

[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 :

細胞機能制御学部門
Department of Molecular and Cellular Biology

分子発現制御学分野 Division of Cell Biology

分子発現制御学分野(旧細胞学部門)では,細胞の基本的性質である細胞周期と細胞死を制御する分子メカニズムを,遺伝学的・生化学的・細胞生物学的・発生工学的手法を用いて研究を進めている。つまり細胞周期や細胞死の制御に関わっていると推測される分子の遺伝子を単離同定し,最終的にはその遺伝子を破壊したマウス(ノックアウトマウス)を人工的に作製し,その異常を調べることによって,その分子の生理的役割を個体レベルで明らかにしようというものである。特に免疫系と神経系の細胞の分化段階特異的な細胞周期と細胞死の制御因子の量的制御機構を、選択的タンパク質分解の視点から取り組んでいる。

分子発現制御学分野は昨年に引き続き,中山敬一教授,畠山鎮次助教授,嘉村巧助手の教官を中心に大学院生(15名),日本学術振興会特別研究員(4名),科学技術振興事業団派遣職員(研究員1名,技術員1名,研究補助員5名,事務員1名)の体制で研究を進めている(2003年3月31日現在)。

その他の人事異動について,新規参加者としては大学院生として2002年4月より洲崎悦生(九大・医),小野山一郎(九大・医・産婦),事柴周平(東北大・薬修),藤井洋(九大・理修)が入学した。また2002年5月より栄信孝(九大・医・神内)が大学院生として参加している。さらに日本学術振興会特別研究員として押川清孝(前年度まで発生工学分野・非常勤研究員)が2002年4月より参加している。

次いで退職者として2002年3月末で大学院生の中道郁夫が学位取得の上卒業した。また今木裕幸,矢田雅佳,恒松良祐は単位取得退学した。日本学術振興会特別研究員であった服部公彦は,2002年9月1日付けで名古屋大学環境医学研究所助手として転任した。

1997年11月より当研究室は科学技術振興事業団(JST)による戦略的創造研究推進事業(CREST)「脳を守る」の支援を受けていたが,2002年10月31日をもって当研究課題は終了した。しかし2002年11月1日より,戦略的創造研究推進事業(CREST)「生物の発生・分化・再生」から引き続き支援を受けることが決定した。そこで研究員として石田典子(継続),技術員として小山田浩二(2003年1月より),研究補助員として安河内亮子(継続),下原田加代子(継続),松下純恵(継続),西村直子(継続),木村美保子(2002年12月より),事務員として杉田知栄子(継続)をJST派遣職員として受け入れている。

A. p27の主要リン酸化部位 Ser-10 に関する生化学的・細胞生物学的解析

われわれは以前に p27 のリン酸化部位を特定し, Ser-10 が全体の 70% 近くを占める主要リン酸化部位であること, さらにその Ser-10 リン酸化の程度は G0-G1 期において高く, S 期や G2-M 期においては低いことを報告してきた。この Ser10 のリン酸化における生理的意義を検討するため, 種々の解析を行っていたところ, Ser10 がリン酸化された p27 は有意に核外排出されて分解されることが明らかとなった。この現象の分子メカニズムを探索するために, 核外排出のトランスポータ

一である CRM1 とリン酸化 p27 の結合状態を調べたところ、Ser10 がリン酸化された p27 とのみ CRM1 は結合することが明らかとなった。そこで Ser10 を Ala に置換した変異体 (S10A) やリン酸化状態を模擬すべく Asp や Glu に置換した変異体 (S10D や S10E) を作製すると、S10A 変異体では p27 の核外排出が遅延し、逆に S10D や S10E 変異体では p27 の核外排出が促進されていた。このことにより、p27 は Ser10 がリン酸化されると効率的に核外排出され、そこで何らかのメカニズムによって分解を受けることが明らかとなった。

B. マロリー小体の形成に関わる分子機構の解明

マロリー小体はアルコール性肝障害等の病態に付随して認められる病理像であり、肝細胞の核近傍にできる無構造性の封入体である。この封入体は好酸性でエオジンで染色され、またユビキチン抗体による免疫染色で染まることが知られている。この凝集物の主要成分はケラチン 8 及びケラチン 18 であり、マウスに抗真菌剤グリセオフルビンを長期間経口投与すると、肝臓にマロリー小体が形成されることが知られていた。しかしながらその形成の分子機構は *in vitro* 系がないために長らく不明であった。われわれはマロリー小体を *in vitro* で作製する試みとして、肝細胞株をグリセオフルビン存在下で培養を行い、低頻度ながらマロリー小体を形成することに成功した。このときケラチン 18 がケラチン 8 に対して増加していることが判明したので、ケラチン 18/ケラチン 8 のバランスが狂うことによってマロリー小体が形成されるという仮説を立てた。ケラチン 18 を過剰発現させると、エオジン好性でユビキチン抗体によって染まるマロリー小体様の封入体が生じた。この封入体形成によって細胞内の微小管走行に異常を生じ、細胞分裂の障害からアポトーシスを引き起こすことが明らかとなった。さらにケラチン 8 を同様に発現させると、この封入体は消失し、アポトーシスも減少することから、ケラチン 18 とケラチン 8 の比が安定な中間径フィラメントを形成するのに重要で、何らかの病的状態によってその発現比が狂うとマロリー小体が形成されることが示唆された。

C. イムノフィリン FKBP38 による Bcl-2 のミトコンドリア局在化とアポト

ーシス抑制

Bcl-2 や Bcl-xL がミトコンドリアへ局在することは、その抗アポトーシス作用に重要である。われわれは Bcl-2 や Bcl-xL に結合するタンパク質としてイムノフィリン FKBP38 を同定した。FKBP38 はミトコンドリアに局在し、その局在は Bcl-2 や Bcl-xL と一致した。FKBP38 の変異体を作製して、人工的に FKBP38 の局在を変化させると、変異 FKBP38 に引き寄せられるようにして Bcl-2 や Bcl-xL の局在も変化した。また FKBP38 の発現を siRNA で抑制すると Bcl-2 や Bcl-xL はミトコンドリアに局在しなくなった。つまり FKBP38 は Bcl-2 や Bcl-xL をミトコンドリアに引き寄せる作用があることが明らかとなった。一方 FKBP38 は FKBP12 と部分的に類似しており、FKBP12 は免疫抑制剤 FK506 と結合して、この FKBP12-FK506 複合体がカルシニューリンを抑制する。興味深いことに FKBP38 は FK506 非存在下でもカルシニューリンを阻害することが判明し、カルシニューリンの生理的なインヒビターであることが示唆された。現在まで何故生理的には生体内に存在し

ない FK506 という薬物が FKBP12 とカルシニューリンという関係ない二つの分子を結びつけているのか全くの謎であったが、われわれは FKBP12+FK506 という構造がカルシニューリンの生理的インヒビターである FKBP38 の構造に類似しているためであろうと推測している。FKBP38 は過剰発現するとアポトーシスを抑制する。逆にドミナントネガティブ変異体の発現や siRNA による FKBP38 の発現抑制は細胞をアポトーシスに対して感受性にすることがわかった。これらのことから、ミトコンドリア局在イムノフィリン FKBP38 は Bcl-2 のミトコンドリア局在作用及びカルシニューリン阻害作用の二つの機能を持ち、アポトーシスの制御に重要な役割を果たしていることが示された。

業績目録

原著論文

1. Ishida, N., Hara, T., Kamura, T., Yoshida, M., Nakayama, K., Nakayama, K. I. 2002.
Phosphorylation of p27^{Kip1} on serine 10 is required for its binding to CRM1 and nuclear export.
J. Biol. Chem. 277, 14355-14358.
2. Miyamoto, A., Nakayama, K., Imaki, H., Hirose, S., Jiang, Y., Abe, M., Tsukiyama, T., Nagahama, H., Ohno, S., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. 2002.
Increased proliferation of B cells and auto-immunity in mice lacking protein kinase C δ .
Nature 416, 865-869.
3. Imai, Y., Soda, M., Hatakeyama, S., Akagi, T., Hashikawa, T., Nakayama, K. I., Takahashi, R. 2002.
CHIP is associated with Parkin, a gene responsible for familial Parkinson's disease, and enhances its ubiquitin ligase activity.
Mol. Cell 10, 55-67.
4. Masuda, T. A., Inoue, H., Sonoda, H., Mine, S., Yoshikawa, Y., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Mori, M. 2002.
Clinical and biological significance of S-phase kinase-associated protein 2 (Skp2) gene expression in gastric carcinoma: modulation of malignant phenotype by Skp2 overexpression, possibly via p27 proteolysis.
Cancer Res. 62, 3819-3825.
5. Kamura, T., Brower, C. S., Conaway, R. C., Conaway, J. W. 2002.
A molecular basis for stabilization of the von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor protein by components of the VHL ubiquitin ligase.
J. Biol. Chem. 277, 30388-30393.
6. Brower, C. S., Sato, S., Tomomori-Sato, C., Kamura, T., Pause, A., Stearman, R., Klausner, R. D., Malik, S., Lane, W. S., Sorokina, I., Roeder, R. G., Conaway, J. W., Conaway, R. C. 2002.
Mammalian mediator subunit mMED8 is an Elongin BC-interacting protein that can assemble with Cul2 and Rbx1 to reconstitute a ubiquitin ligase.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 10353-10358.
7. Nakamichi, I., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. 2002.
Formation of Mallory body-like inclusions and cell death induced by deregulated expression of keratin 18.
Mol. Biol. Cell 13, 3441-3451.
8. Garcia-Fernandez, L. F., Losada, A., Alcaide, V., Alvarez, A. M., Cuadrado, A., Gonzalez, L., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Fernandez-Sousa, J. M., Munoz, A., Sanchez-Puelles, J. M. 2002.
Aplidin induces the mitochondrial apoptotic pathway via oxidative stress-mediated JNK

- and p38 activation and protein kinase C δ .
Oncogene 21, 7533-7544.
9. Shimoda, K., Kamesaki, K., Numata, A., Aoki, K., Matsuda, T., Oritani, K., Tamiya, S., Kato, K., Takase, K., Imamura, R., Yamamoto, T., Miyamoto, T., Nagafuji, K., Gondo, H., Nagafuchi, S., Nakayama, K. I., Harada, M. 2002.
 Tyk2 is required for the induction and nuclear translocation of Daxx which regulates IFN- α -induced suppression of B lymphocyte formation.
J. Immunol. 169, 4707-4711.
 10. Tomari, S., Nagahama, H., Shu, Y., Hoshi, S., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Nagata, M. 2002.
 Glomerular differentiation in p27 and p57 double-mutant metanephroi.
Anat. Embryol. 206, 31-36.
 11. Shirane, M., Nakayama, K. I. 2003.
 Inherent calcineurin inhibitor FKBP38 targets Bcl-2 to mitochondria and inhibits apoptosis.
Nature Cell Biol. 5, 28-37.
 12. Seto, Y., Nakajima, H., Suto, A., Shimoda, K., Saito, Y., Nakayama, K. I., Iwamoto, I. 2003.
 Enhanced Th2 cell-mediated allergic inflammation in Tyk2-deficient mice.
J. Immunol. 170, 1077-1083.
 13. Kaneko, C., Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Yada, M., Nakayama, K., Nakayama, K. I. 2003.
 Characterization of the mouse gene for the U-box-type ubiquitin ligase UFD2a.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 300, 297-304.

総説

1. Kamura, T., Conaway, J. W., Conaway, R. C. 2002.
 Roles of SCF and VHL ubiquitin ligases in regulation of cell growth.
Prog. Mol. Subcell. Biol. 29, 1-15.
2. 石田典子, 中山敬一. 2002.
 CDK インヒビター-p27^{Kip1} の分解制御と癌.
 医薬ジャーナル Medical Front Line 「ユビキチン代謝系の破綻と疾病 -癌・免疫病から神経病まで-」 38, 26-33.
3. 中山敬一, 宮本顕友, 中山啓子. 2002.
 B リンパ球の増殖を抑制するシグナル伝達分子 PKC- δ .
実験医学 20, 1438-1441.
4. 中山啓子, 宮本顕友, 中山敬一. 2002.
 PKC- δ ノックアウトマウスにおける B 細胞の過剰増殖と自己免疫疾患.
細胞工学 21, 778-779.
5. 畠山鎮次, 中山敬一. 2002.
 ユビキチン・プロテアソーム系による細胞機能調節.
実験医学 (増刊)「プロテオミクス時代のタンパク質研究」 20, 2053-2067.
6. 原太一, 中山敬一. 2002.
 CDK インヒビター-p27^{Kip1} の分解制御と癌.
Molecular Medicine 39, 1288-1289.
7. 宮本顕友, 中山啓子, 中山敬一. 2002.

自己免疫疾患と PKC- δ .

感染・炎症・免疫 32, 302-303.

