

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蛋白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（14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2名、研究補助員4名、事務員1名）の体制で研究を進めてきた。

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2001年4月より高橋秀尚（九大・医）、西山正章（九大・医・三内）、神武洋二郎（九大・農修）、奥村文彦（九大・薬修）が入学し、また鍵本忠尚（九大・医）が M.D., Ph.D. コースの学生として研究に参加している。さらに松本雅記（前年度まで非常勤研究員）が日本学術振興会特別研究員として、また Abbas Fotovati（前年度まで訪問研究員）が日本学術振興会海外特別研究員として2001年4月より参加している。

次いで退職者として2002年3月末で大学院生の南嶋洋司、池辺千穂、丸山俊一郎が学位取得の上卒業した。宮本顕友は単位取得退学の後、6月に学位を取得した。また鍵本忠尚は2002年3月末にて M.D., Ph.D. コースを自主退学している。

1997年11月より当研究室は科学技術振興事業団（JST）による戦略的基礎研究推進事業（CREST）の支援を受けることとなり、研究員として石田典子（2001年4月より）、山中篤志（2001年4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）を、事務員として木村美保子（継続）、パートとして杉田知栄子（2002年1月より）を JST 派遣職員として受け入れている。山中篤志と木村美保子は2002年3月末をもって退職した。

A. 新規ユビキチンリガーゼファミリーU-box タンパク質の発見

ユビキチンリガーゼ（E3）はユビキチン化を触媒する複合酵素系の最終段階を制御する酵素で、基質特異性を決定している重要な因子である。現在までにユビキチンリガーゼには大別して HECT ドメインを有する HECT 型ユビキチンリガーゼと RING-finger ドメインを有する RING 型ユビキ

チンリガーゼが知られていた。近年、ユビキチン化に関わる第4の因子としてユビキチン鎖伸長因子 (E4) が同定され、その機能ドメインとして U-box ドメインが同定されていたが、構造シミュレーションの結果から、RING-finger ドメインと U-box ドメインは構造的に類似していることが示唆された。そこでわれわれは、哺乳類のデータベースから U-box ドメインを持つ6種類のタンパク質を発見し、クローニングした。これらは全てユビキチン活性化酵素 (E1)、ユビキチン結合酵素 (E2) の存在下で非特異的基質ライセートのポリユビキチン化を引き起こしたことから、ユビキチンリガーゼ (E3) 活性を有することが明らかとなった。これら6種類の U-box タンパク質は異なる E2 要求性を示した。U-box 型 E3 は RING 型 E3 と構造が似ているものの、RING 型 E3 が Zn を活性に要求するのに対し、U-box 型 E3 は Zn 等を必要としないことが明らかとなった。U-box 型 E3 は、HECT 型や RING 型と同じく自己ユビキチン化を起こす活性があることが判明した。さらに興味深いことに、通常の E3 はユビキチンの48番目のリジンに別のユビキチン分子を結合させることによってポリユビキチン鎖を形成するが、U-box 型 E3 のうちいくつかはそののリジン残基を用いてポリユビキチン鎖を形成する能力があることがわかった。これらの生化学的研究によって U-box 型 E3 は他の E3 ファミリーにはない特徴を有する独立したファミリーであることが明らかとなった。

B. Skp2 非依存的な p27^{Kip1} ユビキチン化経路の発見

細胞周期研究において最も謎の多い点の一つに G₀ 期への移行と脱出のメカニズムがある。G₀ 期は細胞が細胞周期から脱却し、静止・分化・老化・死に移行するためのステージであり、細胞 (例えばリンパ球等) によっては再び G₁ 期へ進入して細胞増殖サイクルに入ることができると信じられている。われわれはリンパ球の活性化時における G₀ 期から G₁ 期への移行を解析したところ、最も顕著に増減する因子はサイクリン D₂ と p27^{Kip1} であった。特に p27^{Kip1} は急速に発現量が減少する。p27^{Kip1} の発現量の減少は今まで SCF 複合体型ユビキチンリガーゼ SCF^{Skp2} によるユビキチン化に依存するものと信じられてきたが、われわれは Skp2 ノックアウトマウスを作製して、そのリンパ球の活性化時における p27^{Kip1} の分解を検討したところ、G₀-G₁ 移行期における p27^{Kip1} の減少は Skp2 が存在しなくとも全く正常に起こることがわかった。その後の解析によって、p27^{Kip1} の分解には G₀-G₁ 期に起こる早期分解と S-G₂ 期に起こる後期分解があることを生化学的に突き止めた。Skp2 ノックアウトマウスでは p27 の後期分解のみが傷害されていたが、その早期分解は正常に起こることから、SCF^{Skp2} は p27^{Kip1} の後期分解のみを司ることが判明した。プロテアソーム特異的阻害剤を用いた研究から、この早期分解もユビキチン・プロテアソーム系を介していることが示された。そこで我々は p27 の試験管内におけるユビキチン化システムを構築し、この早期分解に関わる因子が細胞質内にあることを突き止めた。それに対して Skp2 依存的な後期分解の活性は核内にある。われわれは現在この早期分解に関わる因子を細胞抽出液より精製して、その単離同定を試みている。

C. 線虫 *C. elegans* における Skp1 ファミリーの発見と機能解析

SCF 複合体は酵母からヒトまで基本構造がよく保存されたユビキチンリガーゼ (E3) 複合体であり、その特徴は基質結合モジュールである F-box タンパク質が多数存在して、可変であることである。それに対して中心コンポーネントである Skp1, Cul1, Rbx1 にはあまり多様性がないことが知られていた。ヒトでは機能的な Skp1 は 1 つしかないと言われている。われわれは線虫 *C. elegans* のゲノムデータベースから Skp1 に類似した分子群を 21 種類発見し、これらを Skp1 類似遺伝子 (*skr*) と命名した。その機能解析を行うために、まず各々の SKR タンパク質が Cul ファミリー分子や F-box タンパク質に結合するかどうかを検討した。この結果、Cul1 には SKR-1, -2, -3, -4, -7, -8, -9, -10 が結合すること、F-box タンパク質に対してはその種類によって結合様式が異なることが示された。さらに SKR の組織特異性についてもトランスジェニック動物を作製することによって解析を行い、SKR-1 は全身に、SKR-2 は腸管に発現していることがわかった。SKR-3 は咽頭部と腸管に、SKR-4 は腸管のみに発現していた。SKR-7 は胎生期のみ全身で発現が見られたが、成長と共に発現は消失した。SKR-8, -9, -10 は腸管の両端のみに発現を認めた。さらに機能解析を行うために、RNA 干渉法 (RNAi) を用いて遺伝子ノックダウンを行った。その結果、*skr-1* と *skr-2* の RNAi は致死となり、個体発生初期で停止したが、*skr-7, -8, -9, -10* の RNAi は成長が抑制され、形態形成の異常を認めた。それ以外の *skr* の RNAi では特に変化を認めなかった。これらの結果は、線虫においては Skp1 は遺伝子重複によって多数の類似体が出現し、それが結合特性、発現パターン、機能面において多様性を獲得していることが明らかとなった。

業績目録

原著論文

1. Kamizono, S., Hanada, T., Yasukawa, H., Minoguchi, S., Kato, R., Minoguchi, M., Hattori, K., Hatakeyama, S., Yada, M., Morita, S., Kitamura, T., Kato, H., Nakayama, K.-I., Yoshimura, A. 2001.
The SOCS box of SOCS-1 accelerates ubiquitin-dependent proteolysis of TEL-JAK2.
J. Biol. Chem. 276, 12530-12538.
2. Sato, N., Mizumoto, K., Nakamura, M., Maehara, N., Minamishima, Y. A., Nishio, S., Nagai, E., Tanaka, M. 2001.
Correlation between centrosome abnormalities and chromosomal instability in human pancreatic cancer cells.

- Cancer Genet. Cytogenet. 126, 13-19.
3. Kamura, T., Burian, D., Khalili, H., Schmidt, S. L., Sato, S., Liu, W. J., Conrad, M. N., Conaway, R. C., Conaway, J. W., Shilatifard, A. 2001.
Cloning and characterization of ELL-associated proteins EAP45 and EAP20 - A role for yeast EAP-like proteins in regulation of gene expression by glucose.
J. Biol. Chem. 276, 16528-16533.
 4. Ageta, H., Kato, A., Hatakeyama, S., Nakayama, K.-I., Isojima, Y., Sugiyama, H. 2001.
Regulation of the level of Vesl-1S/Homer-1a proteins by ubiquitin-proteasome proteolytic systems.
J. Biol. Chem. 276, 15893-15897.
 5. Morishita, H., Makishima, T., Kaneko, C., Lee, Y. S., Segil, N., Takahashi, K., Kuraoka, A., Nakagawa, T., Nabekura, J., Nakayama, K., Nakayama, K.-I. 2001.
Deafness due to degeneration of cochlear neurons in caspase-3-deficient mice.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 284, 142-149.
 6. Hatakeyama, S., Yada, M., Matsumoto, M., Ishida, N., Nakayama, K.-I. 2001.
U box proteins as a new family of ubiquitin-protein ligases.
J. Biol. Chem. 276, 33111-33120.
 7. Kamura, T., Burian, D., Yan, Q., Schmidt, S. L., Lane, W. S., Querido, E., Branton, P. E., Shilatifard, A., Conaway, R. C., Conaway, J. W. 2001.
Muf1, a novel Elongin BC-interacting leucine-rich repeat protein that can assemble with Cul5 and Rbx1 to reconstitute a ubiquitin ligase.
J. Biol. Chem. 276, 29748-29753.
 8. Shono, M., Sato, N., Mizumoto, K., Minamishima, Y. A., Nakamura, M., Maehara, N., Urashima, T., Saimura, M., Qian, L., Nishio, S., Nagai, E., Tanaka, M. 2001.
Effect of serum depletion on centrosome overduplication and death of human pancreatic cancer cells after exposure to radiation.
Cancer Lett. 170, 81-89.
 9. Ikeda, H., Yoshimoto, T., Shida, N., Miyoshi, I., Nakayama, K., Nakayama, K.-I., Oshima, M., Taketo, M. M. 2001.
Morphologic and molecular analysis of estrogen-induced pituitary tumorigenesis in targeted disruption of transforming growth factor-beta receptor type II and/or p27 mice.
Endocrine 16, 55-65.

10. Kiernan, R. E., Emiliani, S., Nakayama, K., Castro, A., Labbe, J. C., Lorca, T., Nakayama, K.-I., Benkirane, M. 2001.
Interaction between Cyclin T1 and SCF^{SKP2} targets CDK9 for ubiquitination and degradation by the proteasome.
Mol. Cell. Biol. 21, 7956-7970.
11. Maruyama, S., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Ishida, N., Kawakami, K., Nakayama, K.-I. 2001.
Characterization of a mouse gene (*Fbxw6*) that encodes a homologue of *Caenorhabditis elegans* SEL-10.
Genomics 78, 214-222.
12. Hara, T., Kamura, T., Nakayama, K., Oshikawa, K., Hatakeyama, S., Nakayama, K.-I. 2001.
Degradation of p27^{Kip1} at the G₀-G₁ transition mediated by a Skp2-independent ubiquitination pathway.
J. Biol. Chem. 276, 48937-48943.
13. Doira, N., Kanematsu, T., Matsuda, M., Takeuchi, H., Nakano, H., Ito, Y., Nakayama, K., Nakayama, K.-I., Hirata, M. 2001.
Hyperinsulinemia in *PRIP-1* gene deleted mice.
Biomed. Res. 22, 157-165.
14. Xiang, Z., Ahmed, A. A., Moller, C., Nakayama, K.-I., Hatakeyama, S., Nilsson, G. 2001.
Essential role of the prosurvival bcl-2 homologue A1 in mast cell survival after allergic activation.
J. Exp. Med. 194, 1561-1569.
15. Murillas, R., Simms, K. S., Hatakeyama, S., Weissman, A. M., Kuehn, M. R. 2002.
Identification of developmentally expressed proteins that functionally interact with Nedd4 ubiquitin ligase.
J. Biol. Chem. 277, 2897-2907.
16. Ikebe, C., Kominami, K.-I., Toda, T., Nakayama, K.-I. 2002.
Isolation and Characterization of a Novel F-Box Protein Pof10 in Fission Yeast.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 290, 1399-1407.
17. Yamanaka, A., Yada, M., Imaki, H., Koga, M., Ohshima, Y., Nakayama, K.-I. 2002.
Multiple Skp1-Related Proteins in *Caenorhabditis elegans*. Diverse Patterns of Interaction with Cullins and F-Box Proteins.

