

[033]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2018年

<https://hdl.handle.net/2324/6617896>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 33, pp.1-, 2019. Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

バージョン :

権利関係 :



個 体 機 能 制 御 学 部 門

Department of Immunobiology and Neuroscience

免疫遺伝学分野

Division of Immunogenetics

教授：福井 宣規

Professor : Yoshinori Fukui, M.D., Ph.D

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

今年度から、能村卓慈が学術研究員として、新たに研究室に参加した。

A. CDM ファミリー分子を介したシグナル伝達機構の解明とその機能解析

突然変異体を用いた遺伝学的解析より、*Caenorhabditis elegans*（線虫）において生殖巣の形成に重要な遠端細胞（distal tip cell）の移動に関与するいくつかの分子が同定されている。CED-5 もその 1 つであり、ヒトにおける DOCK180 および *Drosophila melanogaster*（ショウジョウバエ）における Myoblast City (MBC) と相同性を示すことより、これらの分子は現在その頭文字をとって CDM ファミリー分子とよばれている。これら分子はいずれも Rac の上流で機能することで細胞骨格の再構築に関与すると考えられており、細胞運動以外にも CED-5 はアポトーシス細胞の貪食、MBC は筋芽細胞の融合といった種々の細胞機能制御に関与することが知られている。私達は、マウス胸腺 cDNA ライブラリーよりこの CDM ファミリーに属する新しい遺伝子として *DOCK2* を単離し、ノックアウトマウスを作製することで、この分子が Rac 活性化を介してリンパ球の遊走および免疫シナプス形成を制御することを明らかにすると同時に (Nature 412:826-831, 2001; Immunity 19:119-129, 2003; Immunity 21: 429-441, 2004), その欠損によりアロ移植心臓の長期生着が可能になることを実証し (J. Exp. Med. 22:1121-1130, 2005), その低分子阻害剤として CPYPP を開発した (Chem. Biol. 19:488-497, 2012)。また、DOCK2 が好中球の遊走や活性酸素産生

において重要な役割を演じること実証すると共に (J. Cell Biol. 174:647-652, 2006; Science 324:384-387, 2009), アレルギー反応や形質細胞様樹状細胞による I 型インターフェロン産生の制御分子として機能することを明らかにした (Nature Immunol. 8:1067-1075, 2007; J. Exp. Med. 207:721-730, 2010). 哺乳類において, 全部で 11 種類の DOCK ファミリー分子が発現しているおり, これらはその構造や低分子量 G タンパク質に対する特異性から 4 群に分類される. 以上の知見をふまえ, 今年度は以下のような研究を行った.

a. DOCK1 とがん細胞の浸潤・転移・生存

Ras はヒトにおいて最初に同定されたがん遺伝子であり, その変異は, がん全体の 3 分の 1 に及ぶにも関わらず, いまだに有効な治療薬はない. 私達は, DOCK1 を発現できないように遺伝子操作したがん細胞では, Ras に変異があっても, 低栄養条件下での生存性および浸潤能が著しく低下することを見だし, DOCK1 の選択的阻害剤として TBOPP を開発した (Cell Rep. 19:969, 2017). TBOPP は, DOCK2 の機能を阻害することなく, DOCK1 に依存したがん細胞の浸潤やマクロピノサイトーシス, 低グルタミン環境下での生存応答をブロックした. さらに, TBOPP をマウスに投与すると, 変異 Ras を有するがん細胞の増殖および転移が抑制できることから, TBOPP は変異 Ras を有するがんを治療するための新たな創薬リードになると期待される. この知見を基に, 親和性や親水性の向上を目指した最適化を実施し, 生化学的および機能的スクリーニングを行った結果, TBOPP より薬効の優れた化合物を新たに開発することに成功した. これらの化合物は, TBOPP よりさらに低い濃度で, マウスに移植したがん細胞株の増殖を抑制した.

b. DOCK2 と免疫特権

免疫応答は生体にとって感染に対する必須の防御機構であるが, 過剰な免疫応答は, 正常組織を攻撃するリスクをもはらんでいる. このため, 生体には免疫監視機構が発動しにくい組織や空間が存在しており, これらを「免疫特権部位」と呼ぶ. 眼もその一つであり, これまでにいくつかのタンパク質が免疫回避に働くことが報告されているが, その詳細は依然として不明である. DOCK2 は, 主に免疫細胞に発現する Rac 特異的なグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) である. DOCK2 は白血球の活性化と遊走に不可欠な分子で, 免疫監視に重要な役割を演じており, その変異はヒトにおいて重篤な免疫不全症を引き起こす. 私達は, DOCK2 を介した Rac の活性化と白血球の遊走が, コレステロール硫酸 (CS) によって効果的に阻害されるが, コレステロールやその他の硫酸化ステロイドによっては阻害されないことを見出した. CS は DOCK2 の触媒ドメインに結合し, その Rac GEF 活性を抑制した. 質量分析を用いた定量解析の結果, CS は, 涙の油層を形成する脂質を供給するハーダー腺 (ヒトのマイボーム腺に相当) において, 最も大量に産生されることが明らかにな

った。コレステロールの硫酸化は、硫酸基転移酵素 SULT2B1b を主体とし、一部 SULT2B1a によっても仲介されるが、これらの酵素は、同一遺伝子から選択的スプライシングによって生成される。私たちは、*Sult2b1* 遺伝子を不活化することにより CS を産生できないようにしたマウスでは、紫外線および抗原によって誘導される眼内炎症が増強され、それが、CS を含有する点眼剤を投与することで抑制されることを示した。したがって、CS は生体内に初めから存在する天然の DOCK2 阻害因子であり、眼における免疫特権環境の形成に寄与していることが示唆された。