8. 宮本顕友, 中山啓子, 中山敬一. 2003.

B 細胞へのトレランス誘導と PKC- δ .

臨床免疫 39, 236-240.

9. 中山敬一, 中山啓子. 2003.

細胞周期を制御する二大ユビキチンリガーゼ : APC/C と SCF 複合体.

実験医学「次々と解明されるユビキチンの多彩な役割」 21, 358-364.

10. 高橋秀尚, 中山敬一. 2003.

ユビキチンシステムによる細胞内タンパク質分解制御 - 炎症免疫に関与する機構 -.

感染・炎症・免疫 33, 12-22.

11. 白根道子, 中山敬一. 2003.

イムノフィリン FKBP38 による Bcl-2 のミトコンドリア局在化とアポトーシス抑制.

医学のあゆみ 255, 274-275.

12. 白根道子, 中山敬一. 2003.

Bcl-2 をミトコンドリアに局在化させる分子.

実験医学 21, 494-496.

13. 白根道子, 中山敬一. 2003.

カルシニューリン阻害分子 FKBP38 による Bcl-2 のミトコンドリア局在化とアポトーシス抑制.

細胞工学 22, 308-309.

14. 嘉村巧. 2003.

CDK インヒビター p27^{Kip1} の分解制御機構.

実験医学 (増刊)「細胞周期研究の新局面」 21, 573-579.

15. Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. 2003.

U-box proteins as a new family of ubiquitin ligases.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 302, 635-645.

著書

1. 松本雅記, 中山敬一. 2003.

発生工学プロテオミクス : ノックアウトマウスを利用した新時代のプロテオミクス.

実験医学 (別冊)「注目のプロテオミクスの全貌を知る！」 165-173.

学会発表

1. 中山敬一 (2002, 4/25) .

新規ユビキチンリガーゼ p140/p50 複合体による p27 の分解機構 . (シンポジウム)

CREST シンポジウム「脳を守る」, 東京 .

2. 原太一, 嘉村巧, 中山啓子, 畠山鎮次, 押川清孝, 中山敬一 (2002, 4/25) .

- G0-G1 期における Skp2 非依存性 p27^{Kip1} 分解システムの解明 .
CREST シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
3. 石田典子, 原太一, 嘉村巧, 吉田稔, 中山啓子, 中山敬一 (2002 , 4/25) .
CRM1 との結合、及び核外移行に重要な CDK インヒビター-p27 の Ser10 部位のリン酸化 .
CREST シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
 4. 嘉村巧, 原太一, 松本雅記, 石田典子, 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一 (2002 , 4/25) .
p27 の新たな分解因子の分離精製及び解析 .
CREST シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
 5. 金子千恵, 畠山鎮次, 矢田雅佳, 中山啓子, 中山敬一 (2002 , 4/25) .
マウス U-ボックス型ユビキチンリガーゼ UFD2a のゲノム DNA のクローニングとその解析 .
CREST シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
 6. 恒松良祐, 中山啓子, 西山正章, 畠山鎮次, 別所康全, 影山龍一郎, 尾池雄一, 須田年生, 中山敬一 (2002 , 4/25) .
Notch シグナリングを制御するユビキチンリガーゼ Sel-10 のノックアウトマウスにおける血管形成の異常 .
CREST シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
 7. Kamura, T., Hara, T., Matsumoto, M., Ishida, N., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Nakayama, K. I. (2002 , 5/16) .
Novel ubiquitin ligase GKL1/GKL2 regulates proteolysis of p27^{Kip1} at the G0-G1 transition .
(Invited speaker)
Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle" , Cold Spring Harbor, NY .
 8. Hara, T., Kamura, T., Nakayama, K., Oshikawa, K., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. (2002 , 5/16) .
Degradation of p27^{Kip1} at the G0-G1 transition mediated by a Skp2-independent ubiquitination pathway .
Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle" , Cold Spring Harbor, NY .
 9. Imaki, H., Nakayama, K., Nakayama, K. I. (2002 , 5/16) .
Analysis of mouse Skp2 promoter .
Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle" , Cold Spring Harbor, NY .
 10. Nakayama, K., Minamishima, Y., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. (2002 , 5/16) .
Recovery of liver mass without proliferation of hepatocytes after partial hepatectomy in Skp2-deficient mice .
Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle" , Cold Spring Harbor, NY .
 11. 中山敬一 (2002 , 5/22) .
細胞周期を制御する 2 つの F-box タンパク質のノックアウトマウスを用いた解析 .(シンポジウム)
第 55 回日本細胞生物学会大会 , 横浜 .
 12. 宮本顕友, 中山敬一 (2002 , 5/28) .
PKC-delta 遺伝子欠損マウスにおける自己寛容の破綻 .(公募講演)

- 第 10 回東京免疫フォーラム，東京．
13. 中山敬一（2002，7/8）．
ポリグルタミン病原因遺伝子産物の分解を制御する新たなユビキチン化因子 E4 .(シンポジウム)
第 25 回日本神経科学大会，東京．
14. 中山敬一（2002，9/27）．
発生工学プロテオミクス：ノックアウトマウスを利用した新時代のプロテオミクス .(シンポジウム)
機能プロテオミクス，東京．
15. 中山敬一（2002，10/2）．
G0-G1 移行期において p27 分解を制御する新規ユビキチンリガーゼ KPC の発見 .(シンポジウム)
第 61 回日本癌学会総会，東京．
16. 白根道子，中山敬一（2002，10/15）．
カルシニューリン阻害分子 FKBP38 による Bcl-2 のミトコンドリア膜移行及びアポトーシス抑制 .(シンポジウム)
第 75 回日本生化学会大会，京都．
17. 今居譲，祖田真理子，畠山鎮次，中山敬一，高橋良輔（2002，10/15）．
常染色体劣性若年性パーキンソン病（AR-JP）と小胞体関連分解の異常 .(シンポジウム)
第 75 回日本生化学会大会，京都．
18. 中山敬一（2002，10/16）．
p27 の分解を制御する新規ユビキチンリガーゼ KPC の発見 .(シンポジウム)
第 75 回日本生化学会大会，京都．
19. 畠山鎮次，松本雅記，中山敬一（2002，10/16）．
分子シャペロンと相互作用する U-ボックス型ユビキチンリガーゼ群 .(シンポジウム)
第 75 回日本生化学会大会，京都．
20. Nakayama, K. I.（2002，11/5）．
KPC regulates proteolysis of p27 at the G0-G1 transition .(Invited speaker)
The 19th Radiation Biology Center International Symposium "Bioregulation of Radiation Response: Crisis Control in the cell cycle" , Kyoto, Japan .
21. 中山敬一（2002，11/11）．
細胞増殖のブレーキ p27 の分解調節と癌 .(招待講演)
第 1 回 JJK カンファレンス，東京．
22. Nakayama, K. I.（2002，11/27）．
Mechanisms to control degradation of polyglutamine-containing protein .(Invited speaker)
1st International Workshop "Frontiers in Molecular Neuropathology" , Wako, Japan .
23. 宮本顕友，中山啓子，広瀬幸子，大野茂男，畠山鎮次，中山敬一（2002，12/4）．

- PKC- δ 遺伝子欠損マウスにおける B 細胞の過剰増殖と自己寛容の破綻 .(ワークショップ)
第 32 回日本免疫学会総会 , 東京 .
24. Nakayama, K. I. (2002 , 12/10) .
Identification of a ubiquitin ligase, KPC, that regulates proteolysis of p27 at the G0-G1 transition .(Invited speaker)
Ubiquitin & Cancer: NCI Workshop , Rockville, MD .
25. 中山敬一 (2002 , 12/10) .
二種類の SCF 型ユビキチンリガーゼによる細胞周期制御 .(シンポジウム)
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
26. 金子千恵, 畠山鎮次, 松本雅記, 矢田雅佳, 中山啓子, 中山敬一 (2002 , 12/10) .
ポリユビキチン鎖伸長因子 E4B ノックアウトマウスの解析 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
27. 中山啓子, 嘉村巧, 恒松良祐, 原太一, 石田典子, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
遺伝子改変マウスを用いた G0-G1 移行期制御機構の解析 . (ワークショップ)第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
28. 畠山鎮次, 松本雅記, 矢田雅佳, 山中篤志, 谷村禎一, 大島靖美, 垣塚彰, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
U-ボックス型ユビキチンリガーゼと神経変性疾患 .(ワークショップ)
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
29. 恒松良祐, 中山啓子, 西山正章, 尾池雄一, 畠山鎮次, 石田典子, 別所康全, 影山龍一郎, 須田年生, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
Notch シグナリングを制御するユビキチンリガーゼ Sel-10 のノックアウトマウスにおける血管形成の異常 .(ワークショップ)
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
30. 矢田雅佳, 畠山鎮次, 千住覚, 西村泰治, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
c-Myc の Myc box1 に結合し転写活性を抑制する UACA の同定と機能解析 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
31. 高橋秀尚, 畠山鎮次, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
SUMO-1 結合タンパク質としての Thymine DNA glycosylase の同定と、その SUMO-1 修飾による機能変化 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
32. 押川清孝, 松本雅記, 畠山鎮次, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
F-box タンパク質 FWD1 と結合する HnRNP-U のユビキチン化における役割 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
33. 石田典子, 原太一, 嘉村巧, 吉田稔, 中山啓子, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
CDK インヒビター-p27^{Kip1} の Ser10 部位のリン酸化は G1 期の核外移行に重要である .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
34. 白根道子, 中山敬一 (2002 , 12/12) .

- BH3 及び FYVE finger ドメインを有する新規タンパク質 FKAP の細胞生物学的解析 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
35. 奥村文彦, 畠山鎮次, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
U-ボックス型ユビキチンリガーゼ UFD2a による神経軸索誘導因子 FEZ1 の機能調節 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
36. 原太一, 嘉村巧, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
UBL-UBA タンパク質 KPC2 はポリユビキチン結合タンパク質である .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
37. Fotovati, A., 中山啓子, 中山敬一 (2002 , 12/12) .
Reduced fertility due to defective germ cell production in mice deficient in Skp2 .
第 25 回日本分子生物学会年会 , 横浜 .
38. Nakayama, K. I. (2003 , 1/9) .
Two ubiquitin ligases control proteolysis of p27 . (Invited speaker)
German-Japanese Cancer Workshop on Modification of Signalling Cascades in Cancer ,
Tokyo, Japan .
39. 中山敬一 (2003 , 1/24) .
神経細胞における増殖制御機構の解明 . (シンポジウム)
CREST 終了シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
40. 畠山鎮次, 松本雅記, 矢田雅佳, 山中篤志, 中山敬一 (2003 , 1/24) .
U-ボックス型ユビキチンリガーゼと神経変性疾患 .
CREST 終了シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
41. 白根道子 (2003 , 1/24) .
カルシニューリン阻害分子 FKBP38 による Bcl-2 のミトコンドリア局在化 .
CREST 終了シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
42. 松本雅記, 中山敬一 (2003 , 1/24) .
プロテオミクスによるユビキチン関連タンパク質の網羅的解析 .
CREST 終了シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
43. 石田典子, 畠山鎮次, 中山敬一 (2003 , 1/24) .
Cyclin F と結合する Ubiquitin-domain protein (UDP)、GdX の細胞学的解析 .
CREST 終了シンポジウム「脳を守る」, 東京 .
44. 中山敬一 (2003 , 2/4) .
細胞周期ブレーキ p27 の分解機構 . (シンポジウム)
文部科学省 がん研究に係る特定領域研究 公開合同シンポジウム , 東京 .
45. 中山敬一 (2003 , 3/7) .
Two ubiquitin ligases control degradation of CDK inhibitor p27 . (シンポジウム)
第 1 回東京大学医科学研究所・九州大学生体防御医学研究所合同シンポジウム , 福岡 .