- Curr. Biol. 12, 267-275.
18. Minamishima, Y. A., Nakayama, K., Nakayama, K.-I. 2002.
Recovery of liver mass without proliferation of hepatocytes after partial hepatectomy in Skp2-deficient mice.
Cancer Res. 62, 995-999.
 19. Yoshida, K., Nakayama, K., Nagahama, H., Harada, T., Harada, C., Imaki, J., Matsuda, A., Yamamoto, K., Ito, M., Ohno, S., Nakayama, K.-I. 2002.
Involvement of p27^{KIP1} degradation by Skp2 in the regulation of proliferation in response to wounding of corneal epithelium.
Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 43, 364-370.
 20. Kanematsu, T., Jang, I. S., Yamaguchi, T., Nagahama, H., Yoshimura, K., Hidaka, K., Matsuda, M., Takeuchi, H., Misumi, Y., Nakayama, K., Yamamoto, T., Akaike, N., Hirata, M., Nakayama, K.-I. 2002.
Role of the PLC-related, catalytically inactive protein p130 in GABA_A receptor function.
EMBO J. 21, 1004-1011.
 21. Shimoda, K., Tsutsui, H., Aoki, K., Kato, K., Matsuda, T., Numata, A., Takase, K., Yamamoto, T., Nukina, H., Hoshino, T., Asano, Y., Gondo, H., Okamura, T., Okamura, S., Nakayama, K.-I., Nakanishi, K., Niho, Y., Harada, M. 2002.
Partial impairment of interleukin-12 (IL-12) and IL-18 signaling in Tyk2-deficient mice.
Blood 99, 2094-2099.

総説

1. Nakayama, K.-I., Hatakeyama, S., Nakayama, K. 2001.
Regulation of the cell cycle at the G₁-S transition by proteolysis of cyclin E and p27^{Kip1}.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 282, 853-860.
2. 石田典子, 中山敬一. 2001.
ユビキチン.
分子細胞治療 2, 414-415.
3. 押川清孝, 中山敬一. 2001.
TAP システムを用いたタンパク質複合体解析法.
細胞工学 20, 1420-1427.

4. 畠山鎮次. 2001.
ユビキチン-プロテアソーム系と神経変性疾患.
細胞工学 20, 1514-1525.
5. 中山啓子, 中山敬一. 2002.
ヒトに最も近いモデル生物-マウス.
細胞工学 21, 31-36.
6. 中山敬一. 2002.
細胞周期研究: 2つの大河の合流点.
実験医学「細胞周期: サイクリンの発見から 20年」 20, 520-525.
7. 中山啓子, 中山敬一. 2002.
CDK インヒビター-p27^{Kip1} のタンパク質分解による制御機構.
実験医学「細胞周期: サイクリンの発見から 20年」 20, 526-531.

学会発表

1. 中山敬一 (2001, 4/28) .
細胞の増殖と非増殖: 神経細胞はなぜ増殖しないか?. (シンポジウム)
「脳を知る」・「脳を守る」合同シンポジウム, 京都.
2. 畠山鎮次, 中道郁夫, 中山敬一 (2001, 4/28) .
タウ蛋白キナーゼ CDK5 の活性調節因子 Cable-1 および Cable-2 の同定.
「脳を知る」・「脳を守る」合同シンポジウム, 京都.
3. 嘉村巧, Conaway, R. C., Conaway, J. W., 中山敬一 (2001, 4/28) .
VHL ユビキチンリガーゼ複合体の機能解析: Rbx1 の発見.
「脳を知る」・「脳を守る」合同シンポジウム, 京都.
4. 白根道子, 中山敬一 (2001, 4/28) .
Bcl-2 結合蛋白質 FKBP38 による抗アポトーシス作用の分子細胞生物学的解析.
「脳を知る」・「脳を守る」合同シンポジウム, 京都.
5. 松本雅記, 矢田雅佳, 畠山鎮次, 北川雅敏, 中山敬一 (2001, 4/28) .
Machado-Joseph 病の原因遺伝子産物 MJD1 の分解に関与する因子の同定.
「脳を知る」・「脳を守る」合同シンポジウム, 京都.
6. Hatakeyama, S., Yada, M., Matsumoto, M., Ishida, N., Nakayama, K.-I. (2001, 5/3) .
U-box proteins: A novel family of ubiquitin protein ligase.
Cold Spring Harbor Symposium "Proteolysis & Biological Control", Cold Spring Harbor, NY.

7. Matsumoto, M., Yada, M., Hatakeyama, S., Kitagawa, M., Nakayama, K.-I. (2001, 5/4) .
 UFD2a, a mammalian ubiquitin-chain assembly factor (E4), promotes ubiquitination and degradation of the polyglutamine-containing protein, Machado-Joseph disease protein 1.
 Cold Spring Harbor Symposium "Proteolysis & Biological Control", Cold Spring Harbor, NY.
8. Nakayama, K., Nagahama, H., Kitagawa, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K.-I. (2001, 5/4) .
 Regulation of the cell cycle at the G1-S transition by proteolysis of cyclin E and p27Kip1.
 Cold Spring Harbor Symposium "Proteolysis & Biological Control", Cold Spring Harbor, NY.
9. Shirane, M., Nakayama, K.-I. (2001, 5/4) .
 FKBP38, an inherent inhibitor of calcineurin, is regulated by ubiquitin-proteasome pathway.
 Cold Spring Harbor Symposium "Proteolysis & Biological Control", Cold Spring Harbor, NY.
10. Yada, M., Hatakeyama, S., Ishida, N., Nakayama, K., Nakayama, K.-I. (2001, 5/4) .
 Different fashion of recognition by Skp2 for p27Kip1 and cyclin E.
 Cold Spring Harbor Symposium "Proteolysis & Biological Control", Cold Spring Harbor, NY.
11. 中山敬一, 嘉村巧, 原太一, 畠山鎮次, 中山啓子 (2001, 9/26) .
 ユビキチンリガーゼ群ノックアウトマウスによる生体機能の解析：特に細胞周期研究を中心として。(シンポジウム)
 第60回日本癌学会総会, 横浜.
12. 増田隆明, 山下継史, 園田英人, 峯真司, 中山啓子, 中山敬一, 井上裕, 森正樹 (2001, 9/26) .
 胃癌におけるユビキチンリガーゼ SCF^{Skp2} の発現とその意義.
 第60回日本癌学会総会, 横浜.
13. 中山敬一, 嘉村巧, 原太一, 畠山鎮次, 中山啓子 (2001, 10/26) .
 静止期から増殖期へ：p27分解に関わる二つのユビキチンリガーゼ。(シンポジウム)
 第74回日本生化学会大会, 京都.
14. 畠山鎮次, 矢田雅佳, 松本雅記, 石田典子, 中山敬一 (2001, 10/28) .

- 新規ユビキチンリガーゼ, U-ボックス蛋白質の同定と生化学的解析. (シンポジウム)
第74回日本生化学会大会, 京都.
15. 松本雅記, 矢田雅佳, 畠山鎮次, 北川雅敏, 中山敬一 (2001, 10/28).
Machado-Joseph 病の原因遺伝子産物 MJD1 の分解に関与する因子の同定. (シンポジウム)
第74回日本生化学会大会, 京都.
16. 兼松隆, 中山敬一, 平田雅人 (2001, 10/28).
GABA_A 受容体情報伝達に関わる新しい分子の発見.
第74回日本生化学会大会, 京都.
17. Nakayama, K.-I., Hara, T., Kamura, T., Nagahama, H., Hatakeyama, S., Nakayama, K. (2001, 11/30).
Regulation of the cell cycle by proteolysis of p27^{Kip1}. (Invited speaker)
16th Workshop on France-Japan Cooperative Cancer Research Program, Kyoto, Japan.
18. 中山敬一, 嘉村巧, 原太一, 畠山鎮次, 中山啓子 (2001, 12/10).
G0 期から G1 期の移行メカニズム: p27 の新たな分解機構. (シンポジウム)
第24回日本分子生物学会年会, 横浜.
19. 金子千恵, 畠山鎮次, 矢田雅佳, 中山啓子, 中山敬一 (2001, 12/10).
マウス U-ボックス型ユビキチンリガーゼ UFD2a のゲノム DNA のスクリーニングとその解析.
第24回日本分子生物学会年会, 横浜.
20. 中道郁夫, 畠山鎮次, 中山敬一 (2001, 12/10).
マロリー小体をつくる: ケラチン18の発現異常による細胞内凝集体形成と細胞死.
第24回日本分子生物学会年会, 横浜.
21. 池辺千穂, 小南欽一郎, 中山敬一 (2001, 12/11).
分裂酵母における Skp1 と結合する新規 F-box 蛋白質の同定.
第24回日本分子生物学会年会, 横浜.
22. 畠山鎮次, 矢田雅佳, 松本雅記, 石田典子, 中山敬一 (2001, 12/11).
新規ユビキチンリガーゼ, U-ボックス蛋白質群の同定と生化学的解析.
第24回日本分子生物学会年会, 横浜.
23. 原太一, 嘉村巧, 中山啓子, 押川清孝, 畠山鎮次, 中山敬一 (2001, 12/11).
G0-G1 期における Skp2 非依存性 p27Kip1 分解システムの解明.
第24回日本分子生物学会年会, 横浜.
24. 南嶋洋司, 中山啓子, 中山敬一 (2001, 12/11).