c. DOCK8 とアトピー性皮膚炎

アトピー性皮膚炎は国民の 7~15%が罹患している国民病であり、「痒み」に伴い生活の質が著しく損なわれることから、その対策は急務となっている。IL-31 は、アトピー性皮膚炎発症に重要な痒み物質で、主にヘルパーT 細胞から産生されるが、その産生制御機構は不明であった。私達は、DOCK8 を欠損した患者さんが重篤なアトピー性皮膚炎を発症することに着目し、このタンパク質の機能を解析した。その結果、DOCK8 が発現できないように遺伝子操作したマウスでは、IL-31 の産生が著しく亢進し、重篤な皮膚炎を自然発症することを見いだした。さらにそのメカニズムを詳細に解析したところ、DOCK8 の下流で EPAS1 が作動し、IL-31 産生を誘導していることを発見した。EPAS1 は ARNT という分子と協調して低酸素応答を制御することが知られているが、EPAS1 による IL-31 の産生誘導に ARNT は必要ではなく、別の SP1 という分子が関与していた。一方、EPAS1 は細胞質から核に移行して機能するが、DOCK8 は MST1 という分子を介して、EPAS1 の核への移行を抑制していることを突き止めた。このことから、DOCK8 の下流で EPAS1 が作動し、EPAS1 が IL-31 産生に重要な役割を演じることが明らかになった。そこで最後に、ヒトヘルパーT 細胞における EPAS1 の重要性につき検討を行った。アトピー性皮膚炎患者さんの血清では、健康者に比べて IL-31 の濃度が高値であり、患者さんのヘルパーT 細胞を刺激すると、大量の IL-31 が産生される。しかしながら、この IL-31 の産生は、EPAS1 の発現を抑制することで、著減した。以上より、EPAS1 およびそれに至る経路は、アトピー性皮膚炎の痒みを根元から断つための新たな創薬標的になることが期待される (Nature Commu. 8:13946, 2017)。この知見に基づき、本年度は IL-31 の産生を阻害する化合物のスクリーニングを実施し、ヒット化合物を得た。また、IL-31 による痒みの誘導・伝達に働く分子を同定する目的で、DOCK8 欠損マウスと野生型マウスから脊髄後根神経節 (DRG) を単離し、その遺伝子発現解析および機能解析を行い、IL-31 の感知に働く候補分子を同定した。

B. Jmjd6 の生体機能とその動作原理の解明

Jmjd6 は広義の酸化還元反応を司るタンパク質である。近年、Jmjd6 がタンパク質のリジン水酸化酵素として機能することが報告されているが、Jmjd6 欠損マウスは生後直後に死ん

でしまうため、生体における機能は不明であった。私達は、Jmjd6 がないと Aire という免疫寛容を誘導する役割を持つタンパク質の発現が著しく抑制され、その結果自己免疫疾患が発症することを見いだした (Nature Commun. 6:8820, 2015)。そこで本年度は、コンディショナル KO マウスを作製し、Jmjd6 を胸腺上皮細胞特異的に欠損したところ、免疫寛容の形成が破綻し、自己免疫疾患の発症が亢進すること明らかにした。また、新たにがんにおける Jmjd6 の機能的重要性を見出した。

業績目録

原著論文

1. Gotoh K, Morisaki T, Setoyama D, Sasaki K, Yagi M, Igami K, Mizuguchi S, Uchiumi T, Fukui Y, Kang D. 2018.
Mitochondrial p32/C1qbp is a critical regulator of dendritic cell metabolism and maturation.
Cell Reports 25:1800-1815.
2. Sakurai T, Uruno T, Sugiura Y, Tatsuguchi T, Yamamura K, Ushijima M, Hattori Y, Kukimoto-Niino M, Mishima-Tumagari C, Watanabe M, Suematsu M, Fukui Y. 2018.
Cholesterol sulfate is a DOCK2 inhibitor that mediates tissue-specific immune evasion in the eye.
Science Signaling 11:1-11.

学会発表

1. Tatsuguchi T, Uruno T, Fukui Y (2018, 6/30 - 7/3).
DOCK1 as a novel molecular target for controlling cancer cell survival and invasion.
The 25th Biennial Congress of the European Association for Cancer Research, Amsterdam.
2. Kunimura K, Yamamura K, Fukui Y (2018, 9/2 - 9/5).
The transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction.
The 5th European Congress of Immunology, Amsterdam.
3. Aihara R, Fukui Y (2018, 9/2 - 9/5).
A cell-autonomous role of DOCK8 in development of type3 innate lymphoid cells.
The 5th European Congress of Immunology, Amsterdam.
4. Kamikaseda Y, Ushijima M, Fukui Y (2018, 9/2 - 9/5).
B cell-intrinsic role of DOCK2 in T cell-dependent humoral immunity.
The 5th European Congress of Immunology, Amsterdam.
5. Sakurai T, Shiraishi A, Fukui Y (2018, 9/2 - 9/5).

- DOCK8 regulates macrophage migration through Cdc42 activation and LRAP35a interaction.
The 5th European Congress of Immunology, Amsterdam.
6. Matsubara K, Yanagihara T, Fukui Y (2018, 9/2 - 9/5).
Jmjd6 controls Aire protein expression and self-tolerance induction in the thymus.
The 5th European Congress of Immunology, Amsterdam.
7. 福井宣規 (2018, 9/24 - 9/26).
DOCK2 の機能を阻害する代謝産物の発見：その産生と生体機能.
第 91 回日本生化学会大会シンポジウム, 京都.
8. 福井宣規 (2018, 10/20 - 10/21).
免疫アレルギー疾患と DOCK ファミリー分子.
第 55 回日本小児アレルギー学会学術大会特別講演, 岡山.
9. Fukui Y, Yamamura K (2018, 10/24 - 10/27).
Transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction in helper T cells.
The 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies, Lisbon.
10. Fukui Y (2018, 11/7 - 11/8).
Immune regulatory functions of DOCK family proteins in health and diseases.
Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine 2018, Busan.
11. Fukui Y (2018, 11/10 - 11/11).
Immune regulatory functions of DOCK family proteins in health and diseases.
The 9th Asian Congress of Pediatric Infectious Diseases, Symposium, Fukuoka.
12. Uruno T, Fukui Y (2018, 12/9 - 12/12).
DOCK1 as a novel target for controlling RAS-driven cancer cell survival and invasion.
An AACR Special Conference on "Targeting RAS-driven cancers", San Diego.
13. Sakurai T, Fukui Y (2018, 12/10 - 12/12).
A novel mechanism for induction of tissue-specific immune evasion.
第 47 回日本免疫学会学術集会, 福岡.
14. 福井宣規 (2018, 12/15 - 12/16).
DOCK ファミリー分子によるアレルギー疾患制御の分子基盤.
第 5 回総合アレルギー講習会, 大阪.

脳機能制御学分野

Division of Neurofunctional Genomics

教 授：中別府 雄作

Professor : Yusaku Nakabeppu, D.V.M., D. Sc.

