崎勝久, 大西(本田)陽子, 富永洋平, 堀江秀典, 門屋利彦, 中別府雄作(2002/12/11).
 Δ FosB と FosB による Galectin-1 の発現制御.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

30. 大野みづき, 古市正人, 作見邦彦, 富永洋平, 中別府雄作(2002/12/11).
OGG1 欠損マウス胎児線維芽細胞における 8-oxoG の修復と細胞内動態.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.

31. 中川内哲治, 副島英伸, 佐藤勇司, 松倉史朗, 北島吉彦, 原田晴仁, 中別府雄作, 関口睦夫, 宮崎耕治, 江見充, 向井常博(2002/12/11).
プロモーター領域のメチル化による O6-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT) の転写制御.

第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .

32. 山崎勝久 , 麻生悌二郎 , 北嶋繁孝 , 中別府雄作(2002/12/1) .
転写伸長因子 Elongin A を欠損するマウス ES 細胞の樹立と解析 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .

33. 布柴達男 , 石田力也 , 佐々木三智 , 中別府雄作 , 山本和生(2002/12/12) .
出芽酵母における大腸菌 MutT 機能的ホモログの分離・同定 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .

34. 中別府雄作 , 土本大介 , 大野みづき , 山口浩雄 , 平野世紀 , 一戸昌元 , 吉村大輔 , 鶴屋和彦 , 平方秀樹 , 富永洋平 , 作見邦彦 , 古市正人(2002/12/13) .
ミトコンドリアにおける核酸の酸化損傷とその防御機構
第 25 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ) , 横浜 .

35 古市正人 , 岩井成憲 , 中別府雄作(2002/12/13) .
ゲノム DNA 中の 2-OH-dA 測定の試み : 臓器や老化にともない変化するのか ?
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .

36. 土本大介 , 鳥巣 (中原) 久美子 , 中別府雄作(2002/12/14) .
大腸菌 Endonuclease VIII(NEIL)類似タンパク質 NEIL3 をコードするヒトおよびマウス遺伝子のゲノム構造と発現解析 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .

37. 吉村大輔 , 古市正人 , 酒井康成 , 大野みづき , 中別府雄作 . (2002/12/19) .
酸化プリンヌクレオシド三リン酸分解酵素 MTH1 の生物学的意義の検討 : 酸化ストレスによる細胞機能障害 , 細胞死を抑制する機能について .
第 2 回日本ミトコンドリア研究会 , 横浜

38. 三浦智史 , 作見邦彦 , 久留島秀朗 , 梶谷康介 , 西岡智子 , 大西克典 , 堀江秀典 , 門屋利彦 , 中別府雄作(2003/1/24) .
リコンビナントガレクチン-1 α , ガレクチン-1 β の発現精製とその機能解析 .
CREST 「脳を守る」終了シンポジウム , 横浜 .

39. 許萍 , 善岡克次 , 吉村大輔 , 富永洋平 , 中別府雄作(2003/1/24) .
JNK カスケードスキヤフォールド蛋白質 JSAP1 は , 脳の初期発生に重要である .
CREST 「脳を守る」終了シンポジウム , 横浜 .

40. 吉村大輔 , 古市正人 , 酒井康成 , 大野みづき , 中別府雄作(2003/1/24) .
酸化プリンヌクレオシド三リン酸分解酵素 MTH1 の生物学的意義の検討 : 酸化ストレスによる細胞機能障害 , 細胞死を抑制する機能について .
CREST 「脳を守る」終了シンポジウム , 横浜 .

41. Behmanesh M. , Furuichi M. , Torisu K. , Sakai Y. , Tominaga Y. , Sakumi K. , Nakabeppu Y. , (2003/1/24) .
Molecular cloning and characterization of mammalian inosine triphosphate pyrophosphatase genes .
CREST 「脳を守る」終了シンポジウム , 横浜 .

42. 中別府雄作, 土本大介, 大野みづき, 山口浩雄, 平野世紀, 一戸昌元, 吉村大輔, 鶴屋和彦, 平方秀樹, 富永洋平, 作見邦彦, 古市正人(2003/1/31).
酸化プリンヌクレオシドミリン酸分解酵素 MTH1 の生物学的意義の検討: 酸化ストレスによる細胞機能障害, 細胞死を抑制する機能について.
日本学術振興会レドックス生命科学第 170 委員会, 第 8 回研究会, 池田.

43. Yoshimura D., Oka S., Ohno M., Yamaguchi H., Tsuchimoto D., Ide Y., Tominaga Y., Furuichi M, Sakumi K., Nakabeppu Y., (2003/2/5).
Mechanisms Protecting Genomic Integrity from Damage Caused by Reactive Oxygen Species: Implications for Carcinogenesis and Neurodegeneration.
The Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, ソウル.

44. 古市正人, 吉村大輔, 酒井康成, 大野みづき, 中別府雄作(2003/2/25).
酸化プリンヌクレオシドミリン酸分解酵素 MTH1 の生物学的意義の検討: 酸化ストレスによる細胞機能障害, 細胞死を抑制する機能について.
ワークショップ DNA Repair, Recombination and Mutagenesis, 兵庫県津名郡.

45. 作見邦彦, 古市正人, 許萍, 富永洋平, 繽輝久, 関口睦夫, 中別府雄作(2003/2/25).
*OGG1*遺伝子欠損と肺の自然発癌,
ワークショップ DNA Repair, Recombination and Mutagenesis, 兵庫県津名郡.

特許出願

1. 発明者: 中別府雄作, 古市正人, 作見邦彦

発明の名称: 酸化プリンヌクレオシドミリン酸分解酵素阻害剤のスクリーニング方法

出願人: 科学技術振興事業団

出願日: 平成 14 年 11 月 20 日