- Skp2 ノックアウトマウスにおける肝再生：量による数の代償。
第 24 回日本分子生物学会年会，横浜。
25. 今木裕幸，中山啓子，半田宏，中山敬一（2001，12/11）。
プロモーター解析による Skp2 遺伝子発現制御の研究。
第 24 回日本分子生物学会年会，横浜。
26. 白根道子，中山敬一（2001，12/11）。
カルシニューリン阻害分子 FKBP による Bcl-2 のミトコンドリア移行及びアポトーシス抑制。
第 24 回日本分子生物学会年会，横浜。
27. 松本雅記，矢田雅佳，畠山鎮次，北川雅敏，中山敬一（2001，12/12）。
ポリユビキチン化促進因子 UFD2 はマシャド・ジョセフ病原遺伝子産物 MJD1 の分解を促進する。
第 24 回日本分子生物学会年会，横浜。
28. 矢田雅佳，松本雅記，畠山鎮次，石元広志，谷村禎一，中山敬一（2001，12/12）。
ショウジョウバエにおけるポリグルタミン病モデルに対するユビキチン鎖伸長因子 UFD2a の抑制的効果。
第 24 回日本分子生物学会年会，横浜。
29. Nakayama, K., Miyamoto, A., Imaki, H., Hatakeyama, S., Nakayama, K.-I.（2001，12/14）。
Increased proliferation of B cells and autoimmune disease in protein kinase-delta-deficient mice. (Invited speaker)
The 11th Hot Spring Harbor Symposium "Frontier of Molecular and Cellular Biology", Fukuoka, Japan.
30. 中山敬一，松本雅記，矢田雅佳，畠山鎮次（2002，1/26）。
Mechanism for ubiquitination-dependent degradation of polyglutamine disease protein. (招待講演)
第 2 回九州脳シンポジウム，福岡。
31. Nakayama, K.-I.（2002，1/30）。
Regulation of the cell cycle by proteolysis of p27Kip1. (Invited speaker)
The use of animal models in cancer research, Maui, HI.
32. 中山敬一（2002，3/1）。
細胞周期エンジンの始動に必要なブレーキ解除メカニズム。(招待講演)
先端技術によるゲノム創薬シンポジウム，山口。
33. Nakayama, K.-I.（2002，3/5）。

Mechanisms to control degradation of polybutamine-containing protein .

(Invited speaker)

COE International Symposium on Recent Advances in Research for Neurodegeneration, Tokyo, Japan.

増殖分化制御学分野

Division of Biochemistry and Molecular Biology

広く細胞は様々な外的刺激に対して、多様な応答反応を起こす。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・分子生物学的手法及び構造生物学者とのコラボレーションによりすすめている。さらには、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、2002年4月1日より奥田篤行助教授が九州産業大学工学部教授に栄転した。

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、病原性微生物の食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の活性化機構を中心に研究を行ない、2001年度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、 $p47^{phox}$ SH3 ドメインと $p22^{phox}$ 細胞質領域 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]。 $p47^{phox}$ 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博士 (北大薬) との共同研究により進行中である。

b. $p47^{phox}$ と $p67^{phox}$ の結合

$p67^{phox}$ 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かにした [印刷中] .

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, 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, これら新規なドメインが酵母のシグナル伝達蛋白質 (Cdc24p と Bem1p) にも存在し, 酵母のシグナル伝達においても重要な役割を担うことも明らかにした [Ito *et al.*, 2001] . 同時に稲垣冬彦博士との共同研究より, Bem1p の PB1 ドメインの3次構造決定に成功した [Terasawa *et al.*, 2001] . p40^{phox} の役割は今まで不明だったが, 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 [投稿中] .

d. PX/PB2 ドメイン

私共は p47^{phox} と p40^{phox} (オキシダーゼの調節因子) の N 末領域に新規ドメインを見い出していたが (PX/PB2 ドメイン), 神田大輔博士 (BERI) との共同研究により, p47^{phox} PX ドメインの3次構造を決定するとともに, 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した [Hiroaki *et al.*, 2001; Ago *et al.*, 2001] . また p47^{phox} と p40^{phox} の PX ドメインが共に 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 [投稿中] .

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. この NADPH 結合ドメインのホモロジー検索から得た EST をもとにヒト腎 cDNA library を screening し, 新規 gp91^{phox} ホモログ (NOX4 と命名) をクローニングした. 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 [Shiose *et al.*, 2001] . 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い出している [投稿準備中] .

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, この3者複合体が membrane ruffle に局在すること等を明らかにした [Noda *et al.*, 2001] . また, 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ている [投稿準備中] . また, aPKC や PAR6 と結合する PAR3 のヒト新規ホモログ (PAR3 β と命名) をクローニングし, PAR3

β が tight junction に局在すること等を見い出している [投稿準備中] .

D. 新規ホスホリパーゼ A₂ の同定

カルシウム非依存性のアラキドン酸遊離に関与する新規な膜結合型細胞内ホスホリパーゼ A₂ (iPLA₂-2 と命名) を同定し, そのヒト cDNA をクローニングしていたが, 2001 年度は, iPLA₂-2 は C 末に触媒ドメイン, N 末に調節ドメインをもつことを示し, その細胞内局在を明らかにした [投稿準備中] .

E. 新規 formin 関連蛋白質 Formactin1 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, 1164 個のアミノ酸からなる新規ヒト formin 相同蛋白質 Formactin1 をクローニングした. Formactin1 を COS-7 細胞に強制発現させると一部は細胞辺縁のラフリング膜に集積するのが観察された. HeLa 細胞を用いた強制発現系では, C 末端の欠失体 (アミノ酸 1-1053) が著明な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とを見出した. そこでアクチン線維との結合能を考え, Formactin1 の大腸菌組み換え蛋白質を用いたアクチン線維との共沈実験により検討した結果, Formactin1 は FH1 ドメインより N 末の領域 (アミノ酸 1-569) で in vitro で直接のアクチン線維結合能があることを明らかにした. formin ファミリーの蛋白質で, 直接アクチン線維に作用するものはこれまで報告されておらず, アクチン線維との結合が, アクチン細胞骨格系の制御において同ファミリーの中でも Formactin1 に特異的な機能の発現に関わっていると考えられる [投稿中] .

業績目録

原著論文

1. Shiose, A., Kuroda, J., Tsuruya, K., Hirai, M., Hirakata, H., Naito, S., Hattori, M., Sakaki, Y., and Sumimoto, H. 2001.
A Novel Superoxide-producing NAD(P)H Oxidase in Kidney .
J. Biol. Chem. 276, 1417-1423.
2. Noda, Y., Takeya, R., Ohno, S., Naito, S., Ito, T., and Sumimoto, H. 2001.
Human homologues of the *Caenorhabditis elegans* cell polarity protein PAR6 as an adaptor that links the small GTPases Rac and Cdc42 to atypical protein kinase C.
Genes Cells 6, 107-119.

3. Hiroaki, H., Ago, T., Ito, T., Sumimoto, H., and Kohda, D. 2001.
Solution structure of the PX domain, a target of the SH3 domain.
Nature Struct. Biol. 8, 526-530.
4. Nosaka, Y., Arai, A., Kanda, E., Akasaki, T., Sumimoto, H., Miyasaka, N., and Miura, O. 2001. Rac Is Activated by Tumor Necrosis Factor α and Is involved in Activation of Erk.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 285, 675-679.
5. Ito, T., Matsui, Y., Ago, T., Ohta, K., and Sumimoto, H. 2001.
Novel modular domain PBI recognizes PC motif to mediate functional protein-protein interactions.
EMBO J. 20, 3938-3946.
6. Terasawa, H., Noda, Y., Ito, T., Hatanaka, H., Ogura, K., Sumimoto, H., and Inagaki, F. 2001.
Structure and ligand recognition of the PBI domain: a novel protein module capable of binding PC motif-containing protein.
EMBO J. 20, 3947-3956.
7. Ago, T., Takeya, R., Hiroaki, H., Kuribayashi, F., Ito, T., Kohda, D., and Sumimoto, H. 2001.
The PX Domain as a Novel Phosphoinositide-Binding Module.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 287, 733-738.
8. Ponting, C., Ito, T., Moscat, J., Diaz-Meco, M. T., Inagaki, F., and Sumimoto, H. 2002.
OPR, PC and AID: all in the PBI domain.
Trends. Biochem. Sci. 27, 10.
9. 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., in press.
10. 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., in press.
11. 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., in press
12. 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.*, in press.

13. Ago, T., Kuribayashi, F., Hiroaki, H., Takeya, R., Ito, T., Kohda, D., and Sumimoto, H. 2002.

Phosphorylation of p47^{phox} directs PX domain from SH3 domain towards phosphoinositides, leading to activation of the phagocyte NADPH oxidase.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, in press.

総説

1. 塩瀬 明, 住本 英樹. 2001.
好中球における活性酸素産生機構とそのシグナル伝達.
血液フロンティア 11, 6, pp.19-29.
2. 神田 大輔, 住本 英樹, 稲垣 冬彦. 2001
複数の蛋白質ドメインの協調に基づく機能調節 活性酸素生成を例として.
蛋白質 核酸 酵素 46, 11, pp1726-1731.

学会発表

1. Sumimoto, H. (2001, 6/10- 6/15)
Role of the PX domain of p47^{phox} in activation of the phagocyte NADPH oxidase. (Invited Speaker)
Gordon Conference on Phagocytes, New London, CN, USA.
2. 住本 英樹. (2001,5/21)
新しい食細胞活性酸素産生 NAD(P)H Oxidase: NOX ファミリーの役割.
第11回国立感染研究所シンポジウム「感染と生体防御: Innate Immunity の意義」,
東京.
3. 住本 英樹.(2001, 6/1- 6/3)
シンポジウム「分子細胞生物学と構造生物学の融合」
SHドメイン: 古い構造に新しい機能—分子生物学からのアプローチ.
第1回日本蛋白質科学会年会, 大阪.
4. 廣明 秀一, 伊藤 隆司, 住本 英樹, 神田 大輔.(2001, 6/1- 6/3)
PXドメインによるイノシトールリン酸の分子認識機構.
第1回日本蛋白質科学会年会, 大阪.

5. 紙 圭一郎, 住本 英樹, 神田 大輔.(2001, 6/1- 6/3)
p67^{phox}C 末端 SH3 ドメインと p47^{phox}C 末端領域ペプチド複合体の立体構造解析.
第1回日本蛋白質科学会年会, 大阪.
6. 寺沢 宏明, 野田 祐紀子, 伊藤 隆司, 畠中 秀樹, 市川 さおり, 小椋 賢治, 住本 英樹, 稲垣 冬彦.(2001, 6/1- 6/3)
PB1 domain と PC motif- containing region: タンパク質間相互作用において機能する新規な構造ドメイン.
第1回日本蛋白質科学会年会, 大阪.
7. 田中 玄紀, 住本 英樹.(2001, 10/25- 10/28)
ヒトカルシウム非依存性ホスホリパーゼ A₂ (iPLA₂-2)の構造と機能.
第74回日本生化学会大会, 京都.
8. 野田 祐紀子, 武谷 立, 大野 茂男, 内藤 誠二, 伊藤 隆司, 住本 英樹.(2001, 10/25- 10/28)
ヒト PAR6 ホモログは Rac および Cdc42 と aPKC ι/λ を link するアダプターである.
第74回日本生化学会大会, 京都.
9. 武谷 立, 住本 英樹.(2001, 10/25- 10/28)
Formin 相同蛋白質 p127 の F-アクチン結合能.
第74回日本生化学会大会, 京都.
10. 金谷 英樹, 武谷 立, 住本 英樹.(2001, 10/25- 10/28)
2つのマウス p127 ホモログのクローニングと発現.
第74回日本生化学会大会, 京都.
11. 塩瀬 明, 住本 英樹(2001, 10/25- 10/28)
シンポジウム「自然免疫における分子認識と細胞応答」
無細胞系でのホスファチジン酸による食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化.
第74回日本生化学会大会, 京都.
12. 栗林 太, 住本 英樹.(2001, 10/25- 10/28)
スーパーオキシド生成型好中球 NADPH オキシダーゼの活性化における P40^{phox} の役割.
第74回日本生化学会大会, 京都.
13. 黒田 淳哉, 住本 英樹.(2001, 10/25- 10/28)
シンポジウム「血管機能のレドックス制御機構」
血管内皮細胞における O₂⁻生成型 NAD(P)H オキシダーゼ NOX4 の発現.
第74回日本生化学会大会, 京都.
14. 吉田 慎一, 野田 展生, 小椋 賢治, 横地 政志, 湯沢 聡, 堀内 正隆, 川村 多聞, 森岡 弘志, 住本 英樹, 稲垣 冬彦.(2001, 10/25- 10/28)
食細胞 NADPH Oxidase の活性化に必須である TPR ドメイン(N-p67^{phox})と Rac との相互作用-

NMRによる解析ー。

第74回日本生化学会大会, 京都.