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さまざまな変性疾患の原因となる。

本分野では、活性酸素による非増殖性細胞の障害として「脳・神経細胞死」に、また増殖性細胞の障害として「突然変異と発がん」、さらに「神経新生の異常」に注目して「活性酸素によるゲノム障害とその防御機構」の解明を目指している。神経細胞はその個体の生涯を通して生存し機能する必要があるが、分裂能を欠くため加齢に伴う活性酸素等による障害により変性脱落する運命にある。そのため成体においても神経幹細胞からの新たな神経細胞の供給など神経回路網を保持する機構が幾重にも用意されていると考えられる。成体脳における神経新生は脳虚血や神経興奮毒性などに伴い脳障害が引き起こされた際に著しく亢進する。さらに本分野では、脳における酸化ストレス応答遺伝子として前初期遺伝子群の *Jun*, *Fos* ファミリー遺伝子とその下流で発現が制御される遺伝子群に注目して、「成体脳における脳・神経細胞の運命決定機構」の制御機構の解明を進めている。これまでの研究成果が認められ、中別府教授が「活性酸素によるゲノム損傷に起因する機能障害とその防御機構の解明」で 2018 年度日本遺伝学会木原賞を受賞した。

平成 30 年度の人事異動は次の通りであった。5 月に桑野典子が退職し、7 月に古泉友子が事務補佐員として、12 月に高吉光がテクニカルスタッフとして勤務を開始した。

A. 加齢に伴う酸化塩基 8 - オキシグアニンの雌脳特異的蓄積と性的二形性

個体の発生過程において胚から出生直後まで、神経前駆細胞は盛んに分裂して増殖するが、神経細胞に分化成熟すると分裂能を失い、神経ネットワークを構築する。神経細胞は個体の生涯を通して生存し、機能すると考えられているが、加齢に伴う機能障害、特に酸化ストレスによって損傷を受け失われることが知られている。

基本的な脳機能を維持するためには相当なエネルギーが必要であり、そのほとんどは大量の酸素とグルコースを消費するミトコンドリアにおける酸化的リン酸化によっ

て供給される。しかしながら、ミトコンドリアの電子伝達系から漏れてくる電子によって酸素が還元されると、スーパーオキシドアニオン、過酸化水素またはヒドロキシルラジカルなどの活性酸素が生成される。また、脳では神経細胞の興奮時や炎症時のグリア細胞が一酸化窒素を生成するため、スーパーオキシドアニオンと反応してより反応性の高いペルオキシナイトライトなどが生成される。このように、脳は正常な脳機能を維持する過程で生成される活性酸素によって自らが障害を受ける危機、すなわち酸化ストレスに常にさらされている。そのため、成体脳では神経回路網を保持するために、神経前駆細胞からの新生神経細胞の供給をはじめ複数の防御機構が発達している。

生体では、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD)、カタラーゼおよびグルタチオンペルオキシダーゼなどの抗酸化酵素を含む一連の防御機構が作用して活性酸素の細胞毒性を抑えているが、ヒトや動物の脳には老化の過程や病的な状態でさまざまな酸化された脂質、タンパク質、炭水化物および核酸が蓄積することが明らかになっている。すべての核酸塩基の中でグアニンが最も酸化されやすく 8-オキソ-7,8-ジヒドログアニン (8-オキソグアニン [8-oxoG]) となるが、これはヌクレオチドプールや DNA 中に存在する主要な酸化塩基である。これまでの研究から、アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病、ハンチントン病など老化に伴う神経変性疾患患者の脳には 8-oxoG が高度に蓄積することが知られている。

8-oxoG はシトシンに加えてアデニンと塩基対を形成する性質をもつため、ゲノム DNA に蓄積すると突然変異や細胞死の原因となる。ゲノム DNA 中の 8-oxoG の蓄積を低いレベルに抑えるために、ヒトを含む哺乳動物の細胞は 2 つの酵素、MutT homolog-1 (MTH1) と OGG1 を備えている。大腸菌 MutT の哺乳類ホモログである MTH1 は、ヌクレオチドプール中に生成した 8-オキソ-2'-デオキシグアノシン三リン酸 (8-oxo-dGTP) を 8-oxo-dGMP とピロリン酸に加水分解し、複製の際に DNA に 8-oxo-dGTP が取り込まれるのを回避する。8-oxoG DNA グリコシラーゼ活性を有する OGG1 は、DNA 中でシトシンに対合した 8-oxoG を切り出し、塩基除去修復を開始する。ヒトおよびマウスでは、MTH1 および OGG1 タンパク質がともに、脳全体の神経細胞、特に大脳皮質、海馬、視床下部など領域において高度に発現している。さまざまな神経変性疾患を有する患者の脳において、MTH1 および OGG1 の発現の変化が報告されており、MTH1 および OGG1 が神経細胞における 8-oxoG 蓄積を抑制することによって神経機能を維持する上で重要な役割を果たすことが示唆されている。実際、MTH1 や OGG1 を欠損しているマウスは、酸化ストレスで誘発される神経変性に対する脆弱性が亢進している。さらに、ヒト MTH1 1 (hMTH1) タンパク質を発現するトランスジェニック (hMTH1-Tg) マウスは、野生型マウスに比べて酸化ストレス下での脳組織における 8-oxoG の蓄積が低く、神経変性に抵抗性を示すことが報告されている。

ヒトの脳における 8-oxoG の修復能力は加齢とともに低下すると考えられ、動物の脳における 8-oxoG の蓄積は加齢に伴って増加することが報告されている。我々は以前、*Mth1/Ogg1*-ダブルノックアウト (TO-DKO) マウスの成体脳から単離した神経細胞を抗酸化剤の非存在下で培養すると、ミトコンドリア DNA 中に 8-oxoG の蓄積が増加し、神経突起形成障害と神経突起の分枝の形成不全を示すことを見出した。このことは、TO-DKO マウスが加齢に伴う脳機能障害を発症する可能性があることを示唆している。

本研究では、*Ogg1* ノックアウト (*Ogg1*-KO), TO-DKO, および hMTH1-Tg マウスの加齢 (若年 9 週齢, 中年 34 週齢, 老年 82 週齢) に伴うさまざまな行動の変化を野生型マウスと比較して観察した。その結果、野生型マウスではホームケージ内での自発運動量が加齢とともに有意に低下したが、興味深いことに雌マウスは雄マウスよりも常に高い自発運動量を示した。しかしながら、この加齢に伴う自発運動量低下は雌の TO-DKO マウスではほとんど認められず、逆に雌の hMTH1-Tg マウスではその低下が加速された。さらに、中年の TO-DKO 雌マウスは野生型マウスと比較して長期記憶の想起力が低下しており、軽度の認知障害が認められた。4 系統の雄マウスではこのような違いは全く認められないことから、TO-DKO マウスは性的二形性を示すことが明らかになった。中年の TO-DKO 雌マウスの海馬歯状回、脳室下帯、および大カレハ島では、野生型マウスに比べて核 DNA 中の 8-oxoG の蓄積が顕著に増加していた。また、中年の TO-DKO 雌マウスでは、脳室下帯と海馬歯状回における神経新生が著しく低下し、海馬歯状回と大カレハ島の萎縮が顕著であった。逆に、hMTH1 の発現は、脳室下帯および海馬歯状回の両方において 8-oxoG の蓄積を効率よく抑制し、海馬歯状回と大カレハ島の過形成が認められた。これらの知見は、成体雌脳においては脳室下帯からの新生神経細胞が GABA 作動性の抑制性神経細胞からなる大カレハ島の維持に不可欠で、その萎縮が自発運動量の制御に関わることを示している。また、海馬歯状回への新生神経細胞の供給により認知機能が維持されていることも確認された。