増殖分化制御学分野

Division of Biochemistry and Molecular Biology

細胞は様々な外的刺激に対して多様な応答を示すが、情報の多様性に対し、伝達機構を構成する蛋白質は、分子構造から見ると基本的な幾つかのモジュール構造からなっていることが明らかになりつつある。この基本構造を介した分子間相互作用が、蛋白質上で統合されることで情報伝達機構の複雑な制御を可能にしていると考えられる。

このような観点から、増殖分化制御学分野では、細胞内情報伝達機構解明の良いモデルとして、食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化機構の研究を生化学的・分子生物学的・細胞生物学的手法を用いて行うとともに、構造生物学研究を構造生物学者とのコラボレーションにより進めている。更には、特に蛋白質のドメイン構造とその分子間相互作用の視点から、細胞の極性形成や細胞骨格の制御といった方面の細胞内情報伝達の研究にも取り組んでいる。

本年度の人事異動については、2002年5月1日より紙 圭一郎 助手が赴任した。

A. 食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化の分子機構

食細胞 NADPH オキシダーゼは、病原性微生物の貪食時などにスーパーオキシド (高殺菌能をもつ種々の活性酸素の前駆物質) を生成する酵素系であり、その酵素本体は細胞膜に存在するシトクロム b_{558} (gp91^{phox} と p22^{phox} の2つのサブユニットから成る) である。オキシダーゼは細胞休止時には不活性型であり、その活性化には、特異的アダプター蛋白質(p47^{phox}, p67^{phox} と p40^{phox}: それぞれ SH3 ドメインをもつ) と低分子量 G 蛋白質 Rac が刺激依存性に細胞質から細胞膜に移行してシトクロム b_{558} と相互作用する必要がある。私共はこの系に関してアダプター蛋白質による活性化機構を中心に研究を行ない、2002年は以下のような成果を得ている。

a. p47^{phox} の構造変化とそのメカニズム及び NADPH オキシダーゼ活性化との関連

シトクロム b_{558} と細胞質因子の相互作用は、p47^{phox} の SH3 ドメインと p22^{phox} 細胞質領域の proline-rich region (PRR) との結合に依存し、この結合は NADPH オキシダーゼ活性化の ON/OFF を担う。私共は、更に、p47^{phox} の2つの SH3 ドメインが p22^{phox} の PRR を挟むように結合していることを明らかにした[投稿中]。p47^{phox} の SH3 ドメインと p22^{phox} の細胞質領域との複合体の3次構造決定も稲垣冬彦教授 (北大薬) との共同研究により決定した[投稿準備中]。

b. p47^{phox} と p67^{phox} の結合

p67^{phox} の C 末 SH3 ドメインは p47^{phox} の PRR に結合するが、この結合には PRR 以外にその更に C 末の領域が必要である[投稿中]。また、この複合体の構造を神田大輔教授との共同研究により明らかにした[Kami *et al.*, 2002]。

c. PB1 ドメイン

p40^{phox} は休止時細胞で p67^{phox} と会合しているが、この結合は、私達が見出した新規なドメイン間 (p40^{phox} の PC モチーフと p67^{phox} の PB1 ドメイン) の全く新しいタイプの蛋白質間相互作用によるものであることを示し、更に「p40^{phox} が」、PB1-PC 相互作用による p67^{phox} との結合を介し

て、p67^{phox} と p47^{phox} の膜移行を促進させ、オキシダーゼ活性化を正に制御していること」を明らかにした[Kuribayashi *et al.*, 2002]。また、Cdc24p の PC モチーフ含有領域の 3 次構造を稲垣冬彦教授 (北大薬) との共同研究により決定した[投稿中]。

d. PX ドメイン

p47^{phox} の PX ドメインが phosphoinositides 結合能をもち、p47^{phox} の膜移行およびオキシダーゼ活性化に必須であることを示すとともに、PX ドメインが SH3 ドメインとの分子内結合により負に制御されていることを明らかにした[Ago *et al.*, 2003]。

B. 新規 NAD(P)H オキシダーゼの同定

gp91^{phox} は、N 末の 6 つの膜貫通領域 (ヘム結合部位を含む) と、C 末の FAD 結合ドメイン及び NADPH 結合ドメインからなる。私達が新規にクローニングした gp91^{phox} ホモログ (NOX4) は腎臓尿細管上皮細胞に高発現しており、NAD(P)H 依存性にスーパーオキシドを生成する活性をもつが[Shiose *et al.*, 2002]、更に、血管系の細胞ではヒト血管内皮細胞が NOX4 を高発現していることを見出した[投稿準備中]。また、p47^{phox} 及び p67^{phox} それぞれの新規ホモログを同定クローニングし (p41^{nox} 及び p51^{nox} と命名)、これらが協同して gp91^{phox}/Nox2 や Nox1 を活性化することを見出している[Takeya *et al.*, 2003]。

C. 細胞極性決定の分子機構

線虫の極性決定に関与する蛋白質 Par6 のヒトホモログ 3 種をクローニングし、ヒト Par6 が、GTP 結合型の Rac/Cdc42 および atypical PKC (aPKC) と 3 者複合体を形成すること等を明らかにしていたが、2002 年は、Par6 と aPKC の結合は、先の A.c. で述べた「PB1-PC 相互作用」によるものであることを見出した[投稿中]。また、aPKC や Par6 と結合して細胞極性決定に関与する Par3 の新規ホモログをクローニングし (Par3 β と命名)、Par3 β が tight junction に局在すること等を見出している [Kohjima *et al.*, 2002]。

D. 新規 formin 関連蛋白質 Fhos の機能解析

formin 相同蛋白質ファミリーは、形態形成や極性形成、細胞質分裂に機能する蛋白質群であるが、profilin や Rho ファミリー-GTP 結合蛋白質といったアクチン細胞骨格の調節分子との結合蛋白質としても同定され、細胞内情報伝達系と細胞骨格系を結びつけアクチン線維形成を制御する分子として注目されている。我々は、新規ヒト formin 相同蛋白質 Fhos をクローニングし、アクチン細胞骨格を中心にその機能解析を行っている。HeLa 細胞を用いた強制発現系で、Fhos の C 末端欠失体はアクチンストレスファイバー形成を誘導するとともに、ストレスファイバー上に沿って局在する。この細胞内局在を担う領域を検討した結果、Fhos の N 末領域が直接のアクチン線維結合能を有し、ストレスファイバー上への局在に関与することを明らかにした。さらに、formin ファミリーで最も保存された領域である FH2 ドメインが、細胞内での Fhos 同士の homotypic な相互作用を担うことを明らかにした [投稿中]。2002 年には formin ファミリー蛋白質自身がアクチン重合活性を持つ

ことが明らかにされたが、我々が明らかにした蛋白質間相互作用がこの活性をどのように調節しアクチン細胞骨格を制御するかに関し解析を進めている。

業績目録

原著論文

1. Kuribayashi, F., Nuno, H., Wakamatsu, K., Tsunawaki, S., Sato, K., Ito, T., and Sumimoto, H. 2002.
The adaptor protein p40^{phox} as a positive regulator of the superoxide-producing phagocyte oxidase.
EMBO J. 21, 6312–6320.
2. Ponting, C., Ito, T., Moscat, J., Diaz-Meco, M. T., Inagaki, F., and Sumimoto, H. 2002.
OPR, PC and AID: all in the PB1 domain.
Trends Biochem. Sci. 27, 10.
3. Yamamori, T., Inanami, O., Sumimoto, H., Akasaki, T., Nagahata, H., and Kuwabara, M. 2002.
Relationship between p38 mitogen-activated protein kinase and small GTPase Rac for the activation of NADPH oxidase in bovine neutrophils.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 293, 1571–1578.
4. Kami, K., Takeya, R., Sumimoto, H., and Kohda, D. 2002.
Diverse recognition of non-PxxP peptide ligands by the SH3 domains from p67^{phox}, Grb2 and Pex13p.
EMBO J. 21, 4268–4276.
5. Kubo, T., Yamashita, T., Yamaguchi, A., Sumimoto, H., Hosokawa, K., and Tohyama, M. 2002.
A novel FERM domain including guanine nucleotide exchange factor is involved in Rac signaling and regulates neurite remodeling.
J. Neurosci. 22, 8504–8513.
6. Kohjima, M., Noda, Y., Takeya, R., Saito, N., Takeuchi, K., and Sumimoto, H. 2002.
PAR3, a novel homologue of the cell polarity protein PAR3, localizes to tight junctions.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 299, 641–646.
7. Shiose, A., Kuribayashi, F., Takeya, R., and Sumimoto, H. 2002.
Nox4, a novel homologue of the phagocyte NADPH oxidase catalytic subunit gp91^{phox}. Int. Congress Ser. 1233, 63–68.
8. Ago, T., Kuribayashi, F., Hiroaki, H., Takeya, R., Ito, T., Kohda, D., and Sumimoto, H. 2003.
Phosphorylation of p47^{phox} directs phox homology domain from SH3 domain toward phosphoinositides, leading to phagocyte NADPH oxidase activation.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, in press.
9. Takeya, R., Ueno, N., Kami, K., Taura, M., Kohjima, M., Izaki, T., Nuno, H., and Sumimoto, H. 2003.
Novel human homologues of p47^{phox} and p67^{phox} participate in activation of superoxide-producing NADPH oxidases.
J. Biol. Chem. 278, in press
10. Etoh, T., Inoguchi, T., Kakimoto, M., Sonoda, N., Kobayashi, K., Kuroda, J., Sumimoto, H., and Nawata, H. 2003.
Increased expression of NAD(P)H oxidase subunits, NOX4 and p22^{phox}, in kidney of streptozotocin-induced diabetic rats and its reversibility in interventional insulin treatment.
Diabetologia, in press

総説

1. 住本 英樹. 2002.
 活性酸素による自然免疫病原体排除機構 -スーパーオキシド生成型食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化の分子機構-.
 細胞工学 21, 11, 1312- 1317.
2. 住本 英樹. 2002.
 PX ドメインとスーパーオキシド生成型食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化.
 実験医学. 20, 16, 2309- 2314.
3. 住本 英樹. 2002.
 タンパク質ドメインから病気を考える-「生体防御に重要な役割を果たす活性酸素生成型食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化機構」を例として-
 麻酔 (増刊) 51, 63-71.
4. 住本 英樹. 2003.
 感染防御に重要な活性酸素の生成 -食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化の分子機構-.
 医学のあゆみ 205, 印刷中.

学会発表

1. Sumimoto, H. (2002, 11/17- 11/20)
 The adaptor protein p40^{phox} as a positive regulator of the phagocyte NADPH oxidase.
 (Invited Speaker)
 Cold Spring Harbor Meeting on Oxidases In Inflammation and Cellular Signaling, Cold Spring Harbor, NY, USA.
2. 住本 英樹.(2002, 3/1)
 蛋白質ドメインを介した分子間相互作用から病気を考える：「生体防御に重要な活性酸素生成型食細胞 NADPH オキシダーゼ」を例として.
 先端技術によるゲノム創薬シンポジウム, 宇部.
3. 住本 英樹.(2002, 4/18- 4/20)
 学術講演: 蛋白質ドメインから病気を考える：「生体防御に重要な役割を果たす活性酸素生成型食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化機構」を例として.
 日本麻酔科学会第 49 回大会, 福岡.
4. 野田 祐紀子, 住本 英樹, 入田 和男, 高橋 成輔.(2002, 4/18- 4/20)
 ヒト PAR6 は Rac/ Cdc42 と atypical PKC を link するアダプター蛋白質である.
 日本麻酔科学会第 49 回大会, 福岡.
5. 武谷 立, 紙 圭一郎, 神田 大輔, 住本 英樹.(2002, 10/14- 10/17)
 シンポジウム「好中球の活性化機構とその異常」
 食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化における p47^{phox} と p67^{phox} の相互作用.
 第 75 回日本生化学会大会, 京都.
6. 栗林 太, 住本 英樹.(2002, 10/14- 10/17)
 シンポジウム「食細胞のシグナルトランスダクション」
 細胞 NADPH オキシダーゼの活性化の分子機構：p40^{phox} の役割.

- 第 75 回日本生化学会大会, 京都.
7. 若松 馨, 前田 昌宏, 中嶋 一仁, 田中 剛史, 森川 友仁, 新井 有紀子, 佐藤 一紀, 住本 英樹, 河野 俊之.(2002, 10/14- 10/17)
レセプター部分ペプチドによる G 蛋白質の活性化.
第 75 回日本生化学会大会, 京都.
 8. 小椋 賢治, 湯沢 聰, 住本 英樹, 稲垣 冬彦.(2002, 10/14- 10/17)
シンポジウム「食細胞のシグナルトランスダクション」
p47^{phox} のタンデム SH3 ドメインと p22^{phox}PRR の相互作用.
第 75 回日本生化学会大会, 京都.
 9. 野田 祐紀子, 太田 一寿, 伊藤 隆司, 住本 英樹.(2002, 10/14- 10/17)
PB1 ドメイン間相互作用による aPKC λ と PAR6 の結合は、aPKC λ の tight junction への局在に重要である.
第 75 回日本生化学会大会, 京都.
 10. 国府島 庸之, 住本 英樹.(2002, 10/14- 10/17)
新規ヒト PAR3 相同蛋白質 PAR3 β の tight junction への局在には、PAR6 及び aPKC との直接の結合は必要ではない.
第 75 回日本生化学会大会, 京都.
 11. 金谷 英樹, 武谷 立, 住本 英樹.(2002, 10/14- 10/17)
マウス formin 相同蛋白質 mFormactin2 のストレスファイバーへの局在と F-アクチン結合能.
第 75 回日本生化学会大会, 京都.
 12. 橋田 修吉, 滝川 喬之, 湯沢 聰, 野田 展生, 住本 英樹, 稲垣 冬彦, 藤井 博匡 .(2002, 10/14- 10/17)
食細胞 NADPH oxidase の FAD 結合領域に関する定量的解析.
第 75 回日本生化学会大会, 京都.
 13. 黒田 淳哉, 栗林 太, 中川 和憲, 居石 克夫, 住本 英樹.(2002, 10/14- 10/17)
NAD(P)H オキシダーゼ NOX4 の血管内皮細胞における局在について.
第 75 回日本生化学会大会, 京都.
 14. 紙 圭一郎, 武谷 立, 住本 英樹, 神田 大輔.(2002, 12/11- 12/14)
SH3 ドメインの non-PxxP リガンド認識部位の多様性.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.
 15. 瀧川 喬之, 湯沢 聰, 藤岡 優子, 野田 展生, 上久保 祐生, 片岡 幹雄, 住本 英樹, 稲垣 冬彦.(2002, 12/11- 12/14)
好中球活性酸素産生に関わる細胞質因子 p47^{phox}、 p67^{phox}、 p40^{phox} の X 線小角散乱法による溶接中の構造解析.
第 25 回日本分子生物学会年会, 横浜.
 16. 黒田 淳哉, 栗林 太, 中川 和憲, 居石 克夫, 住本 英樹.(2002, 12/11- 12/14)
NAD(P)H オキシダーゼ NOX4 の血管内皮細胞における局在について.