15. 吾郷 哲朗, 栗林 太, 廣明 秀一, 武谷 立, 神田 大輔. (2001, 12/9- 12/12)
ワークショップ「リン脂質シグナリングと細胞機能」
蛋白質リン酸化による PX ドメインと phosphoinositides の結合の制御機構ー食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化における PX ドメインの役割ー。
第24回日本分子生物学会, 横浜.
16. 塩瀬 明, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
ホスファチジン酸は p47^{phox} の構造変化を誘導し食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化する。
第24回日本分子生物学会, 横浜.
17. 栗林 太, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
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における p40^{phox} の役割
第24回日本分子生物学会, 横浜.
18. 黒田 淳哉, 鍋倉 淳一, 上野 剛, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
NAD(P)H オキシダーゼ NOX4 の血管内皮細胞における発現と機能。
第24回日本分子生物学会, 横浜.
19. 石本 憲司, 菊池 紗綾, 森岡 弘志, 栗林 太, 住本 英樹, 寺沢 宏明, 稲垣 冬彦. (2001, 12/9- 12/12)
食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化に必要な p67^{phox}/p47^{phox} 最小ドメイン融合タンパク質の作製とその機能。
第24回日本分子生物学会, 横浜.
20. 田中 玄紀, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
ヒトカルシウム非依存性ホスホリパーゼ A₂(iPLA₂-2)の構造と活性。
第24回日本分子生物学会, 横浜.
21. 野田 展生, 吉田 慎一, 西田 元彦, 武谷 立, 住本 英樹, 稲垣 冬彦. (2001, 12/9- 12/12)
食細胞 NADPH Oxidase の細胞質因子 p67^{phox} の TPR ドメインの x 線血しょう構造解析。
第24回日本分子生物学会, 横浜.
22. 紙 圭一郎, 武谷 立, 住本 英樹, 神田 大輔. (2001, 12/9- 12/12)
p67^{phox} C 末端 SH3 ドメインと p47^{phox} C 末端領域ペプチド複合体の立体構造解析
第24回日本分子生物学会, 横浜.
23. 吉永 壮佐, 寺沢 宏明, 野田 祐紀子, 横地 政志, 小椋 賢治, 住本 英樹, 稲垣 冬彦. (2001, 12/9- 12/12)
PC motif-containing region (PCCR)の立体構造と PB1 ドメイン認識機構。
第24回日本分子生物学会, 横浜.

24. 武谷 立, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
Characterization of p127, a forming homologous protein.
第 24 回日本分子生物学会, 横浜.
25. 金谷 英樹, 武谷 立, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
formin 相同蛋白質 p127 の 2 つのマウスホモログ.
第 24 回日本分子生物学会, 横浜.
26. 野田 祐紀子, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
ヒト PAR6 の alternative splicing form のクローニング.
第 24 回日本分子生物学会, 横浜.
27. 国府島 庸之, 住本 英樹. (2001, 12/9- 12/12)
新規ヒト PAR3 相同蛋白質 PAR3 β の cDNA クローニング.
第 24 回日本分子生物学会, 横浜.
28. 栗林 太, 住本 英樹. (2001, 12/10- 12/11)
ワークショップ「食細胞と自然免疫」
活性酸素生成型食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化における p40^{phox} の役割.
第 29 回日本臨床免疫学会総会, 京都.

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）癌の基礎的研究，（２）癌の遺伝子診断法の確立，（３）新しい治療法の開発，を研究の３つの柱と位置づけ研究を推進している。平成13年9月に大学院生，山下継史がジョンスホプキンス大学，14年1月には研究生，松山 歩がトーマスジェファーソン大学へそれぞれ留学した。また14年3月に助手，渋谷健二が上尾病院へ，定永倫明が九州中央病院へ転出した。一方14年1月には助手白石 猛がトーマスジェファーソン大学から復学，14年4月には岸原文明助手，岡本正博医員，西田康二郎医員が着任し現在総員17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（～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. 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 (Utsumiya T). 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。

4. 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 (Utsumiya 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。

5. 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)

6. 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)

7. 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。

8. 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 産生株と親株において 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 15 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. Shibuta, K. , Etoh, T. , Kataoka, A. , Inoue, H. , Ueo, H. , Suzuki, T. , Barnard, GF. , Mori, M. 2001.
Genetic polymorphism of N-acetyltransferase 2 in the patients with esophageal cancer.
Am J Gastroenterol. 96, 3419-24.
2. Etoh, T. , Ueo, H. , Sato, K. , Utsunomiya, T. , Barnard, GF. , Kitano, S. , Mori M. 2001.
Clinical significance of K-ras mutations in intraoperative tumor drainage

- blood from patients with colorectal carcinoma.
Ann Surg Oncol. 8, 407-412.
3. Mashino, K., Sadanaga, N., Tanaka, F., Yamaguchi, H., Nagashima, H., Inoue, H., Sugimachi, K., Mori, M. 2001.
Expression of multiple cancer-testis antigen genes in gastrointestinal and breast carcinomas.
Br J Cancer . 85, 713-720.
 4. Mori, M., Mimori, K., Masuda, T., Yoshinaga, K., Yamashita, K., Matsuyama, A., Inoue, H. 2001.
Absence of Msh2 protein expression is associated with alteration in the FHIT locus and Fhit protein expression in colorectal carcinoma.
Cancer Res. 61, 7379-7382.
 5. Matsuyama, A., Inoue, H., Shibuta, K., Tanaka, Y., Barnard, GF., Sugimachi, K., Mori, M. 2001.
Hepatoma-derived growth factor is associated with reduced sensitivity to irradiation in esophageal cancer.
Cancer Res. 61, 5714-5717.
 6. Sadanaga, N., Nagashima, H., Mashino, K., Tahara, K., Yamaguchi, H., Ohta, M., Fujie, T., Tanaka, F., Inoue, H., Takesako, K., Akiyoshi, T., Mori, M. 2001.
Dendritic cell vaccination with MAGE peptide is a novel therapeutic approach for gastrointestinal carcinomas.
Clin Cancer Res. 7, 2277-2284.
 7. Kataoka, A., Sadanaga, N., Mimori, K., Ueo, H., Barnard, GF., Sugimachi, K., Auclair, D., Chen, LB., Mori, M. 2001.
Overexpression of HRad 17 mRNA in human breast cancer : Correlation with lymph node metastasis.
Clin Cancer Res. 7, 2815-2820.
 8. Mimori, K., Ueo, H., Shirasaka, C., and Mori, M. 2001.
Clinical significance of MT1-MMP mRNA expression in breast cancer,
Oncol Rep. 8: 401-3. ,
 9. Nagashima, H., Sadanaga, N., Mashino, K., Yamashita, K., Inoue, H., Mori, M., Sugimachi, K. 2001.
Expression of MAGE-B genes in esophageal squamous cell carcinoma.

10. Yamashita, K., Mori, M., Kataoka, A., Inoue, H., Sugimachi, K. 2001.
The clinical significance of MMP-1 expression in oesophageal carcinoma.
Br J Cancer. 84, 276-282.
11. Ishii, H., Dumon, KR., Vecchione, A., Trapasso, F., Mimori, K., Alder, H., Mori, M., Sozzi, G., Baffa, R., Huebner, K., Croce, CM. 2001.
Effect of adenoviral transduction of fragile histidine triad gene into esophageal cancer cells.
Cancer Res. 61, 1578-1584.
12. Inoue, H., Mimori, K., Utsunomiya, T., Sadanaga, N., Barnard, GF., Ueo, H., Mori, M. 2001.
Heparanase expression in clinical digestive malignancies.
Oncol Rep. 8, 539-542.
13. Mitra, P., De, A., Ethier, MF., Mimori, K., Kodys, K., Shibuta, K., Mori, M., Madison, JM., Miller-Graziano, C., Barnard, GF. 2001.
Loss of chemokine SDF-1 α mediated CXCR4 signaling and receptor internalization in human hepatoma cell line HepG2.
Cell Signal. 13, 311-319.
14. Etoh, T., Ueo, H., Sato, K., Utsunomiya, T., Barnard, GF., Kitano, S., Mori, M. 2001.
Clinical significance of K-ras mutations in intraoperative tumor drainage blood from patients with colorectal carcinoma.
Ann Surg Oncol. 8, 407-412.
15. Tanaka, S., Ueo, H., Mafune, K., Mori, M., Wands, JR., Sugimachi, K. 2001.
A novel isoform of human fibroblast growth factor 8 is induced by androgens and associated with progression of esophagageal carcinoma.
Dig Dis Sci. 46, 1016-1021.
16. Utsunomiya, T., Emi, Y., Ikejiri, K., Suzuki, M., Saitsu, H., Yakabe, S., Nonaka, M., Saku, M., Yoshida, K., Sugimachi, K. 2001.
Retrospective study on the effects of lipiodolization before a potentially curative hepatectomy for colorectal liver metastases: long-term results of a pilot study.
Hepato-Gastroenterol. 48, 790-3.

17. Utsunomiya, T. , Shimada, M. , Shirabe, K. , Kajiyama, K. , Gion, T. , Takenaka, K. , Sugimachi, K. 2001.
Clinicopathological characteristics of patients with extrahepatic recurrence a hepatectomy for hepatocellular carcinoma.
Hepato-Gastroenterol. 48, 1088-93.
18. Nagashima, H. , Mori, M. , Sadanaga, N. , Mashino, K. , Yoshikawa, Y. , Sugimachi, K. 2001.
Expression of Fas ligand in gastric carcinoma relates to lymph node metastasis.
Int J Oncol. 18, 1157-1162.
19. Mimori, K. , Inoue, H. , Alder, H. , Ueo, H. , Tanaka, Y. , Mori, M. 2001.
Mutation analysis of hBUB1, human mitotic checkpoint gene in multiple carcinomas.
Oncol Rep. 8, 39-42.
20. Shiraishi, T. , Druck, T. , Mimori, K. , Flomenberg, J. , Berk, L. , Alder, H. , Miller, W. , Huebner, K. , Croce, CM. 2001.
Sequence conservation at human and mouse orthologous common fragile,FRA3B/ FHIT and Fra14A2/ Fhit.
Proc Natl Acad Sci USA2001. 98(10), 1394678.
21. 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.
22. Okamoto, M. , Ono, M. , Uchiumi, T. , Ueno, H. , Kohno, K. , Sugimachi, K. , Kuwano, M. 2002.
Up-regulation of thrombospondin-1 gene by epidermal growth factor and transforming growth factor β in human cancer cells - transcriptional activation and messenger RNA stabilization.
Biochimica et Biophysica Acta. 1574, 24-34.
23. 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.

24. 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(10), 2937-41.
25. 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.
26. 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.
27. 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-grade dysplasia, high-grade dysplasia, and cancer that invades the submucosa.
Surgery. 131(PT2), S105-S108.
28. Ohno, S. , Sumiyoshi, Y. , Mori, M. , Sugimachi, K. 2002.
Hyperthermia for rectal cancer.
Surgery. 131(PT2), S121-S127.
29. 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, 3189-3825.