マウスの脳では、加齢とともに特異的に神経前駆細胞の核 DNA に 8-oxoG の蓄積を増加させる雌特異的な環境が存在すると考えられる。ミトコンドリア DNA における 8-oxoG のレベルは雄と雌、さらに 4 系統のマウス間で差が見られなかったことから、ミトコンドリアに起因する活性酸素は関与しないと考えられる。特に、hMTH1 の発現によって 8-oxoG の蓄積が低下することから、雌マウス脳で増殖中の神経前駆細胞の核内で 8-oxo-dGTP が特異的に生成される可能性が高い。*Ogg1*-KO 雌マウスは野生型マウスと行動量に変化がないことから、DNA の直接酸化の可能性は低いと考えられる。

エストロゲンなどの性ホルモンが神経新生を促進することが知られているが、エストロゲンが結合したエストロゲン受容体は核内転写因子としてクロマチン構造の変化を制御して遺伝子発現を調節する。この過程でリジン脱メチル化酵素 LSD1 によるヒストン H3 のメチル化リジン (H3K4me1/2, H3K9me1/2) の脱メチル化によりクロマチンの

構造変化が誘導される．ところが，LSD1 による脱メチル化は FAD 依存性の反応で過酸化水素の産生を伴う．そのため，エストロゲンが作用した雌脳の神経前駆細胞では核内で過酸化水素が生成され，この過酸化水素によって DNA 合成基質の dGTP が 8-oxo-dGTP に酸化されゲノム DNA 中に取り込まれた可能性が高い．このような性ホルモンの作用に起因する活性酸素の生成が，加齢による自発運動量の変化を雌と雄で異なるもの，すなわち性的二形性を引き起こす起源と考えられる．

B. マウス神経系におけるイノシン三リン酸分解酵素の欠損は神経細胞静止膜電位の脱分極と神経細胞の変性脱落をもたらし，てんかん様けいれん発作と早期個体死の原因となる

ITPA 遺伝子がコードするイノシン三リン酸分解酵素 (Inosine triphosphate pyrophosphatase, ITPA) はイノシン三リン酸 (ITP) を含む脱アミノ化プリンヌクレオシド三リン酸を加水分解して，各々の一リン酸型とピロリン酸に変換する．近年ヒトの *ITPA* ホモ欠損変異が小頭症や成長遅延を伴う重篤な乳幼児てんかん性脳症の原因となることが報告された．患者のほとんどは3歳未満で死亡する重篤な不顕性遺伝病である．

今回，我々はヒト *ITPA* 欠損症のモデルマウスとして神経幹細胞特異的 *Itpa* コンディショナルノックアウトマウス (cKO マウス) を作成した．本 cKO マウスは神経細胞とミクログリアを除いたグリア細胞において *ITPA* が欠失する．cKO マウスは出生後 8 日目以降に成長遅延を示し，約 3 週間で死亡した．一部の cKO マウスは自発性全般性けいれん発作を示し，全ての cKO マウスが音刺激ストレス負荷誘導性けいれん発作を起こした．同腹仔の *ITPA* 正常マウスではこれらの表現型は観察されなかった．病理形態解析の結果，メスの cKO マウスにおいて副腎の低形成を認めた．脳スライスを用いた電気生理学的解析により嗅内皮質神経細胞の静止膜電位の脱分極と活動電位発火頻度の上昇が明らかとなり，神経細胞静止膜電位の脱分極が *Itpa* cKO マウスの表現型の主要な原因となっていると考えられた．

本研究は，歯学研究院口腔機能分子科学分野および名古屋大学医学系研究科生体反応病理学との共同研究の成果である．

C. *Fosb* および $\Delta Fosb$ mRNA の選択的翻訳開始によって産生される複数のアイソフォームの同定

Fosb 遺伝子は選択的スプライシングにより *Fosb* と $\Delta Fosb$ mRNA を生成し，さらに $\Delta Fosb$ mRNA からは選択的翻訳開始により $\Delta FOSB$ と $\Delta 2\Delta FOSB$ の 2 つのアイソフォームが翻訳される．*FOSB*， $\Delta FOSB$ と $\Delta 2\Delta FOSB$ の 3 つの *FOSB* アイソフォームはいずれも転写因子 AP-1 を構成し，*C5ar1* や *Vgf*，*Gal* など神経系機能に関わる遺伝子の発現を調節する．我々

は, FOSB のみを発現する *Fosb^f* アレル, Δ FOSB と $\Delta 2\Delta$ FOSB のみを発現する *Fosb^d* アレル, FOSB アイソフォームをいずれも発現しない *Fosb-null* アレルを持つマウスを用いて, 脳において発現する FOSB アイソフォームについて二次元電気泳動による詳細な解析を行い, *Fosb* mRNA から新たなアイソフォーム vFOSB が翻訳されることを明らかにした. *Fosb* mRNA から選択的翻訳開始によって vFOSB が翻訳されることを証明するために, CRISPR/Cas9 を用いて *Fosb* 遺伝子欠損 Neuro2A 細胞株を樹立し, この細胞株に *Fosb* および Δ *Fosb* cDNA, さらに最初の開始コドン以外の 3 つのメチオニンコドンをバリンコドンに置換したそれぞれの cDNA の発現プラスミドを導入して, 発現する FOSB アイソフォームを解析した. *Fosb* cDNA を持つプラスミドからは, *Fosb* と Δ *Fosb* mRNA の両者に由来すると考えられるアイソフォームが検出され, *Fosb* mRNA からさらにスプライシングされた Δ *Fosb* mRNA も生じていることが示唆された. そこで, *Fosb* cDNA 上のスプライシングシグナル配列を塩基置換により改変したところ, *Fosb* cDNA の発現プラスミドからは期待通りに FOSB と vFOSB のみが翻訳されることが明らかになった. 以上から, *Fosb* mRNA から第 1 番目と第 3 番目のメチオニンコドンからそれぞれ FOSB と vFOSB, すなわち $\Delta 2$ FOSB が翻訳されることを証明した. この系を用いて, Δ *Fosb* mRNA の第 1 番目と第 3 番目のメチオニンコドンから Δ FOSB と $\Delta 2\Delta$ FOSB が翻訳されることも確認し, それぞれの FOSB アイソフォームによる特徴的な標的遺伝子の発現制御を明らかにした. またこの研究の過程で, マウス脳で発現する 4 つのアイソフォームに加えて, ヒトの脳組織では 4 番目のメチオニンコドンから翻訳が開始される $\Delta 3$ FOSB と $\Delta 3\Delta$ FOSB に相当する新しいアイソフォームが存在することが明らかになった.