第 25 回日本分子生物学会年会，横浜.

17. 金谷 英樹，武谷 立，住本 英樹.(2002, 12/11- 12/14)

formin 相同蛋白質マウス formactin2 の発現及び細胞骨格の制御.

第 25 回日本分子生物学会年会，横浜.

18. 平野 良憲，吉永 莊佐，小椋 賢治，横地 政志，野田 祐紀子，住本 英樹，稲垣 冬彦. (2002, 12/11- 12/14)

atypical PKC の PB1 ドメインの立体構造解析.

第 25 回日本分子生物学会年会，横浜.

19. 国府島 庸之，住本 英樹. (2002, 12/11- 12/14)

ヒト PAR3 相同蛋白質 PAR3 β の tight junction への局在機構.

第 25 回日本分子生物学会年会，横浜.

20. 野田 祐紀子，太田 一寿，伊藤 隆司，住本 英樹. (2002, 12/11- 12/14)

PKC ι/λ の tight junction への局在には PB1 ドメインを介した PAR6 との相互作用が必要である.

第 25 回日本分子生物学会年会，横浜.

分子腫瘍学分野

Division of Molecular and Surgical Oncology

細胞機能制御学部門(分子腫瘍学分野)では、(1)癌の基礎研究、(2)癌の遺伝子診断法の確立、(3)新しい治療の開発、を研究の3つの柱と位置づけ研究を推進している。人事面では、平成15年3月に助手・岸原文明が九州医療センターへ、医員・増田隆明が九州大学医学部附属病院へ、園田英人が西有田共立病院へ、大学院生・吉永敬士が国立大分病院へ、研修医・相良安昭が九州ガンセンターへ、竹中朋佑が九州大学医学部附属病院へそれぞれ転出した。一方、平成15年4月より大学院生・原口直紹が着任、同年5月より小川和彦(琉球大学、研究員)、主藤朝也(久留米大学、医員)、永原 央(大阪市立大学、共同研究者)、同年7月より尾嶋英紀(三重大学、共同研究者)が着任し、現在総員15名で臨床・研究を進めている。

A. 癌の基礎的研究

a. 疾患関連遺伝子のマイクロアレイによる包括的解析

1. DNA microarray 法を用いた遺伝子解析

DNA マイクロアレイ法は多数(一数万)の遺伝子の発現を一度に解析できる方法である。教室では胃癌検体を用いて癌関連遺伝子 マイクロアレイ解析を行ったところ、癌の悪性度のクラスターリングを行う過程で、遺伝子によって加重を変えて解析をすることで、リンパ節転移・進行度・予後を反映する遺伝子群の抽出に成功した(Inoue H et al. Clin Cancer Res 2002)。本年度は、大規模な prospective スタディーを行う予定である。

2. DNA microarray 法を用いた肝炎・肝硬変特異的な遺伝子発現プロファイル解析

肝炎・肝硬変合併肝癌の手術において術前肝予備能を正確に把握することを目的として、肝炎・肝硬変合併肝癌における併存病変の遺伝子発現プロファイル解析を行う。これにより肝炎から肝硬変、また肝硬変から肝癌発症に至る経済的機能解析を行うことができ、同時に既存の肝機能評価を超える新しい診断基準を確立したい。

b. 癌の治療を困難にしている癌の多様性の解析

1. ラット多段階発癌モデルによる発癌機構と癌多様性のメカニズム解明

癌の多様性は癌治療を困難にしている。われわれの作成したラット多段階発癌モデルを用い、今年度はそれらの腫瘍(パピローマ→進行食道癌)組織における遺伝子発現パターンを、特に LCM (Laser Captured Microdissection)法と DNA microarray を応用して解析する。多段階発癌と癌多様性のメカニズム解明に取り組んでいる。

2. LCM と DNA マイクロアレイを用いた消化器癌多様性のメカニズム解明

消化器癌における腫瘍内の癌多様性、あるいは原発巣と転移巣の違いを明らかにする目的で LCM 法、T7 遺伝子増幅法、DNA microarray を応用した解析をスタートした。(Mori M et al. Surgery 2002)

c. 腫瘍組織における各種遺伝子の解析

1. Skp2 遺伝子の消化器癌における発現の意義

これまで p27 遺伝子の発現低下が胃癌においてリンパ節転移陽性症例に多いことを明らかにしてきたが(Mori M et al. Nat Med 1997)、さらに p27 の発現に関与する skp2 について胃癌組織で発現の亢進を認め、p27 の発現低下と極めて強い相関を示すことを明らかにした。(Masuda M et al. Cancer Res 2002)

2. 消化器癌・乳癌におけるマトリックス・メタプロテアーゼファミリー発現と癌の悪性度

MMP family (MMP-1, 2, 3, 7, 9, 11, 12, 13, 14) の発現を食道癌の同一検体を用いて解析した。(Yamashita K, Clin Cancer Res 2000) その結果、予後に関わる因子 (MMP-7, 11, 13, 14)の中で特に MT1-MMP が中心的な役割を果たすと考えられたため遺伝子導入株を作成し詳細な解析を行っている。

3. 消化器癌・乳癌における血管新生因子発現の意義

癌の浸潤・転移において腫瘍血管新生は重要であるが、その血管新生を抑制する因子として MMP-12 によって産生される angiostatin が重要である (Etoh T, Cancer Res 2001)。大腸癌における MMP-12 の発現を検討した結果、癌組織で発現が亢進するものの予後とは逆相関を示すことが明らかになったため、その意義を現在検討している。

4. 癌の脱分化に伴う組織脂肪酸構成の変化に関する検討

肝細胞癌では脱分化に伴ってリノール酸の減少、 γ -リノレン酸、ジホモ- γ -リノレン酸の増加を認め、さらに、ジホモ- γ -リノレン酸をアラキドン酸へ変換する酵素である Δ -5 不飽和化酵素が脱分化の進行に伴って発現が増強することを明らかにした (Utsunomiya T et al. Clin Cancer Res 2001)。現在、 Δ -5 不飽和化酵素遺伝子導入株の作成、DNA microarray 法による解析を行っている。

5. ヒト消化器癌における新規肝転移関連遺伝子 CMAP 発現の検索とその臨床的意義

ヒト大腸癌や原発性肝癌の CMAP 発現を定量的 RT-PCR 法で測定したところ、CMAP 高値は深達度、組織学的低分化、肝転移と相関し、予後も有意に不良であった (Utsunomiya T, Clin Cancer Res 2002) 今後、CMAP の遺伝子発現による癌細胞の変化について解析する予定である。

6. Pyrimidine nucleotide phosphorylase (PyNPase) の発現とその意義

PyNPase は癌組織において亢進し、癌の悪性度を反映することが知られている。我々は DNA マイクロアレイを施行し PyNPase と共通して変化を示す ROCK1 を同定した。PyNPase の癌組織における過剰発現による悪性度の増強は ROCK1 による motility の亢進を介していることが示唆された。(Yoshinaga K, Cancer Res, submit)

7. FHIT/FRA3B 領域におけるゲノム解析と癌における遺伝子欠失機序の解明

我々はヒト 3 番染色体 3p14.2 領域から癌関連遺伝子 FHIT を単離し、癌組織で FHIT が欠落していることを明らかにした (Inoue H et al PNAS 1998, Mimori K et al PNAS 1999, Shiraishi T et al. PNAS 2001)。一方、機能面に介して Fhit は caspase の亢進を介して apoptosis に関連することがわかってきた。また Fhit が遺伝子修復酵素 Msh2 と密に関連することを明らかにした (Mori M et al. Cancer Res 2001)

8. 薬剤誘導性 FHIT 発現ベクター導入による FHIT 遺伝子機能の解明

癌関連遺伝子 FHIT の機能を明らかにする目的で、薬剤誘導性 FHIT 発現ベクター導入による FHIT 遺伝子機能の解明を、Fhit 遺伝子導入株と親株の DNA microarray 解析により検討している。

9. 発生分化誘導因子アクチビンの消化器癌における意義の解明

アクチビンが癌で高発現し癌の悪性度と相関することを明らかにした。activin A を癌細胞に遺伝子導入し DNA microarray を行ったところ、MMP-7 が activin A 発現に強く関与することを明らかにした。このメカニズムを解明するために Vanderbilt 大学の Matrisian 教授と共同解析をすすめている。

10. α -fetoprotein (AFP) 産生消化器癌の検討

AFP 産生胃癌は早期に肝転移を起こし予後不良であるが、AFP 産生及び肝転移をきたす機序は不明である。AFP 導入株と親株において DNA マイクロアレイを施行し、機序の解明を試みている。

d. 新しい癌関連遺伝子の同定

1. Differential Display (D.D 法) を用いた癌関連遺伝子の検索

教室ではこれまで cystatin B、G-protein γ 7、HIRH/SDF-1 遺伝子をクローニングしてきた。引き続き MAL、DEN4 や癌で発現が増強している protease (serine-3) をクローニングしたので、解析を進めているところである。

2. SAGE 法を用いた新規遺伝子の検索

教室ではこれまで cDNA subtraction 法、Differential Display 法を用いて各種癌関連遺伝子をクローニングしてきた。近年開発された SAGE 法はより効率よく重要な遺伝子をクローニングできる手法である。本法を用いて食道癌進展に重要な新規遺伝子のクローニングを開始している。

e. 疾患感受性遺伝子の同定・検索

われわれは消化器癌を対象として、環境中の発癌物質の代謝酵素遺伝子を含め、様々な癌関連遺伝子 (L-myc, NAT2, COMT, DH3, ALDH2, p53 など) の多型性検索に取り組んでいる。癌へのかかり易さを遺伝子多型の観点から予測できるようになれば、発癌のハイリスク群をより客観的に評価することが可能となり、将来発癌に対する予防策を講じる一助となることが期待される。

f. 放射線化学療法感受性・抵抗性遺伝子の検索

食道癌において放射線感受性の違いをもたらす遺伝子 Hepatoma derived growth factor (HDGF) をクローニングした (Matsuyama A, Cancer Res 2001)。本年度は乳癌について放射線耐性株を作成し DNA microarray を用いて放射線感受性・抵抗性規定遺伝子群を同定した。現在、これらの遺伝子を搭載した診断用マイクロアレイの作成中である。

B. 癌の遺伝子診断法の確立

a. 癌の微小転移の検出

病理診断で転移陰性のリンパ節に対し遺伝子診断 (CEA と MAGE 遺伝子の RT-PCR 法) を用い微小転移を検出してきた。n0 症例の術後再発予測に遺伝子診断が有用であった。また、乳癌細胞が最初に転移するセンチネルリンパ節を色素注入法 (活性炭 CH40) にて同定し、遺伝子診断を行っている (Kataoka A, Int J Oncol 2000)。

b. 術中迅速遺伝子診断法の開発

従来 6 時間以上かかっていた RT-PCR 法による微小転移診断を短縮し、術中に迅速に診断する方法を開発している。(1) 材料の迅速な処理法 (2) 迅速な RT 法の工夫 (3) リアルタイム PCR 法の導入などで、1 時間内外で処理出来るようになったが、より正確かつ迅速な実験法の工夫を開発中である。

C. 新しい治療法の開発

a. 腫瘍拒絶抗原を用いた癌特異的免疫療法

1. MAGE ペプチドと樹状細胞を用いた癌ペプチドワクチン療法

腫瘍拒絶抗原 MAGE ペプチドを用いた DC ワクチン療法を世界に先駆けて臨床応用し、進行再発消化器癌 13 症例に行ったところ副作用は全く認めず高い評価を受けている (Sadanaga N, Clin Cancer Res 2001)。治療効果については転移性肺癌の縮小、再発リンパ節の縮小した症例も認めた。DC ワクチンと IL-2 投与の併用により、効果的な抗原提示能をもった成熟樹状細胞の誘導を試みている。

