

**岩手医科大学 医学部 オープンリサーチセンター**  
**2004 研究報告書**

**Open Translational Research Center**  
**School of Medicine, Iwate Medical University**

**Research Report 2004**



*Open Translational Research Center*  
*School of Medicine, Iwate Medical University*  
*Since 2004*

**発行 岩手医科大学 先端医療研究センター**



# 目 次

1. はしがき
2. 総合報告
  - 研究プロジェクト名・研究目的・研究計画
  - 研究成果の概要
    - プロジェクト1
    - プロジェクト2
    - プロジェクト3
  - 参考資料
3. 分担報告
  - プロジェクト1
  - プロジェクト2
4. 資料

## はしがき

岩手医科大学医学部のオープン・リサーチ・センター整備事業は、文部科学省の「私立大学学術研究高度化推進事業」の選定プロジェクトです。本事業は、私立大学の大学院研究科、研究所において、多様な人材を受け入れ、研究と併せて若手研究者や高度専門職業人などの人材養成を推進し、私立大学における研究基盤を強化することを目的とした補助事業です。平成16年度から21年度までの5年間に計5億1千万の経費をかけて、生活習慣病・悪性新生物を中心とした老年疾患克服に向けた、高度先進医療の開発とそれに関わる人材の育成を目的としています。

遺伝子操作技術や生命科学の急速な進歩に加えて、インターネットを駆使した情報科学戦略の発達により、新しい診断・治療法が次々に生み出されています。しかし、最新の遺伝子診断・治療や新規薬剤の開発・導入は、ともすれば中央偏重傾向にあり、岩手県民が最先端の高度先進医療を享受できているとは言い難い状況にあります。本プロジェクトは、岩手医科大学に最先端の画像診断技術、細胞療法や再生医療、新規抗癌剤の開発につながる施設・設備の拡充と、それを実践するための人材輩出の礎にならんとしています。プロジェクトが始まって既に一年が経過していますが、各個の研究はまだは始まったばかりです。多額の競争的研究資金を得て推進されるプロジェクトであり、失敗は許されません。中間評価、最終報告までの道のりをしっかりと見据えて、さらなる研究のスピードアップを計る所存です。最後に、本プロジェクトの推進に格別のご支援を頂いた、大堀 勉理事長、佐藤俊一学長ならびに岩手医科大学の皆様へ深く感謝し、さらなるご支援、ご批判をお願い致します。

2005年3月

岩手医科大学オープンリサーチプロジェクト代表

藤岡 知昭

# 総 合 報 告

## 研究プロジェクト名

老年疾患克服に向けた探索的医療プロジェクト

## 研究目的

我が国の高齢化のスピードは急激で、「健康に老い、天寿を全うする」いわゆる successful aging の達成は、医学・医療・福祉の領域はもとより、経済・社会構造の面からみても国家的最優先課題である。「健やかに老いる」ためには、再生医療やゲノム創薬学といった先端医療分野での開発研究に加え、老化の分子機構に関する基礎研究の成果をもとに、高齢期の quality of life を高める形での、老化制御法の開発も必要である。また、老化は遺伝的素因と環境要因によって形成される現象であり、遺伝子多型や環境要因から受ける DNA 損傷が深く関与している。遺伝的素因を加味した、老化促進物質の排除による疫学的予防対策は、老年医学に関する新規先端医療の開発にも増して重要な課題である。

岩手医科大学では、人口移動が少なく少子高齢化の進んでいる岩手県という地域特殊性を生かし、生活習慣病に関する数多くの臨床疫学研究を実践している。また、「加齢に伴う神経損傷とその修復に関する研究プロジェクト」（ハイテク・リサーチセンター整備事業）を通して、老化制御・診断法に関する多くのシーズが生まれている。当該研究課題では、これらのシーズや地域特殊性を生かし、健やかな長寿社会達成のための先導的医療技術の開発、生活習慣および遺伝子要因を背景とした老化予防研究を展開したい。

## 研究計画

当該研究課題では、老年疾患克服に向けて、以下の3つの探索的医療プロジェクトを立案した。

1. 老年疾患の遺伝子要因と環境要因の交絡に関する疫学研究
2. 老年疾患に対する新規分子標的治療薬／細胞療法の開発に関するトランスレーショナルリサーチ
3. 患者保護の立場に立った先端医療専修医の育成カリキュラムプランの策定

## 研究成果の概要

### プロジェクト 1：老年疾患の遺伝子要因と環境要因の交絡に関する疫学研究 (分担代表：中村眞一)

#### 研究の概要

本プロジェクトでは、老年疾患の発症要因として遺伝子素因と環境要因の相互作用に注目し、①DNA修復遺伝子多型と老化促進物質暴露状況によるDNA損傷の蓄積調査、②動脈硬化症・糖尿病における自然免疫応答関連遺伝子の遺伝子多型および炎症性サイトカインの発現解析調査という、遺伝子解析に基づいた2つの講座横断的疫学調査研究サブプロジェクトを立案した。

サブプロジェクト②を先行させて開始することにし、心血管イベントの効率的スクリーニング法開発のために、岩手県内の3地域にのべ約1万人あまりのコホート研究のフィールドを立ち上げた。

1. 早期心不全のスクリーニングに、血中B型ナトリウム利尿ペプチド濃度 (BNP) 値の計測が有用であることを明らかにした(文献)。
2. 動脈硬化スクリーニングに、軽度の炎症性因子を反映する指標であるCRP値が有用であることを明らかにした。また尿中微量アルブミン濃度と高感度CRP値の間には明らかな相関があった(文献)。