総説

1. 森 正樹, 井上 裕, 松山 歩. 2001.
DNA マイクロアレイ法の医生物学研究へのインパクト.

- Frontiers in Gastroenterology, 6(2), 129-137.
2. 森 正樹, 井上 裕. 2001.
DNA マイクロアレイの原理と必要器材.
Surgery Frontier, 8(4), 414-417(70-73).
 3. 森 正樹, 松山 歩. 2001.
癌の個性診断 -癌診療個別化へ向けて-.
医学のあゆみ, 197(10), 775-779.
 4. 森 正樹, 定永倫明. 2001.
食道癌 (2 領域郭清手術).
外科, 63(10), 1159-1163.
 5. 森 正樹, 吉永敬士. 2001.
外科治療, アートとサイエンスの間で.
実験医学 増刊, 19(19), 2701-2707.
 6. 森 正樹, 松山 歩. 2001.
癌の分子生物学的研究 ~初めの一步~.
消化器外科, 24(10), 1553-1561.
 7. 森 正樹. 2001.
がん転移機構の臨床的研究.
第 119 回 日本医学会シンポジウム記録集, , 60-66.
 8. 宇都宮 徹, 森 正樹. 2001.
癌に対する内視鏡下手術の意義.
Cancer Frontier, 3(1), 105-109.
 9. 宇都宮 徹, 祇園智信, 島田光生, 森 正樹. 2001.
肝細胞癌の血液診断 RT-PCR 法を用いた診断.
消化器外科, 24(5), 597-603.
 10. 三森功士, 宇都宮 徹, 森 正樹. 2001.
MACS を用いた血中微量癌細胞検出.
Surgery frontier, 8(1), 23-28.
 11. 三森 功士, 森 正樹. 2001.
ポストゲノムがん診療 -悪性度診断への応用-.
血液・腫瘍科, 43(3), 183-190.
 12. 三森功士, 松山 歩, 宇都宮 徹, 井上 裕, 森 正樹. 2001.
胃癌とマイクロアレイ.
消化器外科, 24(12), 1753-1758.

13. 三森功士, 白石 猛, 森 正樹. 2001.
新しい癌関連遺伝子の同定.
消化器外科, 25(1), 113-120.
14. 三森功士, 増田隆明, 片岡明美, 森 正樹. 2001.
特集; 微量癌細胞の検出とその意義 2. 方法.
癌と化学療法, 28, 756-761.
15. 田中文明, 森 正樹, Robbins PD, Lotze MT, 田原秀晃. 2001.
樹状細胞とナチュラルキラー細胞を用いた IL-18 による腫瘍特異的 CTL の誘導とその解析.
Biotherapy, 15(3), 397.
16. 増野浩二郎, 定永倫明, 山口博志, 田中文明, 井上 裕, 森 正樹. 2001.
OK-432 投与による担癌マウス由来樹状細胞機能の改善.
Biotherapy, 15(3), 290.
17. 増田 隆明, 定永 倫明, 森 正樹. 2001.
血管新生と悪性腫瘍.
Biomedical Perspectives, 10(1), 28-33.
18. 増田隆明, 片岡明美, 三森功士, 森 正樹. 2001.
微小転移の検出法.
外科, 63(7), 774-778.
19. 増田隆明, 衛藤 剛, 田中真二, 森 正樹. 2001.
血管新生関連因子 angiopoietin-2.
肝癌の診断と治療 日本臨床, 59(6), 151-156.
20. 片岡明美, 増野浩二郎, 森 正樹. 2001.
センチネルリンパ節と癌の微小転移の検出～適正なリンパ節郭清を行うために～.
消化器外科, 24(12), 1821-1828.
21. 渋田健二, 森 正樹. 2001.
癌の診療に役立つ分子生物学入門・2: 癌になりやすいかどうかを知るために・・・
消化器外科, 24(11), 1673-1681.
22. 定永倫明, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 井上 裕, 森 正樹. 2001.
MAGE を標的にした消化器癌に対する癌ワクチン臨床研究.
Biotherapy, 15(3), 182.
23. 定永倫明, 太田光彦, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 井上 裕, 森 正樹. 2001.
胃癌に対する癌ワクチン療法.
外科治療, 85(3), 355-356.
24. 定永倫明, 太田光彦, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 井上 裕, 森 正樹. 2001.

- 消化器癌に対する MAGE を標的にした腫瘍免疫療法.
消化器と免疫, 38, 13-15.
25. 名川弘一, 森 正樹, 嶋田 裕, 北山丈二. 2001.
消化器癌—分子細胞生物学 の臨床応用.
外科, 63(1), 75-94.
26. 森 正樹, 吉永敬士. 2002.
消化器癌における微小(微量)転移の診断とその意義.
Frontiers in Gastroenterology, 7(1), 68-74.
27. 森 正樹, 定永倫明. 2002.
樹状細胞.
医学のあゆみ, 200(13), 1171-1172.
28. 森 正樹. 2002.
分子腫瘍学分野の研究.
福岡医学会雑誌, 93(4), 111-112.
29. 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, 79(3), 384-388.
30. 三森功士, 森 正樹. 2002.
癌の分子診断学-ここまで進んだ診断・治療への応用- 大腸癌.
日本外科学会雑誌 in press,
31. 三森功士, 森 正樹. 2002.
4. 腫瘍性病変 1)大腸発癌-分子生物学位的立場から-.
カレントセラピー, 20
32. 増田隆明, 山下継史, 森 正樹. 2002.
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.
33. 吉永敬士, 森 正樹. 2002.
癌組織から癌細胞の解析へ.
消化器外科, 25, 495-501.
34. 山口博志, 森 正樹. 2002.
癌研究にけるアポトーシスの意義.
消化器外科, 25(5), 543-649.
35. 松山 歩, 三森功士, 井上 裕, 森 正樹. 2002.
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.
36. 松山 歩, 森 正樹. 2002.
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.
 37. 松山 歩, 白石 猛, 森 正樹. 2002.
遺伝子発現異常とがん.
診断と治療, 90(3), 453-460.
 38. 渋谷健二, 森 正樹. 2002.
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), 34-39.
 39. 定永倫明, 片岡明美, 増田隆明, 森 正樹. 2002.
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.
 40. 上尾裕昭, 白坂千秋, 森 正樹, 定永倫明. 2002.
乳房温存療法.
臨床と研究, 79(3), 399-402.

著 書

1. 森 正樹. 2001.
消化器癌の分子生物学的背景, 1(1). 211-220,
へるす出版, 東京.
2. 井上 裕, 森 正樹. 2001.
DNA マイクロアレイ法による癌研究, 新刊:. 42-47,
先端医療研究所, 東京.
3. 定永倫明, 森 正樹. 2001.
腫瘍特異的免疫療法, 新刊. 7-13 頁,
先端医療研究所, 東京.
4. 増田隆明, 衛藤 剛, 田中 真二, 森 正樹. 2001.
血管新生関連因子 angiopoietin-2, 59(6). 151-156,
日本臨床社, 東京.
5. Mori M, Mimori K, Inoue H, Tanaka Y, Hueber K, Croce CM. 2001.
Altered Expression of FHIT in Esophageal Neoplasm, . 188-194, Springer-Verlag, Tokyo.

学会発表

1. 山下継史, 園田英人, 宇都宮 徹, 渋谷健二, 佐藤浩一, 井上 裕, 上尾裕昭, 田中洋一, 森 正樹 (2001, 4/11).
消化器癌細胞への MMP-7 遺伝子導入による関連遺伝子の変化とその制御
第 101 回日本外科学会, 仙台.
2. 衛藤 剛, 井上 裕, 増田隆明, 松山 歩, 北野正剛, 森 正樹 (2001, 4/11).
Differential display 法を用いた AFP 産生胃癌の悪性度規定遺伝子の同定
第 101 回日本外科学会, 仙台.
3. 井上 裕, 松山 歩, 三森功士, 片岡明美, 山下継史, 南原 繁, 上尾裕昭, 森 正樹 (2001, 4/11)
パネルディスカッション DNA マイクロアレイを用いた胃癌悪性度の個性的診断法の開発と臨床応用
第 101 回日本外科学会, 仙台.
4. 松山 歩, 井上 裕, 西塚 至, 石川 孝, 田中洋一, 増田隆明, 岡崎康司, 林崎良英, 森 正樹 (2001, 4/11)
cDNA microarray を用いた食道癌放射線治療効果予測遺伝子の検索
第 101 回日本外科学会, 仙台.
5. 長嶋秀樹, 定永倫明, 増野浩二郎, 山口博志, 田中文明, 渋谷健二, 田原光一郎, 嶺 博之, 森 正樹 (2001, 4/11)
新規の HLA-A24 拘束性 MAGE-4 ペプチドの同定
第 101 回日本外科学会, 仙台.
6. 谷口浩二, 片岡明美, 田中文明, 三森功士, 宇都宮 徹, 原 芳和, 森田匡史, 荒川浩治, 西村 暹, 森 正樹 (2001, 4/11)
ヒト消化器癌における新規シスタチン様転移関連遺伝子 CMAP の発現と肝転移の関連
第 101 回日本外科学会, 仙台.
7. 園田英人, 片岡明美, 三森功士, 定永倫明, 宇都宮 徹, 上尾裕昭, 白坂千秋, 田代英哉, 雷 哲明, 森 正樹 (2001, 4/11)
乳癌における細胞周期 G2/M checkpoint 関連遺伝子 HRad17 の発現の検索とリンパ節転移予測への臨床的有用性
第 101 回日本外科学会, 仙台.
8. 渋谷健二, 吉永敬士, 松山 歩, 三森功士, 武内秀也, 井上 裕, 田中洋一, 上尾裕昭, 森 正樹 (2001, 4/11)
食道癌における N-アセチル化遺伝子多型検索の臨床的意義
第 101 回日本外科学会, 仙台.

9. 定永倫明, 増野浩二郎, 山口博志, 田中文明, 佐藤浩一, 井上 裕, 狩峰信也, 上尾裕昭, 森 正樹(2001, 4/11)
胃癌に対する癌ワクチン療法の効果増強の工夫
第 101 回日本外科学会, 仙台.
10. 中島秀彰, 森 正樹, 遠藤和也, 池田泰治, 藤 也寸志, 馬場秀夫, 鴻江俊治, 岡村 健(2001, 4/11)
膠原病患者に対する腹部手術の危険因子の検討
第 101 回日本外科学会, 仙台.
11. 渋谷健二, 吉永敬士, 松山 歩, 三森功士, 武内秀也, 井上 裕, 上尾裕昭, 田中洋一, 森 正樹 (2001, 4/11)
食道癌における N-アセチル化遺伝子多型検索の臨床的意義
第 101 回日本外科学会, 仙台.
12. 白石 猛, 三森 功士, 井上 裕, 山下継史, 増田隆明, 吉永敬士, 田中洋一, 森 正樹(2001, 4/12)
食道癌における癌抑制遺伝子 FHIT の発現
第 101 回日本外科学会, 仙台.
13. 三森 功士, 片岡明美, 田中文明, 渋谷健二, 佐藤浩一, 井上 裕, 南原 繁, 上尾裕昭, 森 正樹 (2001, 4/12)
LCM と DNA マイクロアレイを用いた消化器癌関連遺伝子発現プロファイルの検索と生検診断への応用
第 101 回日本外科学会, 仙台.
14. 宇都宮 徹, 片岡明美, 島田光生, 原 芳和, 森田匡史, 荒川浩治, 西村 暹, 杉町圭蔵, 森 正樹(2001, 4/12)
肝細胞癌における CMAP 遺伝子発現は肝内再発の予知マーカーとなる
第 101 回日本外科学会, 仙台.
15. 片岡明美, 三森功士, 吉永敬士, 松山 歩, 定永倫明, 井上 裕, 武内秀也, 上尾裕昭, 森 正樹 (2001, 4/12)
乳癌原発巣と転移巣での遺伝子発現プロファイルの比較
～LCM と cDNA Microarray を用いて～
第 101 回日本外科学会, 仙台.
16. 増田 隆明, 山下継史, 井上 裕, 渋谷健二, 宇都宮 徹, 園田英人, 南原 繁, 木場文夫, 上尾裕昭, 森 正樹(2001, 4. 13)
大腸癌における Matrix metalloelastase (MMP-12) の発現と浸潤・転移における相反作用
第 101 回日本外科学会, 仙台.