2. 新規腫瘍拒絶抗原ペプチドの同定

MAGE-1, -2, -3, -4 遺伝子については治療に有効なペプチドを同定し、治療への応用段階にある。NY-ESO-1 についても消化器癌において MAGE と同程度の発現が認められることから、日本人に多い HLA-A24 拘束性 NY-ESO-1 ペプチド合成を行い、現在有効なペプチドの同定を試みている。

3. 効果的な DC・ペプチドワクチン療法の開発

担癌患者では免疫能が低下しているため、よりよい治療効果が望めない。Balb/c マウスの大腸癌担癌モデルを用いた解析の結果、担癌マウス由来の DC では健常マウス由来の DC に比較して機能低下していたが、OK-432 の投与により DC の抗原提示能の増強、腫瘍内 T リンパ球の増加を伴

う抗腫瘍効果が得られることがわかった (Mashino K, Mol Ther 2002)。よって、今後は DC ワクチン OK432 の併用を加えていきたい。

4. 新規腫瘍拒絶抗原の検討とペプチドワクチン療法対象症例の拡大

腫瘍拒絶抗原として最近報告された NY-ESO-1, LAGE-1, SSX, SCP-1 についてその消化器癌、乳癌組織における発現を解析したが、免疫染色によると heterogeneous な発現が観察され、複数抗原を標的とした治療の必要性が考えられた (Mashino K, Br J Cancer 2001)。さらに MAGE-1, -3 発現陰性症例に SCP-1 発現が比較的高率に認められペプチド・ワクチン療法の症例拡大の可能性が示唆された。

5. 胃癌における fractalkine の発現と腫瘍の進展の解明

癌免疫の主役であるリンパ球や NK 細胞の腫瘍内への浸潤は少ないことがわかっている。最近、CD8 陽性リンパ球や NK 細胞の遊走因子である fractalkine が同定された。fractalkine の発現を解析し、臨床的意義を検討すると同時に、fractalkine の遺伝子導入による免疫賦活の誘導を試みたい。

b. アデノウイルスベクターを用いた癌の遺伝子治療法の開発

1. Interferon- γ -inducing factor/IL-18 とアデノウイルスベクターを用いた抗腫瘍効果の機序の解析

IL-18 は免疫反応の急性期にマクロファージや樹状細胞 (DC) から分泌される。IL-18 を産生するアデノウイルスベクターを担癌マウスの腫瘍に直接投与することにより、発揮される抗腫瘍効果を明らかにし、さらに樹状細胞と同時投与することにより増強される抗腫瘍効果を解析する (Tanaka F, Cancer Res 2002)。

2. Fhit アデノウイルスベクターを用いた抗腫瘍効果 の機序の解析

Fhit は 3 番染色体 3p14.2 領域において高率に遺伝子異常を示す癌抑制遺伝子である。Fhit とアデノウイルスベクターを用いた臨床応用を目指して、遺伝子治療の実験を行っていきたいと考えている。

3. G protein $\gamma 7$ とアデノウイルスベクターを用いた抗腫瘍効果 の機序の解析

G protein $\gamma 7$ は各種消化器癌組織において発現の低下する遺伝子として当科において単離した。(Shibuta K, BBRC 1998) G protein $\gamma 7$ の遺伝子導入では p27 を介した G1/S 期の抑制を介して細胞増殖が抑制された。(Shibuta K, Cancer Res 1999, Utsunomiya T, Arch Surg 2002) 実際の治療を想定して Ad- G protein $\gamma 7$ の投与を行いその効果を検討する。

4. MAGE-3 を発現するアデノウイルス・ベクターを用いた新しい癌特異的免疫遺伝子治療の開発

当科では世界に先駆け MAGE ペプチドワクチン療法を臨床応用しているが、HLA タイプの適合しない患者には実施できない。そこで対象症例の拡大のため、MAGE 遺伝子ウイルスベクターを樹

状細胞に投与することで適応症例の拡大を計るための基礎的検討を行っている。

c. 3次元ネットワーク担体を用いた再生肝組織の構築

再生医療技術の進展はめざましいが、消化器特に肝臓の再生技術はまだまだ困難である。教室では肝・幹細胞を用いた再生肝の構築に3次元ネットワーク担体を応用した新しい再生技術の開発に取り組んでいる。

d. 再生医学の外科応用

肝臓以外の消化管あるいは乳腺の再生をめざし、アメリカ・マサチューセッツ工科大学トナー教授との共同研究をスタートさせた。

業績目録

原著論文

1. Mori M, Mimori K, Yoshikawa Y, Shibuta K, Utsunomiya T, Sadanaga N, Tanaka F, Matsuyama A, Inoue H, Sugimachi K. 2002
Analysis of the gene-expression profile regarding the progression of human gastric carcinoma.
Surgery 131(PT2): S39-S47
2. Morita M, Saeki H, Mori M, Kuwano H, Sugimachi K. 2002
Risk factors for esophageal cancer and the multiple occurrence of Carcinoma in the upper aerodigestive tract.
Surgery 131(PT2): S1-S6
3. Ikeda Y, Mori M, Shibahara K, Iwashita A, Haraguchi Y, Saku M. 2002
The role of adenoma for colorectal cancer development : Differences in the distribution of adenoma with low-gradedysplasia, high-grade dysplasia, and cancer that invades the submucosa.
Surgery 131(PT2): S105-S108
4. Ohno S, Sumiyoshi Y, Mori M, Sugimachi K. 2002
Hyperthermia for rectal cancer.
Surgery 131(PT2): S121-S127
5. Utsunomiya T, Inoue H, Taguchi K, Shimada M, Sugimachi K, Mori M. 2002
G-protein γ -7 expression as a new clinicopathological marker in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma.
Arch Surg 137: 181-185
6. Kuroki T, Trapasso F, Shiraishi T, Alder H, Mimori K, Mori M, Croce CM. 2002
Genetic alterations of the tumor suppressor gene WWOX in esophageal squamous cell carcinoma.
Cancer Res 62: 2258-2260
7. Mashino K, Sadanaga N, Yamaguchi H, Tanaka F, Ohta M, Shibuta K, Inoue H, Mori M. 2002
Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma.
Cancer Res 62: 2937-2941
8. Masuda T, Inoue H, Sonoda H, Mine S, Yoshikawa Y, Nakayama K, Nakayama K, Mori M. 2002

- Clinical and biological significance of S-phase kinase-associated protein 2 (Skp2) gene expression in gastric carcinoma : Modulation of malignant phenotype by Skp2 overexpression, possibly via p27 proteolysis.
Cancer Res 62: 3819-3825
9. Mimori K, Matsuyama A, Yoshinaga K, Yamashita K, Masuda T, Inoue H, Ueo H, Mori M. 2002
 Localization of thymidine phosphorylase expression in colorectal carcinoma tissues by in situ RT-PCR assay.
Oncology 62: 327-332
 10. Shibuta K, Mori M, Shimoda K, Inoue H, Mitra P, Barnard GF. 2002
 Regional expression of CXCL12/CXCR4 in liver and hepatocellular carcinoma and cell-cycle variation during in vitro differentiation.
Jpn J Cancer Res 93: 789-797
 11. Utsunomiya T, Hara Y, Kataoka A, Morita M, Arakawa H, Mori M, Nishimura S. 2002
 Cystatin-like metastasis-associated protein mRNA expression in human colorectal cancer is associated with both liver metastasis and the patient survival.
Clin Cancer Res 8: 2591-2594
 12. Sasaki S, Nakamura T, Arakawa H, Mori M, Watanabe T, Nagawa H, Croce CM. 2002
 Isolation and characterization of a novel gene, hRFI, preferentially expressed in esophageal cancer.
Oncogene 21: 5024-5030
 13. Mashino K, Sadanaga N, Tanaka F, Ohta M, Yamaguchi H, Mori M. 2002
 Effective strategy of Dendritic cell-based immunotherapy for advanced tumor-bearing hosts: the Critical role of th1-dominant immunity.
Mol Cancer Ther 1: 785-794
 14. Tanaka F, Yamaguchi H, Ohta M, Mashino K, Sonoda H, Sadanaga N, Inoue H, Mori M. 2002
 Intratumoral injection of dendritic cells after treatment of anticancer drugs induces tumor-specific antitumor effect in vivo.
Int J Cancer 101: 265-269
 15. Mimori K, Inoue H, Shiraishi T, Ueo H, Mafune K, Tanaka Y, Mori M. 2002
 A single-nucleotide polymorphism of SMARCB1 in human breast cancers.
Genomics 80(3): 254-258
 16. Inoue H, Matsuyama A, Mimori K, Ueo H, Mori M. 2002
 Prognostic score of gastric cancer determined by cDNA microarray.
Clin Cancer Res 8: 3475-3479
 17. Yamashita K, Upadhyay S, Osada M, Hoque MO, Xiao Y, Mori M, Sato F, Meltzer SJ, Sidransky D. 2002
 Pharmacologic unmasking of epigenetically silenced tumor suppressor genes in esophageal squamous cell carcinoma.
Cancer Cell 2: 485-495
 18. Ikeda Y, Akagi K, Kinoshita J, Abe T, Miyazaki M, Mori M, Sugimachi K. 2002
 Different distribution of Dukes' stage between proximal and distal colorectal cancer.
Hepato-Gastroenterol 49(48): 1535-1537
 19. Tanaka F, Hasimoto W, Robbins PD, Lotze MT, Tahara H. 2002
 Therapeutic and specific antitumor immunity induced by co-administration of immature dendritic cells and adenoviral vector expressing biological active IL-18.
Gene Ther 9: 1480-86
 20. Lotze MT, Mailliard RB, Tanaka F, Tahara H, Storkus WJ, Kalinski P. 2002
 DC-activating function of cytokines [IL-12, IL-18], T cells and NK cells in the development of antitumor responses.

- Clin Immunol. 103: 314
21. Yoshinaga K, Mimori K, Yamashita K, Utsunomiya T, Inoue H, Mori M. 2003
Clinical significance of the expression of activin A in esophageal carcinoma.
Int J Oncol 22: 75-80
 22. Mimori K, Inoue H, Ishii H, Mori M. 2003
INI-1, a partner gene of ALL-1, is highly conserved in human acute leukemia.
Oncology Rep 10: 551-553
 23. Mimori K, Inoue H, Shiraishi T, Matsuyama A, Mafune K, Tanaka Y, Mori M. 2003.
Microsatellite instability is often observed in esophageal carcinoma patients with allelic loss in the FHIT/FRA3B locus.
Oncology 64: 275-279
 24. Kuroki T, Trapasso F, Yendamuri S, Matsuyama A, Alder H, Mori M, and Croce CM:
Promoter hypermethylation of RASSF1A in esophageal squamous cell carcinoma.
Clin Cancer Res(inpress)
 25. Hashimoto W, Tanaka F, Robbins PD, Taniguchi M, Okamura H, Lotze MT, Tahara H. 2003
NK but not NKT cells play a necessary role to promote an innate antitumor Response induced by IL-18.
Int J Cancer 103: 508-13

総説

1. 定永倫明、片岡明美、増田隆明、森 正樹:
乳癌に対するナビゲーションサージェリー.
臨床外科 57(1): 53-58, 2002
2. 松山 歩、三森功士、井上 裕、森 正樹:
DNA マイクロアレイによる消化器癌の解析.
ゲノム医学 2(1): 53-59, 2002
3. 増田隆明、山下継史、森 正樹:
癌の浸潤・転移のメカニズム ～臨床研究から基礎研究へ～.
消化器外科 25(2): 229-236, 2002
4. 松山 歩、森 正樹:
癌の個性診断と個別化医療への展開.
消化器外科 25(3): 377-385, 2002
5. 森 正樹、定永倫明:
樹状細胞.
医学のあゆみ 200(13): 1171-1172, 2002
6. 上尾裕昭、白坂千秋、森 正樹、定永倫明:
乳房温存療法.
臨床と研究 79(3): 399-402, 2002
7. 松山 歩、白石 猛、森 正樹:
遺伝子発現異常とがん.
診断と治療 90(3): 453-460, 2002
8. 吉永敬士、森 正樹:

- 癌組織から癌細胞の解析へ.
消化器外科 25: 495-501, 2002
9. 洪田健二、森 正樹:
一塩基多型情報と癌治療(癌の薬剤感受性、ホストの感受性).
Surgery Frontier 9(2): 118-123, 2002
10. 山口博志、森 正樹:
癌研究におけるアポトーシスの意義.
消化器外科 25(5): 543-649, 2002
11. 森 正樹:
分子腫瘍学分野の研究.
福岡医学会雑誌 93(4): 111-112, 2002
12. 増野浩二郎、定永倫明、森 正樹、:
樹状細胞を用いた癌免疫治療.
消化器外科 25(6): 767-775, 2002
13. 三森功士、森 正樹:
大腸癌.
日本外科学会雑誌 103(6): 468-471, 2002
14. 三森功士、森 正樹:
大腸発癌—分子生物学的立場から—.
カレントセラピー 20(7): 43-47(709-713), 2002
15. 田中文明、森 正樹:
分子生物学応用としての癌に対する遺伝子治療 ; 基本原理とその応用.
消化器外科 25(8): 1339-1345, 2002
16. 園田英人、宇都宮 徹、森 正樹:
分子生物学的にみた鏡視下手術.
消化器外科 25: 1461-1467, 2002
17. 井上 裕、宇都宮 徹、森 正樹:
再生医学.
消化器外科 25: 1605-1611, 2002
18. 井上 裕、森 正樹:
DNA マイクロアレイによる癌の遺伝子解析.
大分県医学会雑誌 20(1): 1-2, 2002
19. 田中真二、森 正樹:
分子機序に基づく癌の治療戦略.
ゲノム医学 2(5): 465-470(25-30), 2002
20. 森 正樹:
Southern blotting..