さらに、2型糖尿病患者における心血管イベントの発症と遺伝的素因および他の古典的交絡因子との関連を明らかにすることを目的に、ケースコントロールスタディのデザインを立案中である。

サブプロジェクト①の研究課題では、各個研究としてDNA修復遺伝子の多型がDNA修復能に影響を与えている可能性を細胞生物学的に証明した(文献)。しかし、当所構想調書に盛り込んだ講座横断的疫学調査研究(禁煙プログラムあるいは産廃高度汚染地区におけるDNA損傷の蓄積状況調査)については行政的配慮もあり、計画の変更・研究グループの再編を行っている。

各個研究として、

- 1) がん関連遺伝子のジェネティック/エピジェネティックな異常を詳細に解析し、個々の癌における遺伝子異常の蓄積状態には、かなりの多様性があることを明らかにした(文献)。
- 2) 悪性腫瘍や循環器疾患の治療方針決定に応用可能な新規診断法を開発した(文献)。
- 3) 重症心不全を来す心筋症および心筋梗塞症例において重症化の原因がTNF $\alpha$  - Toll like receptorの活性化に密接に関連していることを明らかにした(文献)。
- 4) プロスタグランジン受容体アゴニストを使った肝細胞アポトーシスの回避・肝

再生医療の可能性を *in vivo*, *in vitro* で示唆した(文献).

## 今後の展望

平成 17 年夏頃を目標にサブプロジェクト②で立案した, ケースコントロールスタディを終了させる. その後, 絞り込まれた遺伝子多型部位と自然免疫応答関連遺伝子の発現との関連を検討する. さらに, 2 型糖尿病患者における心血管イベントの発症リスクと遺伝子多型の関連に関する前向きコホート研究の開始する予定である. ①の研究課題では, 早急に DNA 修復遺伝関連の多型に関して, 発癌のリスクとの関連を明らかにするケースコントロールスタディを開始する.

## プロジェクト 2 : 老年疾患に対する新規分子標的治療薬／細胞療法の開発に関するトランスレーショナルリサーチ

(分担代表 : 藤岡知昭)

### 研究の概要

当該プロジェクトは, 老年疾患の先端治療／診断法の開発を行う研究プロジェクトである. 臨床例を対象に行われるトランスレーショナルリサーチ 3 課題を立案した. ①固形癌に対する骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植の実践, ②MUC-1 およびWT1 を標的としたペプチド癌ワクチン・樹状細胞・CTL (cytotoxic T lymphocyte) の開発研究と実践. ③高次脳機能障害の画像化評価法の開発プロジェクト.

サブプロジェクト①の研究課題に関しては治療例を集積中である (現在までに 3 例の腎癌に対して非破壊的幹細胞移植法を施行している). ②に関しては, HLA-A2 拘束性に MUC-1 を発現している腎細胞癌株 A498 (HLA-A2+) を用いて, 非破壊的幹細胞移植モデルマウスの作製を試みており, 本実験系を使った移植治療の効果を予知法の開発研究を行っている.

サブプロジェクト③については最も研究が進んでおり, 慢性虚血脳に対する血行再建後に出現する過灌流の診断・対策・予知の確立に関する研究と, 高磁場 MRI による悪性神経膠腫の画像診断技術の開発研究を推進している.

血行再建後の過灌流は術後高次脳機能障害の原因となり, 過灌流症候群をきたした症例では高次脳機能障害の遷延がみられた(文献). 術後過灌流の診断・予知には術中の経頭蓋的脳局所酸素飽和度測定および経頭蓋的中大脳動脈血流速度測定が有用であり, 術前の脳循環の低下も有意な術後過灌流の予測因子であった. また, 術後過灌流／高次脳機能障害の対策としては, フリーラジカルスカベンジャーの術中投与が有用であった(文献).

悪性神経膠腫の画像診断技術の開発に関しては, 高磁場 MRI による 3 dimensional anisotropy contrast axonography (3DAC) が腫瘍と錐体路の位置関係の把握, 腫瘍細胞の錐体路への浸潤・神経路破壊の評価に有用であった. 本法の感度は造影 MRI を凌駕してい



た. また FA 値は神経膠腫の組織型や細胞増殖能・細胞細胞に密度を反映するものであり、神経膠腫の手術方針の決定に役立つものと思われた(文献).

各個研究として、

- 1) 腎細胞癌を合併した後天性嚢胞腎において HGF, c-met の発現亢進は尿細管の嚢胞形成や引き続き生じうる癌化に関与する可能性を示唆した. さらに Bcl-2 の発現の増加は、この過程におけるアポトーシスの回避に関与していることが推測された(文献).
- 2) 腎癌における RXR $\alpha$  および RXR $\gamma$  遺伝子は腫瘍部と非腫瘍部で異なる発現を呈し、さらに進行度と関連しており、活性型 vitamin D の作用に影響を及ぼす可能性が示唆された(文献).
- 3) 肝硬変・肝炎患者の肝細胞分裂寿命の延長には、外因性エストロゲン投与による hTERT 遺伝子の活性化が有用であることを *in vivo*, *in vitro* で明らかにした(文献).
- 4) 粘膜ワクチン開発に向けて、安全な粘膜アジュバントのとしてコレラ菌由来のコレラ毒素(nCT)に遺伝子改変操作を加えて毒性の弱い mCT E112K の作製に成功した(文献).
- 5) 切迫早産の予後を予測するマーカーとして Heat shock protein 70(HSP70)と IL1 $\beta$  および IL6 の有用性を明らかにした(文献).