17. 吉永敬士, 増野浩二郎, 松山 歩, 山下継史, 片岡明美, 三森功士, 定永倫明, 井上 裕, 森 正樹(2001, 4/13)
血管新生因子 PD-ECGF の遺伝子導入による関連遺伝子発現のプロファイル作成
第 101 回日本外科学会, 仙台.
18. 藤江達郎, 田中文明, 定永倫明, 三森功士, 増野浩二郎, 山口博志, 増田隆明, 上尾裕昭, 森 正樹(2001, 4/13)
胃癌患者脾細胞からの MAGE ペプチドを用いた CTL 誘導; 癌特異的免疫療法の拡大をめざして
第 101 回日本外科学会, 仙台.
19. 田中文明, 田原秀晃, Michael T. Lotze, 定永倫明, 森 正樹 (2001, 5/18)
IL-18 を発現するアデノウイルスベクターと樹状細胞を用いた癌の免疫遺伝子治療
第 22 回癌免疫外科研究会, 宇部 .
20. 増野浩二郎, 定永倫明, 山口博志, 田中文明, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 5/18)
癌悪液質における樹状細胞機能低下と OK-432 前投与によるその改善
第 22 回癌免疫外科研究会, 宇部 .
21. 山口博志, 定永倫明, 増野浩二郎, 田中文明, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 5/18)
胃癌における CD40 の発現とその意義
第 22 回癌免疫外科研究会, 宇部 .
22. 増田隆明, 片岡明美, 三森功士, 定永倫明, 江見泰徳, 有永信哉, 上尾裕昭, 森 正樹
(2001, 5/31)
腋窩郭清省略のためのセンチネルリンパ節の同定とその微小転移検索の意義
第 5 回九州乳癌懇話会, 大分.
23. 増野浩二郎, 山口博志, 田中文明, 定永倫明, 森 正樹 (2001, 6/1)
乳癌における癌特異抗原の発現と臨床応用
第 38 回九州内分泌外科学会, 大分.
24. 増田隆明, 片岡明美, 大野真司, 森 正樹 (2001, 6/1)
乳癌での骨髄・末梢血中の微量癌細胞の検出とその臨床的意義
第 38 回九州内分泌外科学会, 大分.
25. 吉永敬士, 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
(2001. 6. 2)
チミジンホスホリラーゼ(TP)導入による癌細胞悪性化の機序解明
第 38 回九州外科学会, 大分.
26. 山口博志, 定永倫明, 田中文明, 増野浩二郎, 森 正樹 (2001, 6/2)
胃癌での CD40 発現とその意義
第 38 回九州外科学会, 大分.

27. Tanaka F, Hasimoto W, Robbins PD, Lotze MT, Mori M, Tahara H (2001,6/2)
 Intratumoral coinjection of dendritic cells and denoviral vector expressing biologically active Interleukin-18 enhances strong antitumor responses in vivo and in vitro
 The fourth annual meeting of the American Society of Gene Therapy, Seattle, USA.
28. 片岡明美, 増田隆明, 増野浩二郎, 定永倫明, 有永信哉, 白坂千秋, 上尾裕昭, 森 正樹 (2001. 6. 7)
 Laser capture microdissection と Microarray を用いた乳癌リンパ節転移に関する重要遺伝子の同定
 第9回日本乳癌学会, 前橋.
29. 上尾裕昭, 白坂千秋, 木場文男, 安部良二, 狩峰信也, 南原 繁, 武内秀也, 片岡明美, 森 正樹 (2001,6/8)
 男性乳癌におけるセンチネルリンパ節戦略の是非と工夫
 第9回日本乳癌学会, 前橋.
30. 増田隆明, 片岡明美, 村上 繁, 筒井信一, 大野真司, 森 正樹 (2001,6/8)
 乳癌における骨髄・末梢血中の微量癌細胞の検出とその臨床的意義
 第9回日本乳癌学会, 前橋.
31. 宇都宮徹, 田中文明, 三森功士, 定永倫明, 渋谷健二, 井上 裕, 力丸竜也, 島田光生, 杉町圭蔵, 森 正樹 (2001,6/8)
 消化器癌における△-5 不飽和化酵素遺伝子発現の臨床病理学的意義
 第6回九州輸液・栄養研究会, 福岡.
32. 岡本正博, 小野真弓, 桑野信彦 (2001,6/14)
 トロンボスポンジン1の新しい発現調節機構
 第10回日本癌転移学会総会, 徳島.
33. 松山 歩, 井上 裕, 三森功士, 田中文明, 定永倫明, 宇都宮 徹, 渋谷健二, 森 正樹 (2001,6/18)
 食道癌における放射線感受性規定遺伝子の探究-癌の個別化医療へ向けて-
 第6回癌と遺伝子・大分外科フォーラム, 大分.
34. 原口直紹, 渋谷健二, 石川健二, 園田英人, 松山 歩, 田中文明, 三森功士, 定永倫明, 宇都宮 徹, 井上 裕, 森 正樹, 吉河康二 (2001,6/23)
 大腸癌を合併した Peutz-Jeghers 症候群の1例
 第162回大分県外科医会例会・総会, 別府 .
35. 宇都宮 徹, 定永倫明, 田中文明, 増野浩二郎, 山口博志, 島田光生, 杉町圭蔵, 森 正樹 (2001,6/23)
 シンポジウム胆道癌に対する集学的治療法-基礎から臨床へ: 肝内胆管癌に対する腫瘍抗原ペプチドを用いた癌ワクチン療法の可能性

第 13 回日本肝胆膵外科学会, 仙台.

36. 定永倫明, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 三森功士, 宇都宮 徹, 渋谷健二, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 7/6)
腫瘍拒絶抗原 MAGE を標的にした癌ワクチン療法の食道癌治療への応用 (優秀演題賞受賞)
第 55 回日本食道疾患研究会, 東京.
37. 山下継史, 吉永敬士, 増田隆明, 松山 歩, 田中文明, 三森功士, 定永倫明, 宇都宮 徹, 渋谷健二, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 7/25)
消化器癌転移における MMP-7 の役割とその制御標的
第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
38. 松山 歩, 井上 裕, 渋谷健二, 宇都宮 徹, 定永倫明, 田中洋一, 森 正樹 (2001, 7/25)
食道癌における放射線感受性・抵抗性規定遺伝子の検索-Differential Display 法を用いて-
第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
39. 定永倫明, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 三森功士, 宇都宮 徹, 渋谷健二, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 7/25)
胃癌における TRAIL decoy receptor DcR1 の発現検討
第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
40. 井上 裕, 松山 歩, 三森功士, 吉永敬士, 渋谷健二, 森 正樹 (2001, 7/25)
胃癌の悪性度診断法の開発と臨床応用: DNA マイクロアレイによるポイント診断
第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
41. 吉永敬士, 松山 歩, 山下継史, 三森功士, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 7/25)
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 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
42. 山口博志, 定永倫明, 田中文明, 増野浩二郎, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 7/25)
CD40 発現胃癌におけるアポトーシス抵抗性とその臨床的意義
第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
43. 宇都宮 徹, 定永倫明, 田中文明, 増野浩二郎, 山口博志, 島田光生, 杉町圭蔵, 森 正樹 (2001, 7/25)
肝内胆管癌に対する癌ワクチン療法の可能性: 有効な補助療法の確立を目指して
第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
44. 田中文明, 田原秀晃, Lotze MT, 定永倫明, 森 正樹 (2001, 7/26)
IL-18 を発現するアデノウイルスベクターと樹状細胞を用いた癌に対する免疫遺伝子治療
第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
45. 増野浩二郎, 定永倫明, 田中文明, 山口博志, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 7/27)
消化器癌における癌特異抗原の発現と癌特異的免疫療法への臨床応用

- 第 56 回日本消化器外科学会総会, 秋田.
46. 定永倫明, 太田光彦, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 三森功士, 宇都宮 徹, 渋田健二, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 8/3)
進行再発食道癌症例に対する MAGE ペプチドワクチン療法の臨床研究
第 34 回日本胸部外科学会九州地方会総会, 大分.
47. 山下継史, 松山 歩, 吉永敬士, 増田隆明, 園田英人, 峯 真司, 田中文明, 三森功士, 宇都宮 徹, 渋田健二, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 8/3)
食道癌発生, 転移における MMP-7 の関与の機序解明
第 34 回日本胸部外科学会九州地方会総会, 大分.
48. 松山 歩 (2001, 8/21)
放射線感受性を規定する遺伝子の同定
第 193 回別府胃腸会, 別府.
49. 松山 歩, 井上 裕, 三森功士, 渋田健二, 田中洋一, 岡崎康司, 林崎良英, 森 正樹 (2001, 9/6)
食道癌における放射線感受性規定遺伝子の検索-個別化医療を目指して-
第 12 回日本消化器癌発生学会総会, 東京.
50. 渋田健二, 増田隆明, 吉永敬士, 三森功士, 井上 裕, 上尾裕昭, 田中洋一, 森 正樹 (2001, 9/7)
食道癌における N-アセチル転移酵素 (NAT2) 遺伝子多型検索の臨床的意義
第 12 回日本消化器癌発生学会総会, 東京.
51. 西田康二郎, 川野 亮, 山村真弘, 玉田隆一郎, 玉田太郎, 権藤俊一 (2001, 9/8)
乳腺原発印環細胞癌の 1 例
第 14 回中国四国乳腺研究会, 鳥取.
52. Sadanaga N, Ohta M, Yamaguchi H, Mashino K, Tanaka F, Mimori K, Inoue H, Mori M (2001, 9/14)
Expression of MAGE gene in gastro-intestinal carcinoma and tumor immunotherapy using dendritic cell pulsed with MAGE peptide.
AACR International Conference Seoul 2001, Korea・Seoul.
53. Mimori K, Kataoka A, Yoshibaga K, Matsuyama A, Yamasita K, Inoue H, Mori M (2001, 9/14)
Expression profile metastasis related genes studied by a combination of laser capture microdissection and cDNA microarray.
AACR International Conference Seoul 2001, Korea・Seoul.
54. 石川健二, 宇都宮 徹, 原口直紹, 松山 歩, 田中文明, 三森功士, 定永倫明, 渋田健二, 井上 裕, 森 正樹, 吉河康二 (2001, 9/22)

特発性血小板減少性紫斑病とクローン病を併発したS状結腸癌の1例
第163回大分県外科医会例会, 大分.