D. *MUTYH* 遺伝子のイントロン-塩基多型は HCV 誘発肝細胞がんのリスク増加と関連する

ヒト肝発がんにおける塩基除去修復遺伝子やヌクレオチドプール浄化酵素遺伝子異常の関与についてはこれまで報告がない. 我々は, 8-oxoG のゲノム蓄積を制御する 3 つの遺伝子, *MTH1*, *OGG1*, *MUTYH* の変異と肝細胞がん (HCC) の発症リスクとの関係を検討する目的で, これらの遺伝子の 19 個の SNP に注目して, 慢性 C 型肝炎 (HCC) の日本人患者と対照群 (n = 38 HCC および 55 対照) についてその頻度を検討した. その結果, *MUTYH* 遺伝子のイントロン 6 に慢性 C 型肝炎患者に有意に高頻度で存在する SNP (rs3219487: G, A) が 1 つ見つかった. A/A または G/A 遺伝子型を有する患者における HCC を発症するリスクは, G/G 遺伝子型を有する患者の 9 倍以上高いものであった (OR = 9.27, 95%CI = 2.39-32.1, P = 0.0005). 末梢単核細胞における *MUTYH* mRNA のレベルは, G/G に比べると G/A または A/A 遺伝子型を有する患者において有意に低かった (P = 0.0157 および 0.0108). 我々は, *MUTYH* プロモーター (-2000 ~ +200) の下流にイントロン 6 の SNP rs3219487 (A) を挿入すると (G) に比べて顕著に発現量が低

下することを見出した。MUTYH 欠損マウスに 12 ヶ月間高鉄分食を投与すると 3 割のマウスで肝腫瘍が観察されたが、野生型マウスでは全く観察されなかった。さらに、この肝腫瘍の発生は抗酸化剤（N-アセチル-L-システイン）の投与で完全に抑制された。以上より、MUTYH の欠損、あるいは発現低下が活性酸素に起因する肝腫瘍の発生に高感受性となることが明らかになった。

本研究は、札幌医科大学の加藤淳二教授のグループとの共同研究で、共同利用・共同研究拠点「多階層生体防御システム研究拠点」の支援を受けて行ったものである。

E. *App*^{NL-F/NL-F}ノックインマウスにおいて疾患修飾薬候補のSAK3は認知障害を改善し、アミロイドベータ沈着を抑制する

アルツハイマー病（AD）は進行性の神経変性疾患であり、世界で最も一般的な老年痴呆の形態である。現在、ドネペジル、ガランタミンおよびリバスチグミンなどのアセチルコリンエステラーゼ阻害剤が AD 治療に使用されているが、治療効果は限られている。我々は最近、AD の新しい治療薬候補として、T 型電位依存性 Ca (2+) チャネル（T-VGCC）エンハンサー、SAK3 を提案した。本研究では、超高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析を用いてマウスの血漿と脳における SAK3 の薬物動態を確認した。さらに、AD として確立されている *App*^{NL-F/NL-F} ノックインマウスにおいて、認知機能障害やアミロイド β (Aβ) 蓄積などの AD の主要症状に対する SAK3 の効果を調べた。生後 12 ヶ月の *App*^{NL-F/NL-F} マウスにおいて、9 ヶ月齢から 3 ヶ月間の慢性 SAK3 (0.5mg/kg 日) 経口投与は、認知機能を改善し、Aβ の沈着を抑制した。マイクロアレイと定量的リアルタイム PCR 解析を用いて、血清および Aβ 沈着の抑制と SAK3 による認知機能の改善に関与する可能性のある遺伝子を見出した。これらの結果は、T-VGCC エンハンサー、SAK3 が AD の疾患修飾治療薬の新規候補となることを示すものである。

本研究は、東北大学大学院薬学研究科・薬理学分野の福永浩司教授のグループとの共同研究で、共同利用・共同研究拠点「多階層生体防御システム研究拠点」の支援を受けて行ったものである。

F. 神経因性疼痛患者におけるプレキシシン D1 に対する新規自己抗体

炎症性およびアレルギー性神経疾患またはその他の神経障害のある 110 人の神経因性疼痛（NeP）患者と 20 人の健康な被験者および 30 人の神経変性疾患または全身性炎症性疾患を有する患者を含む、NeP を伴わない 50 人の対照患者の血清を用い、組織ベースの間接免疫蛍光アッセイ（IFA）を用いて、マウスの無髄 C 線維型後根神経節（DRG）ニューロンに選択的に結合する自己抗体をスクリーニングした。IFA 陽性患者の血清から精製した IgG を用いて、マウス DRG 抽出液のウェスタンブロッティング（WB）および免疫沈降（IP）を行い、免疫沈降物を液体クロマトグラフィータンデム質量分析

(LC-MS/MS)によって解析して標的自己抗原を同定した。

NeP 患者において、対照被験者では認められない無髄 C 線維型 DRG ニューロンに対する抗体が特異的に検出された (10% vs 0%; $p < 0.05$)。これらの自己抗体はすべて IgG2 サブクラス由来で、その抗原はイソレクチン B4 および P2X3 陽性の疼痛伝導性の小型ニューロンに局在したが、S100 β 陽性の有髄ニューロンには認められなかった。WB により NeP 患者に共通の免疫反応性バンド (約 220 kDa) が検出され、IP および LC-MS/MS 解析によりプレキシシン D1 が標的自己抗原として同定された。IFA 中の組換えヒトプレキシシン D1 を用いた免疫吸収試験により、11 人の無髄 C 線維型 DRG ニューロン抗体陽性患者のすべてが抗プレキシシン D1 抗体を有することが明らかになった。抗プレキシシン D1 抗体陽性患者血清で培養 DRG ニューロンを処理すると膜透過性が亢進し、細胞の膨化を引き起こした。抗プレキシシン D1 抗体を有する NeP 患者は共通して灼熱痛を発症し、C 線維に対する電流知覚閾値の異常を示した。主な合併症としてアトピーと膠原血管疾患が認められた。免疫療法による治療症例 7 例で NeP の改善を認めた。抗プレキシシン D1 抗体は免疫療法に反応する NeP の新規バイオマーカーとして有用と考えられる。

本研究は、九州大学大学院神経内科学分野の吉良潤一教授のグループとの共同研究である。

業績目録

原著論文

1. Sakurada A, Miyamishi K, Tanaka S, Sato M, Sakamoto H, Kawano Y, Takada K, Nakabeppu Y, Kobune M and Kato J. 2018.
An intronic single nucleotide polymorphism in the MUTYH gene is associated with increased risk for HCV-induced hepatocellular carcinoma.
Free Radic Biol Med 129, 88-96.
2. Fujii T, Yamasaki R, Iinuma K, Tsuchimoto D, Hayashi Y, Saitoh BY, Matsushita T, Kido MA, Aishima S, Nakanishi H, Nakabeppu Y, Kira JI. 2018.
A Novel Autoantibody against Plexin D1 in Patients with Neuropathic Pain.
Ann Neurol 84, 208-224.
3. Hommyo R, Suzuki SO, Abolhassani N, Hamasaki H, Shijo M, Maeda N, Honda H, Nakabeppu Y, and Iwaki T. 2018.
Expression of CRYM in different rat organs during development and its decreased expression in degenerating pyramidal tracts in amyotrophic lateral sclerosis.