## 今後の展望

非破壊的幹細胞移植法による腎癌治療に関して、CTL の持つ抗腫瘍効果・作用機序を解明する目的でマウス実験モデルを作製する. 本モデルマウスは、世界に先駆けた試みであり、非破壊的幹細胞移植の臨床効果の新たな予測法になる可能性がある.

さらに、高次脳機能障害の画像化評価法の開発プロジェクトでは頸部頸動脈狭窄症に対する内膜剝離術後の術後過灌流および高次脳機能障害について、脳血流、SPECT 装置、PET 装置、超高磁場(3.0 テスラ) MRI 装置を用いて評価する. また、膠芽腫の錐体路系への進展に関する超高磁場 MRI 撮像画像と病理組織学的関連を明らかにする.

## プロジェクト 3 : 患者保護の立場に立った先端医療専修医の育成カリキュラムプランの策定

(分担代表 : 堀内三郎)

### 研究の概要

生命科学, 先端医療, 臨床試験研究に対する知識を深め, 患者の人権保護を遵守し, 安全かつ有効な治療法/治療薬/診断法の開発研究に携わる有能な人材を育成するための教

育プログラムを作成し実践する。

【対象】

1. 先端医療専修医：医学系大学院卒業あるいは初期臨床研修終了後の医師
2. 大学院生：岩手医科大学大学院医学研究科および社会人大学院生
3. 研修医：臨床研修2年目の研修医
4. 治験コーディネーター：インフォームドコンセントをはじめとした治験業務の担い手となる Clinical Research Coordinator (CRC)を目指す看護師

【教育プログラム名と内容】

プログラム名	内容	
先端医療専修医	生命科学特論	生命現象の形成に係わる分子機構を系統的に学ぶ。
	臨床疫学特論	臨床疫学研究の精度向上、情報処理に関する基礎知識を学ぶ。
	臨床試験研究特論	臨床研究プロトコールのデザイン方法論、インフォームドコンセント、症例の割付など臨床試験研究の展開に必要な基礎知識を学ぶ。
	生命倫理特論	生命倫理に関する法規を学び、先端治療の展開とその倫理性に関して problem-based learning 方式で議論する。
	先端治療開発特論	先端治療／診断法の開発、推進に係わる研究者のシンポジウムを開催する。
先端治療実習	探索的医療支援室を用い、細胞療法、癌ワクチンなどの先端治療の実践を試みる。	
大学院生	上記の1-5の講義を選択制で受講可能にする。	
研修医	上記の1-5の講義を選択制で受講可能にする。	
治験コーディネーター	上記の2-5の講義を受講し、CRCの認定制度を確立する。	

これらの教育プログラムは、大学院医学研究科が主体となって作成し、各科の連携の上、平成17年度からの実践を目指す。

今後の展望

採択時にプロジェクト3についてその成果達成の可能性に対して審査員から疑問が提起された。現在、プロジェクト推進委員間で対策を検討中である。教育プログラムを作成し実践する取り組みは継続するが、教育効果をより実践的な面からから挙げるために、プロジェクト1、2に組み込む方向で検討中である。

## 参考資料

研究成果を自己評価する段階ではないが、以下に英文査読誌発表論文数とそのインパクトファクターの合計を示した。

年度	英文査読誌発表論文数		インパクトファクター	
		生産係数 (論文数/プロジェクト推進委員数)	平均	
2004				
	プロジェクト1	39 2.1 (39/18)	79.431	(2.036)
	プロジェクト2	38 1.8 (38/21)	88.946	(2.340)
	合計	77 1.97 (38/21)	168.377	(2.187)
2005				
	プロジェクト1	15	39.217	(2.614)
	プロジェクト2	27	48.451	(1.794)
	合計	42	87.668	(2.087)
合計		119	256.045	(2.152)

# 分 担 報 告 書

## －プロジェクト1－

### 組織

プロジェクトリーダー 中村眞一

プロジェクト推進委員

中村眞一，菅井 有，幅野 渉，久保田美子，高波タカ子，板井一好，青木康博，中屋敷 徳，鈴木一幸，滝川康裕，平盛勝彦，中村元行，佐藤 衛，中居賢司，佐藤 譲，金子能人，佐藤宏和，石島 健

計 18名

### 研究成果

#### 腺管分離法を用いた分離腺管の分子レベルの解析

研究代表者	中村眞一	所属	臨床病理学講座
共同研究者	菅井 有	所属	臨床病理学講座
	幅野 渉	所属	臨床病理学講座・DNA 解析室

#### 【研究成果】

腺管分離法 (CIM) は純粋な上皮成分のみを得ることができるため、腫瘍細胞のみの遺伝子解析や DNA ploidy の測定が可能である。我々は消化管腫瘍における分離腺管の分子病理学的有用性について明らかにした。

I) 胃・大腸癌における分離腫瘍腺管の遺伝子解析：胃癌及び大腸癌を用いて分離腫瘍腺管と通常新鮮材料における LOH, MSI, *p53* 変異の比較を行った。LOH は CIM で有意に検出頻度が高く、分離腫瘍腺管を用いた解析の有用性が示された (文献)。