- 外科 64(12): 1413, 2002
21. 白石 猛、森 正樹:
マイクロアレイ.
外科 64(12): 1587, 2002
 22. 森 正樹:
リンパ節転移.
外科 64(12): 1601, 2002
 23. 宇都宮 徹、森 正樹:
コンピューター支援外科学の展開.
Cancer Frontier 4: 114-117, 2002/2003
 24. 田中文明、山口博志、太田光彦、井上 裕、森 正樹:
抗癌剤全身投与と樹状細胞局注による癌特異的免疫化学療法
—マウス大腸癌を用いた基礎的研究とヒトへの応用の展開の可能性—.
Biotherapy 17(1): 9-14, 2003
 25. 太田光彦、三森功士、岸原文明、井上 裕、森 正樹:
胃癌の生物学的悪性度に関する最新の知見.
胃と腸 38(1): 95-106, 2003
 26. Omata M, Mori M:
Study of hepatobiliary disease in the postgenome sequencing era.
J Gastroenterol 38(15): 67, 2003

著書

1. 森 正樹、吉永敬士. 2002
消化器癌における微量(微量)転移の診断とその意義
Frontiers in Gastroenterology 71: 68-74
2. 三森功士、定永倫明、増田隆明、片岡明美、大野真司、上尾裕昭、森 正樹. 2002
乳癌の微小転移診断法
臨床と研究 793: 384-388

学会発表

1. 吉永敬士、松山 歩、山下継史、三森功士、田中文明、定永倫明、宇都宮 徹、渋田健二、井上 裕、森 正樹
2002.3.8
チミジンホスホリラーゼ(TP)導入株の遺伝子発現プロファイルの作成と関連遺伝子の発現検討
第35回抗癌剤適応研究会, 名古屋
2. 原口直紹、定永倫明、石川健二、増野浩二郎、松山 歩、田中文明、三森功士、渋田健二、宇都宮 徹、井上 裕、森 正樹、島中正光、吉河康二 2002.3.9
下大静脈再建により切除可能となった下大静脈原発平滑筋肉腫の一例

第 165 回大分県外科医会例会, 大分

3. 三森功士,井上 裕,山下継史,山口博志,白石 猛,上尾裕昭,森 正樹 2002.4.11
大腸癌における MMP-7 の肝転移機構への関与
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
4. 増野浩二郎,定永倫明,田中文明,山口博志,太田光彦,園田英人,森 正樹 2002.4.11
ケモカインレセプターCCR7 は胃癌リンパ節転移に関与する
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
5. 増田隆明,山下継史,峯 真司,園田英人,吉永敬士,渋田健二,宇都宮徹,上尾裕昭,井上 裕,森 正樹
2002.4.11
胃癌における Skp2(S phase kinase-associated protein 2)の発現解析とその
臨床的意義
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
6. 吉永敬士,山下継史,松山 歩,園田英人,峯 真司,三森功士,森 正樹 2002.4.11
食道癌悪性度に関与するアクチビン A 遺伝子により制御される遺伝子群の解析
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
7. 山口博志,定永倫明,太田光彦,増野浩二郎,長嶋秀樹,田中文明,井上 裕,森 正樹 2002.4.11
癌に対する BRM 療法の有効症例選択法の確立~cDNA Microarray 法による包括的遺伝子発現
検索~
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
8. 定永倫明,松山 歩,井上 裕,増田隆明,田中 洋一,森 正樹 2002.4.12
食道癌における放射線感受性規定因子の検索-放射線療法適応基準の設定を目指して-
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
9. 原口直紹,吉永敬士,三森功士,宇都宮徹,渋田健二,井上 裕,森 正樹 2002.4.12
チミジンホスホリラーゼ(TP)導入株における遺伝子発現プロファイルと関連遺伝子の発現検
討
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
10. 石川健二,三森功士,山下継史,増田隆明,白石 猛,長嶋秀樹,森 正樹 2002.4.12
癌細胞のみを対象とした DNA マイクロアレイ解析による胃癌進展関連遺伝子の検索
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
11. 大野真司,片岡明美,木下句子,村上 茂,増田隆明,定永倫明,森 正樹 2002.4.12
RT-PCR 法による微小転移診断(センチネルリンパ節・骨髄・末梢血)の乳癌治療への応用
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
12. 井上 裕 2002.4.12
laser microdissection 法を用いた消化器癌の遺伝子発現解析
第 4 回遺伝子発現情報研究会, 京都
13. 井上 裕,三森功士,吉永敬士,松山 歩,渋田健二,宇都宮 徹,森 正樹 2002.4.13
DNA マイクロアレイ解析と LCM 法による胃癌術前病期診断法の開発

第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都

14. 宇都宮 徹,増田隆明,峯 真司,片岡明美,山下継史,井上 裕,森 正樹 2002.4.13
肝内胆管癌におけるケモカインレセプターCCR7 の発現解析と術中迅速遺伝子診断法への応用
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
15. 田中文明,増野浩二郎,山口博志,太田光彦,定永倫明,渋谷健二,森 正樹 2002.4.13
低濃度抗癌剤と樹状細胞の腫瘍内局注の併用による画期的な癌特異的免疫化学療法の開発
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
16. 園田英人,井上 裕,峯 真司,増田隆明,狩峰信也,白石 猛,森 正樹 2002.4.13
FHIT を用いた遺伝子治療への展開を目指して(FHIT 関連遺伝子の包括的解析)
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
17. 峯 真司,山下継史,増田隆明,園田英人,吉永敬士,田中文明,三森功士,渋谷健二,南原 繁,宇田川晴司,森 正樹 2002.4.13
大腸癌におけるユビキチンリガーゼ Skp2 の発現とその意義
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
18. 太田光彦,増野浩二郎,定永倫明,山口博志,田中文明,森 正樹 2002.4.13
樹状細胞を用いた癌免疫細胞療法のさらなる効果増強をめざして
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
19. 山下継史,三森功士,園田英人,峯 真司,安部良二,井上 裕,森 正樹 2002.4.13
大腸癌における癌抑制遺伝子 FHIT の変異機序と予後予測因子としての意義
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
20. 長嶋秀樹,太田光彦,定永倫明,山口博志,宇都宮徹,渋谷健二,井上 裕,嶺 博之,森 正樹 2002.4.13
大腸癌における Fractalkine の発現の臨床的意義
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
21. 渋谷健二,三森功士,田中文明,定永倫明,武内秀也,上尾裕昭,森 正樹 2002.4.13
食道癌における癌抑制遺伝子 FHIT 変異と修復酵素異常との関係
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
22. 松山 歩,定永倫明,増野浩二郎,太田光彦,山口博志,田中文明,宇都宮徹,武内秀也,森 正樹 2002.4.13
樹状細胞と腫瘍抗原ペプチドを用いた癌ワクチン療法のさらなる効果増強への戦略
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
23. 片岡明美,木下旬子,村上 茂,大野真司,上尾裕昭,増田隆明,定永倫明,森 正樹 2002.4.13
乳癌センチネルリンパ節(SLN)の微小転移診断の臨床的意義と術中診断への応用
第 102 回日本外科学会定期学術集会, 京都
24. 太田光彦,定永倫明,田中文明,増野浩二郎,山口博志,井上 裕,森 正樹 2002.5.31
消化器癌における TRAG-3 発現とその意義

第 39 回九州外科学会, 沖縄

25. 増田隆明,三森功士,井上 裕,森 正樹 2002.5.31
消化器癌における微小転移検出のための至適マーカーの検討
第 39 回九州外科学会, 沖縄
26. 増田隆明,峯 真司,園田英人,井上 裕,森 正樹 2002.6.6
胃癌における Skp2(S pase kinase-assosiated protein 2)の発現と悪性度との関連
第 11 回日本がん転移学会総会, 東京
27. 三森功士,松山歩,田中文明,定永倫明,宇都宮 徹,渋谷健二,井上 裕,森 正樹 2002.6.6
レーザーマイクロダイセクションと DNA マイクロアレイ併用による胃癌転移機構の解明
第 11 回日本がん転移学会総会, 東京
28. 田中文明,増野浩二郎,山口博志,太田光彦,定永倫明,森 正樹 2002.6.7
抗ガン剤全身投与と樹状細胞局注による癌特異的免疫化学療法 : マウス大腸癌を用いた基礎的研究とヒトへの応用の展開の可能性
第 23 回癌免疫外科研究会, 東京
29. 増野浩二郎,定永倫明,太田光彦,山口博志,田中文明,森 正樹 2002.6.7
乳癌細胞における MAGE-3 発現と増殖能の検討
第 23 回癌免疫外科研究会, 東京
30. 相良安昭,竹中朋祐,岡本正博,増野浩二郎,白石 猛,三森功士,田中文明,岸原文明,宇都宮徹,井上 裕,森 正樹 2002.6.8
転移性乳癌に対するハーセプチン・タキソールへ医療療法の経験
大分県外科医会 第 166 回例会, 大分
31. 定永倫明,増野浩二郎,太田光彦,山口博志,田中文明,井上 裕,森 正樹 2002.6.8
胃癌リンパ節転移の分子機構における chemokaine receptor CCR7 の関与
第 23 回癌免疫外科研究会, 東京
32. 太田光彦,定永倫明,田中文明,増野浩二郎,山口博志,井上 裕,森 正樹 2002.6.8
消化器外科における TRA-3 発現とその意義
第 23 回癌免疫外科研究会, 東京
33. 山口博志,田中文明,太田光彦,増野浩二郎,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.6.18
CD 発現胃癌におけるアポトーシス抵抗性獲得とその臨床的意義
第 11 回日本癌病態治療研究会, 東京
34. 三森功士,片岡明美,増田隆明,増野浩二郎,定永倫明,井上 裕,森 正樹 2002.6.28
乳癌のセンチネルリンパ節に注目した微量癌細胞検出の臨床的意義とリンパ節転移の基礎的検討
第 26 回日本リンパ学会総会, 大分
35. 吉永敬士,園田英人,増田隆明,三森功士,田中文明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.6.28
分化誘導因子アクチビンにて発現が変化する遺伝子群の包括的検索と発現変化の意義
第 56 回日本食道疾患研究会, 広島