Neuropathol 38, 247-259.

4. Zhang XY, Yanagi Y, Sheng Z, Nagata K, Nakayama K, and Taguchi T. 2018.
Regeneration of diaphragm with bio-3D cellular patch.
Biomaterials 167, 1-14.
5. Izumi H, Shinoda Y, Saito T, Saido T, Sato K, Yabuki Y, Matsumoto Y, Kanemitsu Y, Tomioka Y, Abolhassani N, Nakabeppu Y, and Fukunaga K. 2018.
The disease-modifying drug candidate SAK3 improves cognitive impairment and inhibits amyloid beta deposition in *App* knock-in mice.
Neuroscience 377, 87-97.

総説

1. Sakumi K. 2019.
Germline mutation: de novo mutation in reproductive lineage cells.
Genes Genet. Systems 94, 3-12.

著書

1. Nakabeppu Y and Ninomiya T. (Editors) 2019.
Diabetes Mellitus: A risk factor for Alzheimer's Disease.
Advances in Experimental Medicine and Biology 1128, Springer Singapore.
2. Nakabeppu Y. 2019.
Origins of Brain Insulin and Its Function. *In* Nakabeppu Y & Ninomiya T. (eds) Diabetes Mellitus: A risk factor for Alzheimer's Disease.
Advances in Experimental Medicine and Biology 1128, 1-11, Springer Singapore.
3. Nakabeppu Y. 2019.
Molecular Pathophysiology of Insulin Depletion, Mitochondrial Dysfunction, and Oxidative Stress in Alzheimer's Disease Brain. *In* Nakabeppu Y & Ninomiya T. (eds) Diabetes Mellitus: A risk factor for Alzheimer's Disease.
Advances in Experimental Medicine and Biology 1128, 27-44, Springer Singapore.

学会発表

1. 土本大介, 古賀祐一郎, 林良憲, アボルハッサニ ノナ, 米嶋康臣, 中西博, 豊國伸哉, 中別府雄作 (2019, 1/30 - 1/31).
ITPA 欠損によるヒトてんかん性脳症のモデルとしての神経幹細胞特異的 *Itpa* ノックアウトマウス.
平成30年度先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会, 大津.

2. 土本大介, 古賀祐一郎, 林良憲, アボルハッサニ ノナ, 米嶋康臣, 中西博, 中別府雄作 (2018, 11/28 - 11/30).
ITPA 欠損によるヒトてんかん性脳症のモデルとしての神経幹細胞特異的 *Itpa* ノックアウトマウス.
第41回日本分子生物学会年会, 横浜.
3. 大野みずき, 鷹野典子, 作見邦彦 (2018, 11/28 - 11/30).
生殖細胞ゲノム変異の発生原因と遺伝情報維持を担う分子機構.
第41回日本分子生物学会年会, 横浜.
4. Daisuke Tsuchimoto, Yuichiro Koga, Yoshinori Hayashi, Nona Abolhassani, Yasuto Yoneshima, Hiroshi Nakanishi, Yusaku Nakabeppu (2018, 10/18 - 10/19).
Neural stem cell-specific *Itpa* knockout mouse as a model of human ITPA deficiency.
The 13th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences joint with the 3rd Symposium of the Inter-University Research Network for Trans-Omics Medicine & the 28th Hot Spring Harbor Symposium, Fukuoka.
5. Reiji Hommyo, Satoshi O Suzuki, Nona Abolhassani, Hideomi Hamasaki, Masahiro Shijo, Norihisa Maeda, Hiroyuki Honda, Yusaku Nakabeppu, Toru Iwaki (2018, 9/23 - 9/27).
Expression of CRYM in different rat organs during development and its decreased expression in degenerating pyramidal tracts in amyotrophic lateral sclerosis.
The 19th International Congress of Neuropathology, Tokyo.
6. 中別府雄作 (2018, 9/19 - 9/21).
活性酸素によるゲノム損傷に起因する機能障害とその防御機構の解明.
日本遺伝学会第90回大会, 奈良.
7. Yusaku Nakabeppu, Sugako Oka, Julio Leon, Nona Abolhassani, Tomomi Ide, Dongchon Kang (2018, 9/17 - 9/19).
Molecular pathophysiology of insulin depletion, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in Alzheimer's disease brain.
The 30th International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology, Seoul, Korea.
8. 中別府雄作 (2018, 8/30 - 8/31).
活性酸素による核酸の酸化と脳の老化.
第16回レドックス・ライフイノベーション シンポジウム, 福岡.
9. Naoki Haruyama, Kunihiro Sakumi, Atsuhisa Katogi, Daisuke Tsuchimoto, Yusaku Nakabeppu (2018, 7/26 - 7/29).
Accumulation of 8-oxoguanine in nuclear genome of neural progenitors in aged mouse brain causes atrophy of major island of Calleja resulting in locomotor hyperactivity.

The 41st Annual Meeting of The Japan Neuroscience Society, Kobe.

10. Daisuke Tsuchimoto, Yuichiro Koga, Yoshinori Hayashi, Nona Abolhassani, Yasuto Yoneshima, Hiroshi Nakanishi, Yusaku Nakabeppu (2018, 7/26 - 7/29).

Neural stem cell-specific *Itpa* knockout mouse as a model of human ITPA deficiency.

The 41st Annual Meeting of The Japan Neuroscience Society, Kobe.

11. Nona Abolhassani, Ryohei Ikegami, Naoki Haruyama, Guianfranco Mazzei, Takashi Saito, Takaomi C Saido, Yusaku Nakabeppu (2018, 7/26 - 7/29).

Long-term exposure to high-fat diet significantly exacerbated cognitive deficit in aged *App*^{NL-F/NL-F} knock-in mouse model of Alzheimer's disease along with persistent impaired glucose tolerance.

The 41st Annual Meeting of The Japan Neuroscience Society, Kobe.