II) 分離腺管の DNA ploidy に基づいた胃・大腸癌の遺伝子異常の解析：大腸癌と胃癌の DNA ploidy を diploid (D), aneuploid (A), multiploid (M, D+A) の 3 型に分類し、これらの genetic profile (LOH 型、MSI 型、その他) の違いを明らかにした。1) 大腸癌と胃癌では genetic profile が異なっていた。2) 大腸癌においては、D は LOH 型と MSI 型で、A と M は LOH 型であったのに対して、胃癌では A, M は LOH 型と MSI 型であったが、D はその他と MSI 型であった (文献)。3) 両腫瘍で遺伝子異常のパターンが D, A, M 間で異なっていた。上記の結果から、3 者は独立した genetic profile を有することが示された (文献)。

III) 胃癌及び大腸癌における単一分離腺管の分子レベルの解析：大腸癌と胃癌及びその周囲粘膜から CIM を用いて単一腫瘍腺管を採取し、LOH, *p53* 変異、遺伝子プロモーター領域のメチル化を解析した。その結果、同一腫瘍内で腺管単位の多様な分子異常のモザイク状態

が示唆された(文献).

IV) 早期胃癌の粘液形質に基づいた分子腫瘍発生の解析: 早期胃癌を粘液形質の従って, 胃型, 腸型, 混合型に分類した. 胃癌の遺伝子は粘液形質に規定されていることを示した(文献).

## XRCC1 遺伝子多型とDNA修復能

研究代表者	久保田美子	所属	生化学講座
共同研究者	高波タカ子	所属	生化学講座

### **【研究成果】**

ヒト XRCC1 タンパク質は DNA 修復過程で働く複数のタンパク質と相互作用し, 修復の効率化に寄与していると考えられている. XRCC1 遺伝子の異常による疾患の報告は今のところなされていないが, XRCC1 遺伝子には 3 箇所にアミノ酸置換を伴う多型が存在しており (*Arg194Trp*, *Arg280His*, *Arg399Gln*). 発癌リスクとの関係が疫学的研究により行われてきた. しかし, *Arg399Gln* 以外の多型については XRCC1 の機能にどの程度影響を及ぼすのか明らかにされていない. そこで, 私たちは機能的 XRCC1 欠損細胞である CHO の EM9 系統に *Arg194Trp* および *Arg280His* 多型 XRCC1 遺伝子を構成的に発現させた細胞株, R194W および R280H を作成し, これら遺伝的背景が同一の培養細胞を用いて解析を行った. R194W および R280H 細胞に methyl methanesulfonate (MMS) を処理したところ, R194W 細胞は EM9 の MMS 感受性を完全に相補できたのに対し, R280H 細胞は部分的にしか相補できなかった. また, R280H 細胞では損傷修復効率が低下しており, 損傷発生後の細胞内の NAD(P)H 量にも低下が見られた. さらに R280H 多型タンパク質は損傷部位への局在効率が低下していた. よって R280H 多型は XRCC1 の機能を低下させる多型であることが明らかになった. このことから, R280H 多型保有者の細胞では速やかな DNA 修復が行われないことにより癌化の可能性が高まることが示唆された(文献). さらに, 乳癌が R280H+喫煙と有意に関連していることが示された(米国 case-control, population-based Carolina Breast Cancer Study (CBCS) のデータを解析, 共同研究, in preparation).

## 老人性難聴に関連するミトコンドリア遺伝子多型の検索

研究代表者	佐藤宏昭	所属	耳鼻咽喉科学講座
共同研究者	石島 健	所属	耳鼻咽喉科学講座
	大塚尚志	所属	耳鼻咽喉科学講座

### 【研究成果】

本研究は難聴老人と健聴老人におけるミトコンドリア遺伝子の解析を行い、老人性難聴の発現に関与する多型を検索することを主眼においている。本年度において本研究のデザインに関し決定した事項について述べる。健聴老人を人間ドック受診者から、難聴老人を補聴器外来受診者からそれぞれ無作為にピックアップし、遺伝子情報も含めた同意を得た後に血液を提供していただきそのミトコンドリア DNA を分析し、健聴老人群・難聴老人群間における差異を調べる。これに関する、倫理委員会に提出する書類・患者様への同意書は目下鋭意作成中である。老人性難聴は病理組織学的に sensory presbycusis, neural presbycusis, strial presbycusis, cochleoconductive presbycusis に分類されるが、このうちの strial type は動脈硬化との関係が疑われる。そこで高脂血症・糖尿病などの動脈硬化をきたす可能性のある疾患に関連することが判明している既知のミトコンドリア DNA 多型を調査し、さらに神経変性疾患に関与するミトコンドリア DNA 多型と sensory type・neural type の老人性難聴との関係も検索する予定とし、平成 17 年 4 月より実際のスタディを開始するめどをたてた。