36. 増田隆明,吉永敬士,園田英人,井上 裕,森 正樹 2002.6.28
細胞接着因子 N-cadherin の食道癌における発現検討とその意義
第 56 回日本食道疾患研究会, 広島
37. 大野真司,木下旬子,片岡明美,村上 茂,増田隆明,定永倫明,三森功士,森 正樹 2002.7.6
微小転移診断(センチネルリンパ節・骨髄)の乳癌治療への応用
第 10 回日本乳癌学会総会, 名古屋
38. 片岡明美,木下旬子,村上 茂,大野真司,増田隆明,三森功士,定永倫明,森 正樹,上尾裕 2002.7.6
Clinical significance of detection of micrometastasis in sentinel nodes
(SN)
第 10 回日本乳癌学会総会, 名古屋
39. 白石 猛,三森功士,井上 裕,松山 歩,森 正樹 2002.7.13
ヒト(FRA3B/FHIT)とマウス(Fra14A2/FHIT)の塩基配列比較による,染色体脆弱生の解析
第 5 回九州大学生体防御医学研究所 リトリート, 熊本・九重
40. 園田英人,吉永敬士,太田光彦,増野浩二郎,田中文明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.7.13
鏡視下と開腹手術の悪性腫瘍に及ぼす影響の検討
第 5 回九州大学生体防御医学研究所 リトリート, 熊本・九重
41. 吉永敬士,白石猛,三森功士,田中文明,岸原文明,宇都宮 徹,井上 裕,森正 樹 2002.7.13
食道癌悪性度に関与するアクチビン A により制御される遺伝子群の解析
第 5 回九州大学生体防御医学研究所 リトリート, 熊本・九重
42. 山口博志,田中文明,太田光彦,増野浩二郎,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.7.13
胃癌における CD40 の発現とその生物学的意義
第 5 回九州大学生体防御医学研究所 リトリート, 熊本・九重
43. 増田隆明,峯 真司,園田英人,井上 裕,森 正樹 2002.7.13
胃癌における Skp2 (S phase kinase-associated protein 2)の発現と悪性度との関連
第 5 回九州大学生体防御医学研究所 リトリート, 熊本・九重
44. 太田光彦,定永倫明,田中文明,増野浩二郎,山口博志,井上 裕,森 正樹 2002.7.13
消化器癌における TRAG-3 発現とその意義
第 5 回九州大学生体防御医学研究所 リトリート, 熊本・九重
45. 園田英人,吉永敬士,増田隆明,田中文明,三森功士,定永倫明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹
2002.7.28
細胞接着因子 N-cadherin の食道癌における発現検討とその意義
第 57 回日本消化器外科学会総会, 京都
46. 太田光彦,定永倫明,田中文明,増野浩二郎,山口博志,井上 裕,森 正樹 2002.7.28
消化器癌における TRAG-3 発現とその意義
第 57 回日本消化器外科学会総会, 京都
47. 三森功士,山下継史,増野浩二郎,松山歩,田中文明,定永倫明,渋田健二,宇都宮 徹,井上 裕,森 正
樹 2002.7.29

胃癌転移関連遺伝子の同定と MMP7 の多様性機能の解析

第 57 回日本消化器外科学会総会, 京都

48. 田中文明,増野浩二郎,山口博志,太田光彦,定永倫明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.7.29
一歩進んだ大腸癌特異的抗腫瘍免疫効果の誘導: 低濃度抗癌剤と樹状細胞細胞内投与
第 57 回日本消化器外科学会総会, 京都
49. 井上裕,三森功士,吉永敬士,宇都宮徹,定永倫明,田中文明,森 正樹 2002.7.30
消化器癌の遺伝子発現プロファイルと生検遺伝子診断の可能性
第 57 回日本消化器外科学会総会, 京都
50. 園田英人,吉永敬士,増田隆明,田中文明,三森功士,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.9.5
細胞接着因子 N-cadherin の食道癌における発現検討とその意義
第 13 回日本消化器癌発生学会総会, 大阪
51. 増田隆明,井上 裕,園田英人,峯 真司,森 正樹 2002.9.5
胃癌における p27 制御因子 Skp2(S phase kinase-associated protein 2)の発現解析と悪制度との関連
第 13 回日本消化器癌発生学会総会, 大阪
52. 井上 裕,吉永 敬士,増田 隆明,三森 功士,宇都宮 徹,森 正樹 2002.10.1
DNA マイクロアレイ解析と LCM 法による消化器癌遺伝子診断法の開発—生検標本による遺伝子プロファイリングの妥当性の検討—
第 61 回日本癌学会総会, 東京
53. 宇都宮 徹,増野 浩二郎,白石 猛,三森 功士,田中 文明,岸原 文明,井上 裕,森 正樹 2002.10.1
肝内胆管癌におけるケモカインレセプター CCR7 発現の臨床病理学的意義
第 61 回日本癌学会総会, 東京
54. 吉永 敬士,園田 英人,増田 隆明,三森 功士,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.10.1
食道癌悪性度に関与するアクチビン A 遺伝子により制御される遺伝子群の解析
第 61 回日本癌学会総会, 東京
55. 増田 隆明,西田 康二郎,井上 裕,森 正樹 2002.10.1
胃癌における Cks1 の発現とその意義
第 61 回日本癌学会総会, 東京
56. 田中 文明,増野 浩二郎,山口 博志,太田 光彦,井上 裕,森 正樹 2002.10.2
樹状細胞の癌局所投与を用いた新しい腫瘍特異的免疫化学療法の開発
第 61 回日本癌学会総会, 東京
57. 山口 博志,田中 文明,太田 光彦,増野 浩二郎,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.10.1
胃癌における CD40 の発現とその生物学的意義
第 61 回日本癌学会総会, 東京
58. 三森 功士,白石 猛,石井 秀始,松山 歩,井上 裕,森 正樹 2002.10.2
食道癌における癌抑制遺伝子 FHIT の発現とゲノムレベルの変異および FHIT の遺伝子治療への応用

第 61 回日本癌学会総会, 東京

59. 白石 猛,三森 功士,井上 裕,松山 歩,森 正樹 2002.10.2
ヒト(FRA3B/FHIT)とマウス(Fra14A2/Fhit)の塩基配列比較による,染色体脆弱性の解析
第 61 回日本癌学会総会, 東京
60. 園田 英人,増田 隆明,吉永 敬士,田中 文明,三森 功士,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.10.1
ユビキチンリガーゼ SCFSkp2 の乳癌臨床検体における発現の検討
第 61 回日本癌学会総会, 東京
61. 太田 光彦,田中 文明,山口 博志,増野 浩二郎,三森 功士,井上 裕,森 正樹 2002.10.3
大腸癌における Fractalkine の発現の臨床的意義
第 61 回日本癌学会総会, 東京
62. 三森功士,白石 猛,石井秀始,井上 裕,森 正樹 2002.10.5
大腸癌における癌抑制遺伝子 FHIT の臨床的意義と変異機序および FHIT による遺伝子治療について
第 57 回日本大腸肛門病学会総会, 横浜
63. 岡本正博,山下継史,三森功士,白石 猛,田中文明,岸原文明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹
2002.10.4
大腸癌の進展過程における MMP-7 の様々な役割
第 57 回日本大腸肛門病学会総会, 横浜
64. 太田光彦,定永倫明,田中文明,増野浩二郎,山口博志,井上 裕,森 正樹 2002.10.11
新規 cancer-testis antigen である TRAG-3 の食道癌における発現とその意義
第 55 回日本胸部外科学会総会, 福岡
65. 吉永敬士,三森功士,田中文明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2002.10.11
分化誘導因子アクチビンの食道癌における発現とその意義の検討
第 55 回日本胸部外科学会総会, 福岡
66. 山口博志,田中文明,太田光彦,増野浩二郎,白石 猛,三森功士,岸原文明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹
2002.10.11
樹状細胞と MAGE-3 ペプチドを用いた癌ワクチン療法の効果増強への試み
第 55 回日本胸部外科学会総会, 福岡
67. 太田光彦,田中文明,山口博志,増野浩二郎,三森功士,井上 裕,森 正樹 2002.11.7
大腸癌における Fractalkine の発現の臨床的意義
第 15 回日本バイオセラピー学会学術集会, 札幌
68. 山口博志,田中文明,太田光彦,増野浩二郎,井上 裕,森 正樹 2002.11.7
DC40 発現胃癌におけるアポトシス抵抗性とその臨床的意義
第 15 回日本バイオセラピー学会学術集会, 札幌
69. 田中文明,山口博志,太田光彦,増野浩二郎,井上 裕,森正 樹 2002.11.8
抗癌剤全身投与と,樹状細胞腫瘍局注の併用による癌特異的免疫化学療法の開発
第 15 回日本バイオセラピー学会学術集会, 札幌

70. 田中文明,定永倫明,増野浩二郎,白石 猛,三森功士,岸原文明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹
2002.11.15
MAGE ペプチドと樹状細胞を用いた進行食道癌に対する治療効果の検討
第 64 回日本臨床外科学会総会, 東京
71. 三森功士,山下継史,吉永敬士,園田英人,岡本正博,白石 猛,田中文明,岸原文明,宇都宮 徹,井上裕,
森 正樹 2003.2.8
胃癌の浸潤転移における MMP7 の役割と治療標的としての意義
第 75 回日本胃癌学会総会, 東京
72. 増田隆明,田中文明,宇都宮 徹,井上 裕,森 正樹 2003.2.8
AFP 悪制度との関連と AFP を標的とした癌免疫治療の可能性
第 75 回日本胃癌学会総会, 東京
73. Utsunomiya T, Shiraishi T, Tanaka F, Mimori K, Kishihara K, Inoue H, Mori M. 2002.10.12
Delta-5-desaturase mRNA expression as a new clinicopathological marker
in patients with colorectal cancer.
7th World Congress on Advanced in Oncology and 5th International
Symposium on MolecularMedicine, Greece
74. 宇都宮 徹,岡本正博,吉永敬士,松山歩,井上 裕,森 正樹 2003.3.11
マウス肝切除モデルにおける肝再生関連遺伝子の包括的解析
第 2 回日本再生医療学会, 神戸

老化制御学分野

Division of Molecular and Clinical Gerontology

当部門の臨床分野は循環器疾患・呼吸器疾患を主に診療している。研究分野は循環器病に関する研究が中心である。動脈硬化の研究では、大腿動脈結紮モデルを用い、下肢筋肉に抗サイトカイン遺伝子を導入し、血管新生の研究を *in vivo* で行っている。また、冠動脈再狭窄モデルとしてラット頸動脈の狭窄モデルを作成し、内膜肥厚に対する抗サイトカイン遺伝子治療を試みている。一方、心筋梗塞モデルを用いて、遺伝子治療により梗塞サイズの縮小効果を確認した。細胞内情報伝達系に関する実験では、心不全モデルを用い、心肥大から、収縮不全に至る過程での細胞内情報伝達系の解明、また、ダール心不全ラットにおけるアンギオテンシン変換酵素阻害薬の効果、更には心筋細胞肥大における受容体活性化 Ca^{2+} チャネル Transient Receptor Potential 蛋白質の役割などの研究を行っている。また、心筋線維化などの心筋再構築について細胞外基質蛋白の遺伝子発現と形態的変化の関係についての検討も行っている。現時点では急速に進歩しつつある遺伝子療法のための基礎研究を積み重ねていて、遺伝子治療の有効性を確認したものもある。近い将来、生活習慣病を基盤に持つ循環器疾患に遺伝子治療が応用可能になると確信している。

臨床的研究では心不全患者の末梢リンパ球サイトカイン産生能を Flow Cytometr 法で検討し、心不全の発症・進展に関与している可能性を示唆している。また、更年期障害の病態解明のため、ホルモン補充療法を行っている患者の動脈硬化の進展について検索中である。

人事面では、2002年6月に九州大学循環器内科より末松延裕が助手として赴任した。9月には慢性疾患診療部の小柳雅孔助手がドイツ・フランクフルト大学へ留学したため、替わりに米国ハーバード大学から尾山純一が同部の助手として赴任した。

基礎的研究

A. 動脈硬化の成因・治療に関する研究

a. サイトカインと血管

TNF に拮抗する soluble TNF receptor 1 の遺伝子を内皮細胞に導入することにより、内皮細胞の増殖が促進され、また、酸化 LDL に対して抵抗性を示す事を見いだした。即ち、*in vivo* の研究において、soluble TNF receptor 1 に血管新生の可能性があることが明らかになった。その後、ラット下肢虚血モデルを用いて、soluble TNF receptor 1 の遺伝子を下肢筋肉に注射し、*in vivo* における血管新生の効果も明らかにした。また、TNF が内皮増殖に関与している可能性が報告されているので、現在、ラット頸動脈結紮モデルを用い、超音波にて、soluble TNF receptor 1 の遺伝子を血管に導入し、soluble TNF receptor 1 に血管リモデリングに対する効果を検討中である。その他、血管新生に関する、VEGF、HGF のレセプターが、チロシンリン酸化されることにより活性化されるため、現在、抗チロシンフォスファターゼによる *in vivo* における血管新生の効果も検討中である。これらの結果は、将来の虚血性血管病の遺伝子治療に役立つものと考えられる。

B. 心不全の成因・治療に関する研究

a. 心筋梗塞におけるサイトカインの影響

心筋梗塞において TNF の増加がみられ、心筋のアポトーシスを起こし心筋梗塞の程度の要因になっていることが知られている。Soluble TNF receptors は TNF に拮抗するため、soluble TNF receptor 1 の遺伝子をラットの心筋梗塞モデルに導入することにより、心筋梗塞の梗塞範囲が減少することを明らかにした。また、ラットの虚血再環流モデルを用いて、soluble TNF receptor 1 の遺伝子を導入し、同様の効果を見た。現在、soluble TNF receptor 1 の慢性心筋梗塞に対する、梗塞サイズ、心機能への影響を検討している。これらの結果は、将来の心筋梗塞の遺伝子治療に役立つものと考えられる。

b. 心筋肥大から心不全に至る細胞内情報伝達機構の解析 ((高血圧性心肥大→心不全における RhoA - Rho kinase の関与)