12. Mizuki Ohno, Noriko Takano, Kunihiro Sakumi, Teruhisa Tsuzuki, (2018, 7/8 - 7/12).

The impact of DNA repair status on germline mutation rate and spectra in mice.

SMBE2018 (Society for Molecular Biology and Evolution), Yokohama, Japan.

13. Yusaku Nakabeppu, Nona Abolhassani, Eiko Ohta, Zijing Sheng, Mizuki Ohno, Daisuke Tsuchimoto, Kunihiro Sakumi (2018, 5/31 - 6/2).

Oxidative DNA damage and Repair in Cancer and Aging.

The 14th Japan - Korea Joint Symposium on Cancer and Ageing Research, Saga.

14. 中別府 雄作 (2018, 4/20).

アルツハイマー病を脳の糖尿病として捉える.

知の拠点セミナー, 東京.

病態生理学分野

Division of Pathophysiology

教 授：岡田 誠司

Professor : Seiji Okada, M.D., Ph.D.

平成 30 年度は、教授・岡田誠司が 5 月から、准教授・今野大治郎が 8 月から、助教・田中正剛が 10 月から赴任し、3 名体制で研究・教育を開始した。研究室の移転等に伴い、実質的には平成 31 年 1 月から新体制で本格的に研究活動を開始した。3 名の教員に加え、大学院博士課程学生 5 名、技能補佐員 1 名、事務補佐員 1 名の計 10 名が研究・教育活動の実施や支援を行っている。

当分野は、効果的な治療が存在しない病態や原因不明の疾患に対する新規治療法の確立を中心研究テーマに据え、マウスを中心とした疾患モデル動物の解析により病態形成に関わる分子や細胞、炎症反応や線維化の役割などについて精力的に研究している。とくにここ数年は、中枢神経系の発生機構と外傷後の修復機構の共通する知見やグリア細胞の役割に焦点を当て、難治性疾患の代表である脊髄損傷に対する新規治療法の開発を試みている。平成 30 年度は革新的先端研究開発支援事業 (AMED-PRIME)、科研費の基盤研究 B、挑戦的萌芽研究などの補助金による支援を受けた。

A. 脊髄損傷後の予後予測バイオマーカーとしての血清亜鉛濃度

脊髄損傷の麻痺は受傷直後が最も重篤であり、完全麻痺であれば全く回復しないが、不全麻痺であれば例外なく麻痺の自然回復が認められる。そのため、脊髄損傷急性期に治療を行い麻痺の改善が認められた場合に、治療による効果なのか単に自然回復なのかを区別することは不可能であった。現在行われている殆ど全ての脊髄再生研究や臨床知見が急性期治療である現状を鑑みると、急性期に最終的な麻痺を予測するバイオマーカーの同定は急務である。我々は総合せき損センターとの共同研究により、せき損後急性期の血清亜鉛濃度が最終的な麻痺の程度と相関することを動物実験ならびに実際に患者データにより示し、精度の高い有用なバイオマーカーであることを証明した (EBioMedicine 2019)。損傷重症度が浸潤マクロファージ数ならびに損傷脊髄中の亜鉛濃度と比例することを示し、さらに浸潤マクロファージが ZIP8 を介して血清中から亜鉛を取り込む結果であると考えられた。本研究結果は臨床現場でのアンメットニーズに応える画期的な成果であり、今後のせき損医療の発展に大きく資するものである。

B. 中枢神経外傷後の自己修復機構とマクロファージの能動的な移動

脊髄損傷不全麻痺後には亜急性期に於いて一定量の運動麻痺の自然回復が認められるが、その回復メカニズムは不明であった。我々は、本学井上和秀副学長らとの共同研究により、脊髄損傷後に浸潤したマクロファージが、転写因子 Interferon Regulatory Factor 8 (IRF8)-プリン受容体を介した補体 C5a に対する走化性メカニズムにより損傷中心部へ能動的に migration することが運動機能回復と組織修復に必須であることを示した (Science Adv 2019)。さらに、IRF8 リガンド投与によりこの修復機構を活性化し、有意な運動機能改善が得られることを確認した。本研究成果は、これまで治療法の存在しなかった中枢神経外傷に於いて、全く新しい治療ストラテジーを提唱するとともに、具体的な新規治療法開発に大きく寄与するものである。

C. 慢性期損傷脊髄での遠位運動ニューロンの病態変化

これまでの脊髄損傷研究に於いては、その全てが損傷中心部を標的とした治療戦略や病理組織学的解析がなされてきた。しかし、損傷部以遠での不可逆的な病理変化が生じていれば、損傷部のみを治療するだけでは脊髄機能の回復は望むべくもない。そこで我々は、損傷後遠位の脊髄変化、とくに下肢運動機能に大きな役割を果たす腰膨大部の運動ニューロンをレーザーマイクロ大セクションを用いて選択的に採取し病理変化および発現遺伝子変化を解析した。その結果、損傷部遠位は白質を中心に萎縮しているものの運動ニューロンの数自体は保たれており、シナプスブートン数ならびに神経活動性マーカーの発現は低下していた。逆にアセチルコリン関連分子の発現は上昇しており、プレシナプスの入力は低下しているもののシナプス形成能自体は保たれていることが示唆された (Molecular Brain 2018)。この結果は、損傷中心部のみならず損傷部遠位自体が治療標的となり得る可能性を示している。

D. ペリオスチンは線維芽細胞の移動を促進し筋修復を阻害する

筋損傷後の線維化は日常活動やスポーツ活動への復帰を障害する因子であるが、その機序や関連する因子については不明な点が多い。我々は、骨格筋損傷後に細胞外マトリックスであるペリオスチンが著しく上昇することを見出し、野生型マウスと比較してペリオスチン欠損マウスでは筋修復促進と線維化が減少することを確認した (J Bone Joint Surg Am 2018)。ペリオスチン存在下では線維芽細胞の郵送能が亢進し、ペリオスチン抗体投与による筋修復促進効果も確認した。これらの成果は筋再生のバイオロジーに新たな知見を加えるのみならず、筋損傷後の新たな治療戦略となりうる可能性を示唆している。