### **循環器疾患のコホート研究：効率的スクリーニング法の開発**

研究代表者	中村元行	所属	内科学第二講座
共同研究者	佐藤 衛	所属	内科学第二講座

### 【研究成果】

早期心不全のスクリーニング研究：①岩手県南のH町で、1200名を対象として心エコー図検査と血中B型ナトリウム利尿ペプチド濃度（BNP）の測定を行なった。その結果、41例の器質的心疾患が検出された。この例の検出のためにBNP濃度がどの程度役立つものかを検討した。その結果、高齢者、リスクの高い群を対象としてBNPでスクリーニングすることが感度、特異度、費用対効果の面で有用であることが判明した。②岩手県沿岸地方Y町の高齢者800名を対象として、器質的心疾患のBNP検査による検出法のが従来法の心電図による検出法とどのように異なるかを検討した。その結果、BNP検査では心電図検査で見逃している心疾患を検出できることを明らかにした(文献)。③「血中BNP濃度が高いものは将来うっ血性心不全を発症する」という仮説の妥当性を検討した。すなわち、岩手県北地方の8000名を対象としてBNP濃度を測定し、この値の高値とうっ血性心不全のリスク因子数の関係を検討した。その結果、心不全リスク因子数が増加するに連れてBNPが高くなることが明らかとなった(文献)。以上の結果を総説として発表した(文献)。

脈管検査による動脈硬化スクリーニング：岩手県南のH町で、1200名を対象として脈波伝播速度と動脈硬化の関連因子とされる高感度CRP値を測定した。その結果、脈波伝播速度は、年齢や血圧値のほかに、CRP値すなわち軽度の炎症性因子を反映する指標であることが判明した(文献)。②末梢動脈の収縮期圧は、大動脈のその値と一致しない場合が少なくない。しかし、その差異はどのような因子により決定されるかは明らかではない。大動脈血圧値は心血管事故の重要な危険因子と見なされているので、末梢血圧値と大動脈血圧値の比較を行い、どのような因子によりその差異が影響されるかを検討した。岩手県南のH町で、1200名を対象として末梢動脈圧波形から大動脈圧波形を得、大動脈圧を推定した。その結果、大動脈-末梢動脈圧の差は、性、脈拍、身長により影響を受けることを明らかにした。これらの因子を有する例は有しない例に比較すると血圧リスクは過小評価される可能性を報告した(文献)。

炎症性因子と尿中微量アルブミン値：岩手県北地方の8000名を対象として尿中微量アルブミン値と高感度CRP濃度を測定し、この値の関連性を検討した。その結果、両者間には明らかな関連性があることが明らかとなった(文献)。

## **循環器疾患での自然免疫応答に関する分子生物学的研究**

研究代表者	佐藤 衛	所属	内科学第二講座
共同研究者	中村元行	所属	内科学第二講座

### **【研究成果】**

#### **<心筋症の研究>**

研究代表者らは、拡張型心筋症の発症メカニズムについて、エンテロウイルス感染と炎症性サイトカインの発現を介した自然免疫応答の異常に着目し研究してきた。しかし、ウイルス感染がどのような機転で炎症性サイトカインのカスケードを活性化させるかは不明であった。近年、toll様受容体(TLR)が、高等動物の自然免疫機構で極めて重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。すなわち、TLRは、生体に対する様々な外的刺激(微生物感染、ウイルス感染、エンドトキシン、リポ多糖刺激など)を認識し、生体の免疫応答を仲介するシグナル伝達系(ケモカインなど)を活性化する膜タンパク質である。研究者代表者らは、拡張型心筋症の心筋組織でTLR4遺伝子および蛋白質の発現を検出し、この発現が心筋組織でのエンテロウイルス遺伝子の増幅と関連していることを報告した(研究業績2)。この報告は、心筋組織でのエンテロウイルス遺伝子の増幅を介したTLR4の発現が自然免疫応答の機転として働き、拡張型心筋症の発症に関連していることを示唆している。

Osteopontinは、細胞性免疫の活性化過程で第一段階に働く炎症性サイトカインの一つである。Osteopontinの発現は、組織レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系(RAAS)の活性により調節されている。我々は、不全心筋で組織RAASが亢進していることをすでに明らかにしている。Osteopontinは、不全心筋の心筋細胞や血管内皮細胞で発現し、炎症性サイトカインカスケードの活性化および間質コラーゲンの増加、すなわち心血管リモデリング



に關与していることを報告した(文献).

C-reactive protein (CRP)は、炎症性サイトカインの誘導により、肝細胞で産生される炎症マーカーである。近年、心疾患では、高感度 CRP (ごく微量の CRP) が上昇していることが報告され、肝外での CRP 産生が注目されている。我々は、分子生物学的手法で、心不全の心筋組織で CRP が産生されていることを証明した。さらに、心筋組織での CRP の発現は、心不全の臨床的重症度と關連していることを報告した(文献)。

<心筋梗塞症の研究>

心筋梗塞症では、免疫応答細胞での自然免疫応答の亢進が、その重症度や生命予後に關連していると考えられている。そこで、心筋梗塞症での末梢単核細胞でのサイトカインカスケードの活性化に着目し研究した。心筋梗塞症の末梢単核細胞では、腫瘍壊死因子- $\alpha$  変換酵素を介した腫瘍壊死因子- $\alpha$  の産生能が亢進し、その産生能の亢進の程度は、心筋梗塞症の重症度および心合併症(ポンプ失調、致死的な不整脈、心臓死)の発生と關連していた(文献)。すなわち、免疫担当細胞の活性化は、心筋梗塞症の重症度および心合併症の発生に關与をしていることを示唆している。