培養細胞、心不全動物モデルを用いて、心筋細胞肥大のシグナル伝達解析を細胞レベル〜個体レベルで行っている。食塩感受性高血圧ラット (ダールラット) は長期食塩負荷により心肥大→心不全を発症するが、Rho kinase の選択的阻害薬 Y-27632 を長期投与すると心肥大及び心機能の低下が抑制され、結果として心不全の発症が予防された。心筋肥大・心機能低下を誘導する細胞内シグナル伝達系の一部にアンギオテンシン II→GTP 結合蛋白質→RhoA - Rho kinase の経路が関与している可能性を明らかにした[論文発表済]。

c. 高血圧性心不全におけるアンギオテンシン変換酵素阻害薬の効果

ダール心不全ラットにアンギオテンシン変換酵素阻害薬を長期投与すると心肥大・心筋リモデリングが抑制され、心不全発症が抑制されるが、その細胞内機序は十分解明されていなかった。我々は、筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase 活性調節蛋白質である phospholamban のリン酸化が不全心筋で低下しており、アンギオテンシン変換酵素阻害薬はこのリン酸化を正常化することにより筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能を回復させ、心機能を保持している可能性を明らかにした[論文 conditionally accepted]。

d. 心筋細胞肥大における受容体活性化 Ca^{2+} チャネル TRP 蛋白質の役割

Transient Receptor Potential (TRP) 蛋白質はアゴニスト - GTP 結合蛋白質刺激により活性化される Ca^{2+} チャネルとして報告されており、心筋細胞にも発現しているがその機能は不明である。我々はダール高血圧ラット心筋において TRP7 mRNA の発現が亢進していることを見だし、TRP7 がアンギオテンシン II→GTP 結合蛋白質→心肥大のシグナル伝達に関与しているという仮説を立てた。現在、ラット培養心筋細胞に TRP7 遺伝子を過剰発現させ、TRP7 の機能を形態学的・生理学的・分子生物学的面から解析する実験を進めている[増殖分化制御学分野 住本教授との共同研究]。

C. 心筋再構築に関する基礎的研究

a. 低酸素負荷における心筋梗塞期の Matrix Metalloproteinase (MMP) の役割

心筋梗塞では梗塞部の心筋線維化と非梗塞部の代償的肥大が観察されるが、この再構築における細胞間質の変化を分子遺伝学的に研究している。線維芽細胞や心筋細胞から分泌される MMP ファミ

リーとそれの内因性阻害酵素の TIMP ファミリーがどのような関係にあるのか、また、どのような遺伝子制御を受けているか研究をおこなっている。更には、種々のサイトカインや増殖因子との関わりについて検討している。心筋線維化の分子機構と形態の関係や更には機能との関係が明らかになれば、最も効率のよい再構築の心筋に導き出す事は出来ないか研究中である。また、血管新生と MMP ファミリーとは深く関係していることも知られていることから、心筋梗塞に伴う副血行路の発達の分子制御について研究を行う予定である。

臨床的研究

A. 心不全患者の末梢リンパ球サイトカイン産生能

心不全患者の血漿中炎症性サイトカイン濃度は上昇しており、これが心不全の発症・進展に関与している可能性が示唆されている。炎症性サイトカインは不全心筋自体での産生が亢進していることが報告されているが、末梢リンパ球の役割については不明であった。我々は Flow Cytometry を用いて末梢リンパ球のサブセット解析及び炎症性サイトカイン (TNF- α , IFN- γ) 産生能を測定している。現在までに、心不全患者で CD4/CD8 ratio の上昇、CD4 陽性リンパ球での TNF- α 産生能及び CD3 陽性細胞での IFN- γ 亢進が見られ、これらは血漿中 TNF- α 濃度及び心不全の重症度と相関していた。リンパ球の機能異常が心不全の病態に関与している可能性が強く示唆される[論文準備中]。今後、治療(例：運動療法)効果判定のマーカーとして有用かどうかを検証していく予定である。

B. ホルモン補充療法と動脈硬化への反応

生殖生理内分泌部門と共同研究として、更年期障害患者でホルモン補充療法を行っている患者の動脈硬化に及ぼす効果について研究を行っている。特に、血清脂質、抗酸化能などの変化について研究中である。

業績目録

原著論文

1. M. Sugano, K. Tsuchida, H. Tomita, N. Makino. 2002.
Increased proliferation of endothelial cells with overexpression of soluble TNF- receptor I gene.
Atherosclerosis. 162, 77-84.
2. M. Sugano, K. Tsuchida, N. Makino. 2002.
Nifedipine prevents apoptosis of endothelial cells induced by oxidized LDL.
J. Cardiovasc Pharmacol. 40, 146-152.
3. M. Sugano, M. Koyanagi, K. Tsuchida, T. Hata, N. Makino. 2002.
In vivo gene transfer of soluble TNF-alpha receptor 1 alleviates myocardial infarction.
FASEB J. 16, 1421-1422.
4. N. Suematsu, S. Satoh, Y. Ueda, N. Makino. 2002.

- Effects of calmodulin and okadaic acid on myofibrillar Ca²⁺ sensitivity in cardiac myocytes.
Basic Res Cardiol 97, 137-144.
5. S. Satoh, N. Suematsu, Y. Ueda, H. Tsutsui, K. Egashira, A. Takeshita, N. Makino. 2002.
Post- α_1 -receptor impairment in the regulation of myofibrillar Ca²⁺ sensitivity in tachypacing-induced canine failing heart.
J Cardiovasc Pharmacol 39, 88-97.
 6. T. Tagawa, Y. Hirooka, H. Shimokawa, K. Hironaga, K. Sakai, J. Oyama, A. Takeshita. 2002.
Long-term treatment with eicosapentaenoic acid improves exercised-induced vasodilatation in patients with coronary artery disease.
Hypertension Res. 25, 823-829.
 7. YY. Li, T. Kadokami, P. Wang, CF. McTiernan, AM. Feldman. 2002.
MMP inhibition modulates TNF α transgenic mouse phenotype early in the development of heart failure.
Am J Physiol (Heart Circ Physiol.) 282, H983-9.
 8. L. Melo, R. Agrawal, L. Zhang, M. Rezvani, A. Mangi, A. Ehsan, D. Griese, G. Acqua, M. Mann, J. Oyama, S. Yet, M. Layne, M. Perrella, V. Dzau. 2002.
Gene Therapy Strategy for Long-Term Myocardial Protection Using Adeno-Associated Virus-Mediated Delivery of Heme Oxygenase Gene
Circulation. 105, 602-607.
 9. S. Satoh, Y. Ueda, M. Koyanagi, T. Kadokami, M. Sugano, Y. Yoshikawa, N. Makino. 2003.
Chronic inhibition of Rho kinase blunts the process of left ventricular hypertrophy leading to cardiac contractile dysfunction in hypertension-induced heart failure.
J Mol Cell Cardiol. 35, 59-70.
 10. N. Suematsu, H. Tsutsui, J. Wen, D. Kang, M. Ikeuchi, T. Ide, S. Hayashidani, T. Shiomi, T. Kubota, N. Hamasaki, A. Takeshita. 2003.
Oxidative Stress Mediates Tumor Necrosis Factor- α Induced Mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes
Circulation. 107(10), 1418-1423.
 11. AM. Feldman, T. Kadokami, Y. Higuichi, R. Ramani, CF. McTiernan. 2003.
The role of anticytokine therapy in heart failure: recent lessons from preclinical and clinical trials?
Med Clin North Am. 87, 419-40.
 12. AM. Janczewski, T. Kadokami, B. Lemster, CS. Frye, CF. McTiernan, AM. Feldman. 2003.
Morphological and functional changes in cardiac myocytes isolated from mice overexpressing TNF- α .
Am J Physiol (Heart Circ Physiol.) 284, H960-9.
 13. S. Satoh, Y. Ueda, N. Suematsu, J. Oyama, T. Kadokami, M. Sugano, Y. Yoshikawa, N. Makino. 2003.
Beneficial Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition on Sarcoplasmic Reticulum Function in Failing Heart of Dahl Rat.
Circ J (conditionally accepted)
 14. M. Sugano, K. Tsuchida, N. Makino.
Effects of soluble TNF- α receptor 1 on apoptosis induced by oxidized LDL in endothelial cells.
Mol Cell Biochem. (in press)

総説

1. J. Oyama, S. Frantz, C. Blais, R. Kelly, T. Bourcier. 2002.
Nitric oxide, cell death, and heart failure

- Heart Failure Review, 7, 327-334.
2. N. Makino, M. Sugano, K. Masutomo, T. Hata, S. Fusiki. 2003.
Matrix degradative enzyme activities on cardiac remodeling in heart failure. Cardiac Remodeling and Failure, edited by PK Singal, IMC Dixon, NS Dhalla, pp305-318
Kluwer Academic Publishers, Boston.

著書

1. 牧野直樹、阿部信行. 2002.
心拍数変動、自律神経機能検査
新しい糖尿病学 2、pp.597-600
日本臨床社.
2. 門上俊明、牧野直樹. 2003
糖尿病患者における無症候性心筋虚血の病態と予後
冠動脈の臨床(下)—21世紀の診断治療体系—、pp625-630
日本臨床社.

学会発表

国内学会

1. M. Sugano, M. Koyanagi, T. Hata, Naoki Makino. (2002, 4/24-26).
In vivo transfection of soluble TNF- receptor 1 gene prevents acute myocardial infarction
第66回日本循環器学会学術集会, 札幌.
2. N. Suematsu, H. Tsutsui, J. Wen, D. Kang, M. Ikeuchi, T. Ide, S. Hayashidani, T. Shiomi, T. Kubota, A. Takeshita. (2002. 4/24-26).
Oxidative Stress Mediates Tumor Necrosis Factor-Induced Mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes.
第66回日本循環器学会学術集会, 札幌.
3. N. Suematsu, H. Tsutsui, J. Wen, D. Kang, M. Ikeuchi, T. Ide, S. Hayashidani, T. Shiomi, T. Kubota, A. Takeshita (2002. 10/2-4).
Oxidative Stress Mediates Tumor Necrosis Factor- Induced Mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes.
第6回日本心不全学会, 東京.
4. M. Sugano, T. Hata, N. Makino (2003, 3/28-30).
Soluble TNF-alpha receptor 1 limits infarct size following ischemia-reperfusion injury
第67回日本循環器学会学術集会, 福岡.
5. M. Sugano, N. Makino (2003, 3/28-30).
Increased angiogenesis after intramuscular gene transfer of soluble TNF-alpha receptor 1 in a rat model of hindlimb ischemia
第67回日本循環器学会学術集会, 福岡.

国際学会

1. N.Suematsu, H.Tsutsui, J. Wen, D, Kang, M. Ikeuchi, T. Ide, S. Hayashidani, T. Shiomi, T. Kubota, A. Takeshita (2002, 8/21-25).
Oxidative Stress Mediates Tumor Necrosis Factor- Induced Mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes Scientific Conference on Advances in the Molecular and Cellular Mechanism of Heart Failure, Salt Lake City, USA.
2. M. Sugano, T. Hata, K. Tsuchida, N. Makino (2002, 10/1-2).
In vivo transfer of soluble TNF- α . Receptor 1 gene alleviates infarct size following ischemia/reperfusion injury
The 19th Annual meeting of the Japanese Section International Society for Heart Research, Yamagata.
3. S. Satoh, M. Koyanagai, T. Kadokami, M. Sugano, N. Makino (2002, 10/30 11/2).
Intracellular mechanisms of improved cardiac contractility by ACE inhibition in heart failure.
The 19th Annual Meeting of the Japanese Section, Internal Society for Heart Reserch, Yamagata.
4. N.Suematsu, H.Tsutsui, J. Wen, D, Kang, M. Ikeuchi, T. Ide, S. Hayashidani,T. Shiomi, T. Kubota, A. Takeshita (2002,10/11-12,)
Oxidative Stress Mediates Tumor Necrosis Factor- Induced Mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes
International Symposium on Cardiovascular Remodeling and Function, Osaka.
5. J. Oyama, X-L. Liu, C Blais, M. Pu, R. Kelly, L. Kobsik, T. Bourcier (2002.11/17-20)
Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in Toll-like receptor 4-deficirnt mice.
American Heart Association Scientific Sessions 2002, Chicago, USA.

研究会

1. 菅野公浩、畑知二、土田啓子、牧野直樹 (2002, , 7/20-21)
Soluble TNF- α receptor 1 は虚血再灌流における心筋梗塞の範囲を減少させる
第 25 回心筋代謝研究会, 札幌.
2. 末松延裕、筒井裕之、竹下彰 (2002, 7/20-21)
TNF α による心筋細胞のミトコンドリア DNA 傷害における酸化ストレスの役割
第 25 回心筋代謝研究会, 札幌.
3. 牧野直樹 (2002, 7/26)
糖尿病の循環器合併症 について
松山循環器研究会, 松山.