55. 増田隆明, 山下継史, 園田英人, 峯 真司, 中山啓子, 中山敬一, 井上 裕, 森 正樹
(2001, 9/26)
胃癌における ユビキチンリガーゼ SCFSkp2 の発現とその意義
第60回日本癌学会総会, 横浜.
56. 宇都宮 徹, 田中文明, 三森功士, 定永倫明, 渋谷健二, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 9/26)
消化器癌における多価不飽和脂肪酸代謝の臨床病理学的意義
第60回日本癌学会総会, 横浜.
57. 田中文明, 増野浩二郎, 山口博志, 太田光彦, 定永倫明, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 9/26)
低濃度抗癌剤と樹状細胞投与による画期的な腫瘍特異的免疫化学療法の開発とその機序の解明
第60回日本癌学会総会, 横浜.
58. 山口博志, 定永倫明, 太田光彦, 増野浩二郎, 吉永敬士, 田中文明, 三森功士, 宇都宮 徹,
渋谷健二, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 9/26)
OK-432による末梢血単核球の包括的遺伝子発現変化の検討
第60回日本癌学会総会, 横浜.
59. 松山 歩, 井上 裕, 三森功士, 渋谷健二, 宇都宮 徹, 田中洋一, 岡崎康司, 林崎良英,
森 正樹 (2001, 9/26)
食道癌における放射線治療感受性規定遺伝子の探索-個別化医療へ向けて-
第60回日本癌学会総会, 横浜.
60. 渋谷健二, 松山 歩, 吉永敬士, 園田英人, 井上 裕, 上尾裕昭, 森 正樹
(2001, 9/26)
乳癌における Catechol-O-Methyltransferase (COMT) 遺伝子多型検索の臨床的意義
第60回日本癌学会総会, 横浜.
61. 井上 裕, 松山 歩, 三森功士, 吉川良恵, 峰野純一, 向井博之, 浅田起代蔵,
加藤郁之進, 森 正樹 (2001, 9/27)
DNA マイクロアレイによる胃癌悪性度ポイント診断法の開発
第60回日本癌学会総会, 横浜.
62. 定永倫明, 増野浩二郎, 山口博志, 太田光彦, 吉永敬士, 増田隆明, 松山 歩, 三森功士,
田中文明, 渋谷健二, 宇都宮 徹, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 9/27)
cDNA マイクロアレイ法を用いた活性化リンパ球遺伝子発現変化の検索
第60回日本癌学会総会, 横浜.
63. 渋谷健二, 松山 歩, 吉永敬士, 園田英人, 井上 裕, 上尾裕昭, 森 正樹
(2001, 9/27)

乳癌における Catechol-O-Methyltransferase (COMT) 遺伝子多型検索の臨床的意義
第 60 回日本癌学会総会, 横浜.

64. 岡本正博, 小野眞弓, 河野公俊, 上野 光, 桑野信彦 (2001, 9/27)
がん細胞の TGF β と EGF によるトロンボスポンジン-1 発現上昇の機序
第 60 回日本癌学会総会, 横浜.
65. 吉永敬士, 山下継史, 増田隆明, 松山 歩, 三森功士, 渋谷健二, 宇都宮 徹, 井上 裕,
森 正樹 (2001, 9/28)
PD-ECGF 導入株の遺伝子発現プロファイルと癌関連遺伝子の同定
第 60 回日本癌学会総会, 横浜.
66. 三森功士, 吉永敬士, 増田隆明, 松山 歩, 山下継史, 定永倫明, 井上 裕, 森 正樹
(2001, 9/28)
LCM と DNA マイクロアレイを用いた消化器癌関連遺伝子発現のプロファイルの検索
第 60 回日本癌学会総会, 横浜.
67. Sadanaga N, Mashino H, Yamaguchi H, Tanaka F, Inoue H, Mori M (2001, 10/4)
Cancer specific immunotherapy for gastro-intestinal cancer using dendritic cells with
MAGE peptide.
2001 CONFERENCE OF ASIAN UNIVERSITY PRESIDENTS, Fukuoka.
68. Yoshinaga K, Mimori K, Tanaka F, Sadanaga N, Utsunomiya T, Shibuta K, Inoue H,
Mori M (2001, 10/6)
Overexpression of Activin associates Vascular Permeation in Oesophageal Carcinoma.

The Proceedings of the 31st International congress on Psychosomatic, Preventive and
Sports Medicin(ICPPS), Fukuoka.
69. Mashino K, Sadanaga N, Tanaka F, Yamaguchi H, Ohta M, Inoue H, Masaki M (2001, 10/6)
Expression of Multiple Cancer-testis Antigen Genes in Gastrointestinal
and Breast Carcinomas.
The Proceedings of the 31st International congress on Psychosomatic, Preventive and
Sports Medicin(ICPPS), Fukuoka.
70. Matsuyama A, Inoue H, Mimori K, Masaki M (2001, 10/6)
Identification of Irradiation-associated Gene in Esophageal Cancer Cell Lines.
The Proceedings of the 31st International congress on Psychosomatic, Preventive and
Sports Medicin(ICPPS), Fukuoka.
71. 大野真司, 片岡明美, 木下旬子, 村上茂, 森 正樹 (2001, 11/7)
(ラウンドテーブルディスカッション)Laser capture microdissection (LCM) と Microarray

を用いた乳癌原発巣とリンパ節転移巣の遺伝子発現の比較

第 39 回日本癌治療学会総会, 広島.

72. 定永倫明, 太田光彦, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 渋谷健二, 井上裕, 森 正樹 (2001, 11/8)

ワークショップ消化器癌における MAGE を標的とした癌ワクチン臨床試験の現状と今後への展望

第 39 回日本癌治療学会総会, 広島.

73. 片岡明美, 木下旬子, 村上茂, 大野真司, 上尾裕昭, 三森功士, 定永倫明, 森 正樹 (2001, 11/8)

乳癌リンパ節転移予測における G2/M checkpoint 関連遺伝子 HRad 17 mRNA 発現検索の意義

第 39 回日本癌治療学会総会, 広島.

74. 井上 裕, 松山 歩, 岡崎康司, 林崎良英, 田中 洋, 森 正樹 (2001, 11/9)

シンポジウム cDNA マイクロアレイを用いた食道癌の放射線感受性規定因子の検討

第 39 回日本癌治療学会総会, 広島.

75. 宇都宮徹, 田中文明, 三森功士, 定永倫明, 渋谷健二, 井上裕, 森 正樹 (2001, 11/9)

シンポジウム大腸癌における Δ -5 不飽和化酵素遺伝子発現の臨床病理学的意義

第 39 回日本癌治療学会総会, 広島.

76. 三森功士, 井上裕, 宇都宮徹, 定永倫明, 渋谷健二, 田中文明, 松山歩, 森 正樹 (2001, 11/9)

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

第 39 回日本癌治療学会総会, 広島.

77. 松山 歩, 宇都宮 徹, 森 正樹 (2001, 11/30)

cDNA microarray を用いた食道癌における放射線治療効果予測因子の検索

第 78 回日本消化器病学会九州支部例会, 福岡.

78. 太田光彦, 定永倫明, 山口博志, 増野浩二郎, 田中文明, 三森功士, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 12/6)

大腸癌における Fractalkine の発現の検討

第 14 回日本バイオセラピー学会, 東京.

79. 山口博志, 定永倫明, 太田光彦, 増野浩二郎, 田中文明, 井上 裕, 森 正樹 (2001, 12/6)

OK- 432 投与による末梢血単核球の遺伝子発現変化の包括的検索

第 14 回日本バイオセラピー学会, 東京.

80. 増野浩二郎, 定永倫明, 田中文明, 山口博志, 太田光彦, 森 正樹 (2001, 12/7)

ケモカインレセプター CCR7 の胃癌における発現

第 14 回日本バイオセラピー学会, 東京.

81. 松山 歩, 石川健二, 原口直紹, 田中文明, 三森功士, 定永倫明, 宇都宮 徹, 渋谷健二,

井上 裕, 森 正樹 (2001, 12/15)

一般演題難治性貧血を呈した回盲部動静脈奇形(血管異形成)の1例

第164回大分県外科医会例会, 大分.

82. 園田英人, 吉永敬士, 増田隆明, 井上 裕, 森 正樹 (2002, 2/2)

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2回食道疾患研究会, 大阪.

83. 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, 渋谷健二,

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回制癌剤適応研究会, 名古屋.

84. 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, 渋谷健二,

宇都宮 徹, 井上 裕, 森 正樹, 畠中正光, 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.

老化制御学分野

Division of Molecular and Clinical Gerontology

当部門は循環器疾患・呼吸器疾患を主に診療しているが、研究分野は循環器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、下肢筋肉に抗アポトーシス遺伝子導入し、血管新生の研究を *in vivo* にて行っている。虚血性心疾患に関しては、心筋梗塞モデルを用いて、抗サイトカインによる遺伝子治療の有効性を確認した。その他、心不全モデルを用いた心肥大、収縮不全に関する細胞内情報伝達系の解明、心肥大や心筋梗塞などに見られる心筋の再構築について細胞外基質蛋白の遺伝子発現と形態的变化の関係についての検討を行っている。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がある。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。また、ホルター心電図を用いて、生体リズムからみた自律神経活動の評価を行い、心不全や糖尿病患者を対象として、病状の進行と自律神経活動についてホルター心電図の R-R 間隔より心拍変動解析を行っている。また、他の医療機関と協力して急性冠症候群の患者における種々のサイトカインの影響について共同研究を行っている。

人事面では、2001 年 6 月に助手の平山祐義が筑豊病院へ転勤となり、2001 年 8 月に助手の富田英春がニュージャージー医科歯科大学へ留学した。2001 年 6 月にピッツバーグ大学より門上俊明が助手として赴任し、2002 年 6 月に九大循内より末松延裕が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. 抗アポトーシスによる血管新生

(菅野公浩, 門上俊明, 牧野直樹)

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、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。そこで、現在、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遺伝子治療について研究している。

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

(菅野公浩, 小柳雅孔, 牧野直樹)

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. 現在, 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, 同様の検討を行っている. また, 慢性心筋梗塞に対する検討も行っている. 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. 不全心筋の肥大・収縮機能不全に関する細胞内情報伝達系の解明

(佐藤真司, 末松延裕, 小柳雅孔, 牧野直樹)

(1) 正常心筋では GTP 結合蛋白質により活性化される細胞内情報伝達系や cGMP, ミオシンフォスファターゼによって収縮蛋白質の Ca^{2+} 感受性が調節されており, 特に Gq 刺激により収縮蛋白質の Ca^{2+} 感受性は増加することがわかった.

(2) 不全心筋ではアンギオテンシン II などで活性化される Gq-細胞内 GTP 蛋白質 Rho を介する細胞内情報伝達系が亢進しており, Gq 刺激で Ca^{2+} 感受性が増強する一方, ベータ・アドレナリン受容体を介する Ca^{2+} 感受性調節機構は減弱していた. これらが不全心筋の収縮・弛緩機能異常の一因となっている可能性があることがわかった.

(3) 現在, 培養心筋細胞や食塩感受性心不全ラットを用いて, 心肥大・収縮不全を誘導する細胞内情報伝達系の解明を in vitro, in vivo の両面から進めている.

(4) 拡張型心筋症の原因の一つとして心筋炎からの移行が知られている. そこで, ラット心筋炎モデルを作成し, 心不全の進展と炎症性サイトカイン, 接着因子, 単球遊走因子 (MCP-1) の役割について遺伝子工学的に研究を行っている. 特に, MCP-1 の遺伝子治療は心筋炎の病態を軽減効果が期待される.