## **動脈硬化關連遺伝子と薬剂代謝を調べるDNAアレイの基盤開発と臨床応用**

研究代表者	中居賢司	所属	内科学第二講座
共同研究者	中居恵子	所属	内科学第二講座
	幅野 涉	所属	内科学第二講座・DNA 解析室

### **【研究成果】**

#### 1. 研究目的

老年者の循環器疾患の臨床において、動脈硬化疾患感受性の評価や薬剂代謝に基づく個別化医療の導入は重要である。今年度、①動脈硬化關連 SNP 解析のための DNA アレイの開発、②薬物に対する個人の反応性および副作用の少ない医薬品投与と目的とした個別化医療確立のための DNA アレイ開発の基盤研究を行った。

#### 2. 研究方法

- ① 動脈硬化疾患感受性については、MALDI-TOF 法および OligoARRAY 法により RAS 系、血管内皮系、脂質、サイトカイン、凝固系より 15 SNP を選択して民族間 (Ashkenazi Jews, Yemenite Jews) での SNP 頻度の差異を検討した。
- ② 薬物代謝酵素 (CYP450) の遺伝子多型 (SNPs) については、ワーファリンの代謝に關わる SNPs (CYP2C9\*2, CYP2C9\*3) について OligoARRAY 法による解析法を開発した。Direct sequence 法で OligoARRAY 法の解析精度の検証を行い、日本人およびイスラエル民族 200 例での差異を検討した。

#### 3. 研究結果

- ① イスラエル民族 (Ashkenazi Jews and Yemenite Jews) では、AGTR1 gene (A1166C),

Apo E gene (R158C), ADRB3 gene (W64R), TIMP 2 gene (S101S), MTHFR gene (A222V) の遺伝子多型の頻度に差異を認めた(文献).

- ② OligoARRAY 法による CYP2C9\*2 および CYP2C9\*3 変異の解析精度は Direct sequence 法と一致した.
- ③ CYP2C9\*1, CYP2C9\*2 および CYP2C9\*3 の解析では, 日本人とイスラエル人との民族間で CYP2C9 遺伝子 SNPs の頻度に明らかな差を認めたく日本人 (0.993, 0.007, 0), Ashkenazi Jews (0.850, 0.07, 0.08), Yemenite Jews (0.85, 0.086, 0.064), Moroccan Jews (0.724, 0.138, 0.138), Libian Jews (0.676, 0.211, 0.113) (投稿中).

#### 4 結 論

- ① 動脈硬化疾患感受性 15 SNP の頻度には, 民族間差異を認めた.
- ② CYP2C9\*2 および CYP2C9\*3 の SNPs を解析する OligoARRAY 法を開発した.
- ③ 日本人とイスラエル人との民族間で CYP2C9 遺伝子 SNPs の頻度に明らかな差を認めた.

### **劇症肝炎の発症機序ならびに治療法に関する研究**

研究代表者	滝川康裕	所属	内科学第一講座
共同研究者	林 世徳	所属	内科学第一講座
	佐藤彰宏	所属	内科学第一講座
	遠藤龍人	所属	内科学第一講座
	鈴木一幸	所属	内科学第一講座

#### 【研究成果】

肝疾患は年齢とともに重症化する傾向にありことに劇症肝炎の予後は高齢者ほど不良とされている。我々は、劇症肝炎の発症機序すなわち急性肝炎の劇症化の機序を解明し、新たな治療法を開発することにより予後を改善させることを最終的な目的として、疫学、炎症免疫学的解析、血液凝固・循環動態、細胞生物学的見地など多方面から研究を進めている。

疫学的見地として、我々は厚生労働省「難治性の肝疾患調査研究班」において 1993 年から 1997 年の 5 年間全国集計を担当したが、肝移植療法の本格的な導入前の日本の劇症肝炎の疫学的な特徴をまとめるために 1983 年から 1997 年までの 15 年間の全国集計を再度解析し報告した。この研究により、劇症肝炎の救命率は専門施設でも平均 30%台と低く、ことに 50 才台以降の高齢者は亜急性型の発症が多く予後も著しく不良であることが明らかになった(文献)。

このような状況にある劇症肝炎の救命率を改善させるためには、発症機序すなわち急性

肝炎の劇症化機構の解明が不可欠であり、そのためには、サイトカインをはじめとした炎症免疫機構の解析、炎症に伴う肝微小循環障害機構、さらにこれらを踏まえた肝細胞保護機構の解明が重要である。そこで、これまで臨床的に研究を進めてきた炎症性サイトカインと肝障害との関連およびそれに対する内因性防御機構の解析を目的として、炎症性サイトカインによる内因性ウリナスタチン分泌機構の基礎的な検討を行った。その結果、肝癌細胞株 HepG2 が、ウリナスタチンを分泌すること、およびその発現が IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 により誘導されることを mRNA, 蛋白レベルで明らかにした(文献)。このことは肝細胞自身が炎症に対して防御機構を発現する可能性を示すものである。

さらに、肝炎劇症化の機構の一つとして古くから注目されている類洞内血栓と肝細胞アポトーシスとの関連を解析する目的で、アポトーシス肝細胞による血液凝固活性化の機序を検討した。その結果、アポトーシス肝細胞表面に発現するフォスファチジルセリンが活性化 X 因子によるプロトロンビン活性化を促進すること、およびこの反応がフォスファチジルセリンの特異的阻害物質である Annexin V により抑制されることを明らかにした(文献)。この成果は、これまでもっぱら類洞内皮の障害によると考えられていた類洞内血栓形成が、肝細胞自身のアポトーシスによって引き起こされることを示すとともに、微小血栓の予防による劇症化回避の可能性を示唆するものである。