業績目録

原著論文

1. Yague, I., Okada, S., Maeda, K., Ueta, T., Shiba, K. 2018.
Sensitivity and specificity of the knee-up test for estimation of the American Spinal Injury Association Impairment Scale in patients with acute motor incomplete cervical spinal cord injury.
Spinal Cord. 56, 347-354.
2. Baba, S., Matsumoto, Y., Tomari, S., Yasuhara, T., Saiwai, H., Matsushita, A., Yufu, T., Hayashida, M., Okada, S., Kawaguchi, K., Seo, K., Ito, Y., Nakashima, Y. 2018.
Radiological Examination of Postoperative Cervical Alignment and Stability in Patients with Dialysis-associated Spondylosis Excluding Destructive Spondyloarthropathy: Comparison with Patients with Cervical Spondylotic Myelopathy.
Spine Surg Related Res. 2, 202-209.
3. Bekki, H., Harimaya, K., Matsumoto, Y., Kawaguchi, K., Hayashida, M., Okada, S., Doi, T., Nakashima, Y. 2018.
Which Side-Bending X-ray Position is Better to Evaluate the Preoperative Curve Flexibility in Adolescent Idiopathic Scoliosis Patients, Supine or Prone?
Asian Spine J. 12, 632-638.
4. Hara, M., Yokota, K., Saito, T., Kobayakawa, K., Kijima, K., Okazaki, K., Yoshida, S., Matsumoto, Y., Harimaya, K., Nakashima, Y., Okada, S. 2018.
Periostin promotes fibroblast migration and inhibits muscle repair after skeletal muscle injury.
J Bone Joint Surg. 100, e108s.
5. Harada, A., Maehara, K., Ono, Y., Taguchi, H., Hoshioka, K., Kitajima, Y., Xie, Y., Sat, Y., Iwasaki, T., Nogami, J., Okada, S., Komatsu, T., Semba, Y., Takemoto, T., Kimura, H., Kurumizawa, H., Ohkawa, Y. 2018.
Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration.
Nat Commun. 9, 1400.
6. Kawaguchi, K., Harimaya, K., Matsumoto, Y., Hayashida, M., Okada, S., Iida, K., Kato, G., Tsuchiya, K., Doi, T., Oda, Y., Iwamoto, Y., Nakashima, Y. 2018.
Effect of cartilaginous endplates on extruded disc resorption in lumbar disc herniation.
PLoS One. 13, e0195946.
7. Yamada, H., Ozawa, T., Kishi, H., Okada, S., Nakashima, Y., Muraguchi, A., Yoshikai, Y. 2018.
Cutting Edge: B Cells Expressing Cyclic Citrullinated Peptide-Specific Antigen Receptor Are Tolerized in Normal Conditions.

- J Immunol.** 201, 3492-3496.
8. Yokota, K., Kubota, K., Koabayakawa, K., Saito, T., Hara, M., Kijima, K., Maeda, T., Katoh, H., Ohkawa, Y., Nakashima, Y., Okada, S. 2019.
Pathological changes of distal motor neurons after complete spinal cord injury.
Mol Brain, 12, 4.
 9. Saruwatari, J., Dong, C., Utsumi, T., Tanaka, M., McConnell, M., Iwakiri, Y. 2018.
Integrated analysis of microRNA and mRNA expression profiles in splenomegaly induced by non-cirrhotic portal hypertension in rats.
Sci Rep. 20, 17983.
 10. Saiwai, H., Okada, S., Kawaguchi, K., Saito, T., Hayashida, M., Matsushita, A., Matsumoto, Y., Nakashima, Y.
Prone position surgery for a professional sumo wrestler with thoracic ossification of the posterior longitudinal ligament resulting in intraoperative brachial plexus injury by hypertrophic pectoral muscles.
J Clin Neurol. (in press).
 11. Kijima, K., Kubota, K., Hara, M., Kobayakawa, K., Yokota, K., Saito, T., Yoshizaki, S., Maeda, T., Konno, D., Matsumoto, Y., Nakashima, Y., Okada, S.
The acute phase serum zinc concentration is a reliable biomarker for predicting the functional outcome after spinal cord injury.
EBioMedicine. (in press).
 12. Kobayakawa, K., Ohkawa, Y., Yoshizaki, S., Tamaru, T., Saito, T., Kijima, K., Yokota, K., Hara, M., Kubota, K., Matsumoto, Y., Harimaya, K., Ozato, K., Masuda, T., Tsuda, M., Tamura, T., Inoue, K., Egerton, VR., Iwamoto, Y., Nakashima, Y., Okada, S.
Macrophage centripetal migration drives healing process after spinal cord injury.
Science Advances. (in press).

総説

1. Tanaka, M., Iwakiri, Y. 2018.
Lymphatics in the liver.
Curr Opin Immunol. 53, 137-142.
2. 原正光, 岡田誠司, 中島康晴. 2018.
グリア瘢痕の病態と再生医療.
脊椎脊髄ジャーナル. 31, 563-569.

学会発表

1. 岡田誠司, 幸博和, 松下昌史, 林田光正, 川口謙一, 中島康晴 (2018, 5/24 - 5/27).
マウスモデルを用いた黄色靱帯の肥厚メカニズム解析
第 91 回日本整形外科学会学術総会, 神戸.
2. 貴島賢, 岡田誠司, 吉崎真吾, 畑 和宏, 田丸 哲弥, 井浦広貴, 中島康晴 (2018, 10/11 - 10/12).
脊髄損傷急性期における血清亜鉛濃度は運動機能予後を予測する
第 33 回日本整形外科学会基礎学術集会, 奈良.
3. 貴島賢, 岡田誠司, 久保田 健介, 前田 健, 吉崎真吾, 畑 和宏, 田丸 哲弥, 井浦広貴, 中島康晴 (2018, 11/22 - 11/23).
脊髄損傷急性期における血清亜鉛濃度は運動機能予後を予測する
第 53 回日本脊髄障害医学会, 名古屋.
4. 吉崎真吾, 岡田誠司, 原正光, 貴島賢, 畑和宏, 田丸哲弥, 中島康晴 (2018, 10/11 - 10/12).
 $\beta 1$ インテグリン抗体による脊髄損傷後グリア瘢痕形成阻害が損傷部環境とミクログリアの反応に与える影響の解明
第 33 回日本整形外科学会基礎学術集会, 奈良.
5. 畑和宏, 田丸哲弥, 吉崎真吾, 貴島賢, 原正光, 岡田誠司, 中島康晴(2018, 10/11 - 10/12).
間葉系幹細胞培養における血清の非働化の与える影響
第 33 回日本整形外科基礎学術総会, 奈良.
6. Daijiro Konno and Fumio Matsuzaki (2018, 5/22 - 5/25).
Dmrt transcription factors orchestrate the cerebral cortical development via integrating positional information in neural progenitors
22nd Biennial Meeting of the International Society of Developmental Neuroscience, Nara, Japan.
7. Masatake Tanaka, Teruo Utsumi, Junji Saruwatari, Pengpeng Zhang, Manuel Morales-Ruiz, Yasuko Iwakiri (2018, 11/9 - 11/13).
The sympathetic nervous system is a novel regulator of hepatic lymphangiogenesis in portal hypertension.
69th The Liver Meeting of American Association for Study of Liver Disease, San Francisco, USA.