C. 心筋再構築に関する研究

(末松延裕, 佐藤真司, 菅野公浩, 牧野直樹)

a. 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。

b.心血管系のリモデリングとレニン-アンギオテンシン系

自然発症高_ 圧ラットにおいて、アンギオテンシノーゲン(AGT)のアンチセンス投与の心筋および_ 管リモデリングに及ぼす効果について検討した。AGT のアンチセンスを asialoglycoprotein-poly(L)lysine ODNs complex として、慢性的に尾静脈より投与し、_ 清アンギオテンシ II 濃度を WKY と同程度に低下させても、肥大心や動脈平滑筋細胞の肥厚は抑制した。一方、心筋組織や動脈内の細胞外 matrix tissue の低下は見られなかった。これは、AGT のアンチセンスが肝 AGTmRNA を抑制したが、組織中の AGT, AT1 及び AT2 mRNA は抑制しておらず、血圧も WKY と同程度に低下しなかったためと考えられた。

臨床的研究

A. ホルモン補充療法と動脈硬化への反応

(佐藤真司, 末松延裕, 小柳雅孔, 門上俊明, 菅野公浩, 牧野直樹)

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検索中である。

B. ホルター心電図による自律神経機能の評価

(末松延祐, 牧野直樹)

糖尿病患者の合併症である自律神経障害について Holter 心電図からその機能を解析を行っている。本方法は 24 時間心電図記録の心拍変動を周波数分析と時系列解析を行なっている。周波数分析では高周波数域と周波数域の均衡により自律神経機能が正常に保たれているが、糖尿病の進行に伴い末梢神経障害に加えて心拍変動の異常がみられる。また、心室頻拍などの重症不整脈の出現時期と本疾患の自律神経機能の関係も研究中である。

C. 心筋梗塞患者におけるサイトカインの影響

(菅野公浩, 門上俊明, 牧野直樹)

心筋梗塞患者において、心筋梗塞直後より、TNF の増加がみられ、soluble TNF receptors は、24 - 48 時間かけて徐々に増加した。soluble TNF receptors の増加に伴い、CPK-MB は低下しだした。

この結果により、心筋梗塞による心筋障害において、soluble TNF receptors は防御的役割を果たしている可能性が示唆された。今後、経過を追って詳細に検討していく予定である。

業績目録

原著論文

1. Hirayama H., Sugano M., Abe N., Yonemochi H., Makino N. 2001.
Triglitazone, an antidiabetic drug, improves left ventricular mass and diastolic function in normotensive diabetic patients.
International Journal of Cardiol 77:75-79.
2. Satoh S., Makino N. 2001.
Intracellular mechanisms of cGMP-mediated regulation of myocardial contraction.
Basic Res Cardiol 96 : 652-658.
3. Masutomo K., Makino N., Sugano M., Fushiki S. 2001.
Effects of Losartan on the Collagen Degradative Enzymes in Hypertrophic and Congestive types of Cardiomyopathic Hamsters.
Mol Cell Biochem. 224:19-27.
4. Kadokami T., McTiernan CF., Kubota T., Frye CS., Bounoutas GS. 2001.
Robbins PD, Watkins SC, Feldman AM. Effects of soluble TNF receptor treatment on lipopolysaccharide-induced myocardial cytokine expression.
Am J Physiol Heart Circ Physiol. 280:2281-2291.
5. Ni WH., Egashira K., Kitamoto S., Kataoka C., Koyanagi M., Inoue S., Imaizumi K., Akiyama C., Nishida K., Takeshita A. 2001.
New anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice.
Circulation 103: 2096-2101.
6. Katoh M., Egashira K., Kataoka C., Usui M., Koyanagi M., Kitamoto S., Ohmachi Y.,

Takeshita A., Narita H. 2001.

Regression by ACE inhibition of arteriosclerotic changes induced by chronic blockade of NO synthesis in rats

Am J Physiol Heart Circ Physiol 280: 2306-2312.

7. Ni WH., Egashira K., Kataoka C., Kitamoto S., Koyanagi M., Inoue S., Takeshita A. 2001.

Antiinflammatory and Antiarteriosclerotic Actions of HMG-CoA Reductase Inhibitors in a Rat Model of Chronic Inhibition of Nitric Oxide. Synthesis.

Circ Res 89: 415-421.

8. Suematsu N., Satoh S., Kinugawa S., Tsutsui H., Hayashidani S., Nakamura R., Egashira K., Makino N., Takeshita A. 2001.

α 1-Adrenoceptor-Gq-RhoA signaling is upregulated to increase myofibrillar Ca²⁺ sensitivity in failing heart.

Am J Physiol 281: 637-646.

9. Arimura T., Suematsu N., Zhou YB., Nishimura J., Satoh S., Takeshita A., Kanaide H., Kimura A. 2001.

Identification, characterization, and functional analysis of heart-specific myosin light chain phosphatase small subunit.

J Biol Chem 276: 6073-6082.

10. Kadokami T., Frye C., Lemster B., Wagner CL., Feldman AM., McTiernan CF. 2001.

Anti-tumor necrosis factor-alpha antibody limits heart failure in a transgenic model.

Circulation 104:1094-7.

11. Kubota T., Miyagishima M., Frye CS., Alber SM., Bounoutas GS., Kadokami T., Watkins SC., McTiernan CF., Feldman AM. 2001.

Overexpression of Tumor Necrosis Factor- alpha Activates Both Anti- and Pro-Apoptotic Pathways in the Myocardium.

J Mol Cell Cardiol. 33:1331-1344.

12. Masutomo K., Makino N., Sugano M., Fushiki S. 2001.
Effects of Losartan on the Collagen Degradative Enzymes in Hypertrophic and Congestive types of Cardiomyopathic Hamsters.
Mol Cell Biochem 224: 19-27.
13. Mukai Y., Shimokawa H., Matoba T., Kandabashi T., Satoh S., Kaibuchi K., Takeshita A. 2001.
Involvement of Rho-kinase in hypertensive vascular disease. - A novel therapeutic target in hypertension.
FASEB J 15: 1062-1064.
14. Sugano M., Tsuchida K., Tomita H., Makino N. 2002.
Increased proliferation of endothelial cells with overexpression of soluble TNF- α receptor I gene.
Atherosclerosis 162: 77-84.
15. Sugano M., Tsuchida K., Makino N.
Nifedipine prevents apoptosis of endothelial cells induced by oxidized LDL.
J. Cardiovasc Pharmacol 40:146-152.
16. Sugano M., Koyanagi M., Tsuchida K., Hata T., Makino N.
In vivo gene transfer of soluble TNF- α receptor 1 alleviates myocardial infarction.
FASEB J. (in press)
17. Satoh S., Suematsu N., Ueda Y., Tsutsui H., Egashira K., Takeshita A, Makino N.
Post- β -receptor impairment in the regulation of myofibrillar Ca²⁺ sensitivity in tachypacing-induced canine failing heart.
J Cardiovasc Pharmacol (in press)

総説

なし

著書

1. 佐藤真司, 牧野直樹. 2001.

サイクリック GHP による心筋収縮調節の細胞内機序.

心臓病学の基礎研究, 96巻6号, P P. 652-658.

2. 佐藤真司, 竹下彰. 2001.

臨床的有用性からみたカルシウム拮抗薬の進歩 P P. 41-48.

末梢循環障害 P P. 326-330.

医薬ジャーナル社

3. 佐藤真司, 牧野直樹. 2001.

糖尿病心の Ca 代謝 P P. 53-61.

糖尿病と心筋障害

医学書院

4. 末松延裕, 佐藤真司, 上田安子, 牧野直樹. 2002.

心筋細胞におけるカルモデュリンとオカダ酸の収縮蛋白質カルシウム感受性に対する効果.

心臓病学の基礎研究, 97巻2号, P P. 137-144.

5. 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,

日本臨床社. (印刷中)

学会発表

国内学会

1. 菅野公浩, 土田啓子, 牧野直樹. (2001,6/1-6/2).

酸化 LDL による血管内皮細胞のアポトーシスに対するカルシウム拮抗剤の適応

第5回日本適応学会, 大阪.

2. Suematsu N., Satoh S., Kinugawa S., Nakamura R., Hayashidani S., Ide T., Tsutsui H., Takeshita A. (2001,3/25-3/27).

a-Adrenoceptor-Gq-RhoA signaling is upregulated to cause an increase in myofibrillar Ca^{2+} sensitivity in tachypacing-induced canine failing heart.

第65回日本循環器学会学術集会, 京都.

3. Sugano M., Koyanagi M., Tsuchida K., Hata T., Makino N. (2001,10/1-2)
SOLUBLE TNF-ALPHA RECEPTOR 1 GENE THERAPY PREVENTS MYOCARDIAL
INFARCTION.

The 18th Annual meeting of the Japanese Section International Society for Heart
Research. Akita.

4. 門上俊明, 牧野直樹, McTiernan CF, Feldman AM. (2001,12/2)

心筋症モデルとしての心筋特異的 TNF- α 過剰発現マウス

第 91 回日本循環器学会九州地方会, 別府

国際学会

1 Sugano M., Tsuchida K., Makino N. (2001, 5/11-13)

Soluble TNF-alpha Receptor I acts as an Endothelial Cell Growth Factor. Second
Annual Conference on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.
Arlinton VA, USA.

2 Hata T., Makino N., Sugano M. (2001,7/6-11)

TNF- α Expression Precedes in prior to Expressions for Matrix Metalloproteinase
(MMP) and Tissue Inhibitor of MMP in Infarcted Myocardium.

XVII World Congress of International Society for Heart Research, Winnipeg, Canada.

3 Hata T., Sugano M., Makino N. (2001, 7/6-11)

TNF- α Receptor I Stimulates the Growth of Endothelial Cell.

XVII World Congress of International Society for Heart Research, Winnipeg, Canada.

研究会

1. 牧野直樹 (2001, 1/26)

糖尿病の循環器合併症 について, 佐賀生活習慣病研究会 (佐賀市)

2. 富田英春 (2001, 6/21)

心不全の治療—新世紀への展望, 別府ハート会

3. 菅野公浩 (2001, 7/13)

ニフェジピンの内皮細胞の抗アポトーシス作用.

夏期循環器セミナー (大分)

4. 牧野直樹 (2001, 8/4)

循環器病学における遺伝子治療

東海循環器研究会 (名古屋市)

5. 佐藤真司, 富田英春, 小柳雅孔, 菅野公浩, 牧野直樹. (2001,9/1)

Dah ラット不全心筋への Rho kinase 阻害薬 Y-27632 長期投与の効果

第10回 Dah ラット研究会, 東京.

6. 佐藤真司, 小柳雅孔, 門上俊明, 菅野公浩, 牧野直樹. (2001,9/22)

Dah ラット不全心筋への Rho kinase 阻害薬 Y-27632 長期投与の効果

第2回心不全研究会, 福岡.

7. 菅野公浩, 土田啓子, 佐藤真司, 門上俊明, 小柳雅孔, 牧野直樹. (2001,12/8-9)

酸化 LDL による血管内皮細胞のアポトーシスに対するカルシウム拮抗剤の効果

第24回心筋代謝研究会, 別府.

8. 門上俊明, 牧野直樹, Mctiernan CF, Feldman AM. (2001,12/8-9)

産褥期心筋症モデルとしての心筋特異的 TNF- α 過剰発現トランスジェニックマウス

第24回心筋代謝研究会, 別府.