一方、抗血栓治療に加え、肝細胞アポトーシス自体の抑制も劇症化回避には重要であり、肝細胞の抗アポトーシス治療として、プロスタグランジン受容体アゴニスト(PGE2R-A)の作用を検討した。その結果、PGE2R-A は HepG2 細胞に抗アポトーシス蛋白である Bcl-xL, Mc1-1 の発現を誘導することによりアポトーシスを抑制することを明らかにした(文献)。この成果は、劇症肝炎をはじめとする重症肝炎の治療に、抗炎症のみでなく肝細胞自体のプロスタグランジンシグナルを賦活させることの重要性を示すものである。

## **骨粗鬆症における微量元素の解析研究**

研究代表者	板井一好	所属	衛生学公衆衛生学講座
共同研究者	小野田敏行	所属	衛生学公衆衛生学
	室岡玄洋	所属	整形外科学講座

### **【研究成果】**

微量元素と骨代謝との関係については不明な点が多い。多くの元素が骨組織中に蓄積され、骨代謝に伴って血液中に放出されることが考えられる。本研究では、Y 町において住民から無作為に抽出した 40 歳代から 70 歳代の男女約 200 名について、栄養調査、生活習慣に関する調査、血液検査及び骨密度測定を実施した集団について、血液中の微量元素と骨密度との関連について検討することを目的とする。血液中のフッ素イオン濃度について測定済みで、女性では 50 歳代から濃度が上昇して閉経後の骨代謝の変化を反映していること

が示唆された。男性では60歳代から上昇しており、高齢に伴う骨吸収優位な骨代謝状態を反映すると考えられる。一方、骨密度値とフッ素イオン濃度との間に関連は認められていない。血清中のフッ素イオン濃度は調査時の骨代謝を反映しており、調査時の骨密度測定値とはタイムラグが存在するものと推測される。今後、より多くの元素について検討するとともに、食生活習慣などとの関連についても検討する。

本学整形外科で骨粗鬆症と診断された女性患者について、DEXA装置で腰椎骨密度を、骨代謝マーカーとして血清中骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)、尿中デオキシピリジノリン (DPD)、血清中酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) をそれぞれ測定した。血清中フッ素イオン濃度とこれらとの関係について検討した。血清中のフッ素イオン濃度 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) は、50歳代: 11.3 1.5, 60歳代: 13.3 3.6, 70歳代: 13.1 4.0 で、いずれの年代においても Y 町で実施した測定値 (対照群) に比し有意に ( $p < 0.01$ ) 高値を示した。BAP 及び DPD も患者群で有意に ( $p < 0.05$ ) 高値を示した。患者群及び対照群ともに骨密度値と血清中フッ素イオン濃度との間に相関関係は認められなかった。血清中フッ素イオン濃度と患者群のみに行った TRAP との間で有意な ( $p < 0.01$ ) 負の相関関係を認めた。その他のマーカーとは関連が認められなかった。患者群について、治療開始後2年間にわたって追跡する予定である。

## **カルボニル化タンパクを指標とした個体老化の研究**

研究代表者	青木康博	所属	法医学講座
共同研究者	熊谷章子	所属	法医学講座

### **【研究成果】**

疾病や老化との関与が指摘されている修飾タンパクであるカルボニル化合物の蓄積と加齢との関連を検討するため予備的な検討を行った。健康人ボランティアから採取した血液より血清を分離し、2,4-ジニトロフェニル-ヒドラジン (OxyBlot™ Protein Oxidation Detection Kit) を反応させ、カルボニル化合物存在下で2,4-ジニトロフェニル-ヒドラジンを生成させた。次いでSDS-PAGEにてタンパク質を分離し、ウェスタンブロッティングを行った後、一次抗体にウサギ抗DNP抗体、二次抗体にHRP標識抗ウサギIgGを用いた酵素抗体法により2,4-ジニトロフェニル-ヒドラジンを検出した。

その結果、20000kD以下の低分子タンパク領域において、加齢に伴うシグナル濃度の上昇傾向が認められ、個体老化の指標となりうることが示唆された。

## **前癌病変における細胞／組織分化に関わるエピジェネティックな遺伝子制御機構の解除**

研究代表者	前沢千早	所属	病理学第二講座
共同研究者	小笠原聡	所属	外科学第一講座
	秋山有史	所属	外科学第一講座
	岩谷 岳	所属	外科学第一講座
	和田 圭	所属	皮膚科学講座
	藤澤健太郎	所属	外科学第一講座
	藤田倫寛	所属	病理学第二講座
	木村聡元	所属	病理学第二講座

### 【研究成果】

(背景・目的) 悪性腫瘍の発生進展の過程には、複数のがん関連遺伝子の発現制御に関わるエピジェネティックな異常が蓄積する。我々は、前癌病変あるいはがん組織で、特異的にエピジェネティックな発現制御状態の変化している遺伝子に注目して、解析を進めている。

(結果) serine protease inhibitor (SERPIN) family であり、乳癌のがん抑制遺伝子として単離された maspin について以下の結果を得た。

- 胃癌，甲状腺，胆道癌，膵癌などの上皮系腫瘍では，プロモーター領域の DNA 脱メチル化が生じ aberrant な maspin の発現が高頻度に生じていた。これらの腫瘍では，DNA 脱メチル化とヒストンアセチル化の状態は相関し，ヒストンメチル化とは逆相関の関係を示した(文献)。
- これに対して，悪性黒色腫，神経膠芽腫，骨肉腫などの間葉系腫瘍では，aberrant な maspin の発現は認められなかった(文献)。
- 胃の腸上皮化生性粘膜で aberrant な発現が確認された。
- 甲状腺乳頭癌では maspin の発現は見られず，未分化癌でのみ aberrant に発現していた。異型度・悪性度との関連が示唆された(文献)。
- 肝癌では，maspin のプロモーター領域は DNA hypomethylation，histone hyperacetylation 状態であるにも関わらず，蛋白質の発現は確認できなかった。このことは，肝癌における maspin 発現には，epigenetic な機構以外の制御が働いていると考えられた(文献)。

(考案) 上皮系腫瘍では，エピジェネティックな遺伝子制御機構の解除により，maspin の aberrant な発現が高頻度に生じていた。maspin の発現は化生性変化や細胞の異型度と良く相関し，細胞の分化に関連して生じている可能性が示唆された。

(展望)

- maspin inducible clone を作成し，microarray，Powerblot，proteome 解析により，maspin 遺伝子発現が影響を与える分子群の変化を網羅的にとらえる。
- DNA hypomethylation，histone hyperacetylation 状態であるにも関わらず発現の認められなかった肝癌については，転写因子に関する解析を行う。

## 業 績

### Original Papers

1. **Nakayashiki N**, Kanetake J, **Aoki Y**. A parent-of-origin detectable polymorphism in hypermethylated region upstream of the human *H19* gene. **Int J Legal Med**. 2004;118:158-62. (IF 2.093)
2. **Sugai T**, Inomata M, Uesugi N, Jiao Y-F, Endoh M, Orii S, **Nakamura S**. Analysis of mucin, p53 protein and Ki-67 expressions in gastric differentiated-type intramucosal neoplastic lesions obtained from endoscopic mucosal resection samples: A proposal for a new classification of intramucosal neoplastic lesions based on nuclear atypia. **Pathol Int**. 2004;54(6):425-35. (IF 1.163)
3. Jiao Y-F, **Sugai T**, Suzuki M, Uesugi N, **Habano W**, **Nakamura S**, Takagane A, Suto T, Yoshida T. Application of the crypt isolation technique to the flow cytometric analysis of DNA content in gastric carcinoma. **Hum Pathol**. 2004;35(5):587-93. (IF 3.685)
4. Ishii M, **Sugai T**, **Habano W**, **Nakamura S**. Analysis of Ki-ras gene mutations within the same tumor using a single tumor crypt in colorectal carcinomas. **J Gastroenterol**. 2004;39(6):544-9. (IF 1.179)
5. **Sugai T**, **Habano W**, Uesugi N, Jiao Y-F, **Nakamura S**, Abe K, Takagane A, Terashima M. Three independent genetic profiles based on mucin expression in early differentiated-type gastric cancers - a new concept of genetic carcinogenesis of early differentiated-type adenocarcinomas. **Mod Pathol**. 2004;17(10):1223-34. (IF 3.323)
6. Jiao Y-F, **Sugai T**, **Habano W**, Suzuki M, Takagane A, **Nakamura S**. Analysis of microsatellite alterations in gastric carcinoma by applying the crypt isolation technique. **J Pathol**. 2004; 204(2):200-7. (IF 4.933)
7. Tozawa T, Tamura G, Honda T, Nawata, Kimura W, Makino N, Kawata S, **Sugai T**, Suto T, Motoyama T. Promoter hypermethylation of DAP-kinase is associated with poor survival in primary biliary tract carcinoma patients. **Cancer Sci**. 2004; 95; 741-4. (former Jpn J Cancer Res IF 1.918)
8. Takeda Y, Satoh M, **Nakamura S**. Pigmented pleomorphic adenoma, a novel melanin-pigmented benign salivary gland tumor. **Virchows Arch**. 2004;445(2):199-202. (IF 2.357)
9. Satoh H, **Nakamura M**, **Satoh M**, Nakajima T, **Izumoto H**, **Maesawa C**, **Kawazoe K**, **Masuda T**, **Hiramori K**. Expression and localization of tumour necrosis factor- $\alpha$  and its converting enzyme in human abdominal aortic aneurysm. **Clin Sci (Lond)**. 2004;106(3):301-6. (IF 2.117)
10. **Satoh M**, **Nakamura M**, Akatsu T, Shimoda Y, Segawa I, **Hiramori K**. Toll-like receptor 4 is expressed with enteroviral replication in myocardium from patients with dilated cardiomyopathy. **Lab Invest**. 2004;84(2):173-81. (IF 4.418)
11. **Nakamura M**, Sugawara S, Arakawa N, Nagano M, Shizuka T, Shimoda Y, Sakai T, **Hiramori K**. Reduced vascular compliance is associated with impaired endothelium-dependent dilatation in the brachial artery of patients with congestive heart failure. **J Card Fail**. 2004;10(1):36-42. (IF 2.000)
12. Ueshima K, Kobayashi N, Kamata J, Saitoh M, Yamazaki T, Chiba I, **Hiramori K**. Do the right precordial leads during exercise testing contribute to detection of coronary artery disease? **Clin Cardiol**. 2004;27(2):101-5. (IF 1.221)

13. Ueshima K, Chiba I, Saitoh M, Kobayashi N, Sato M, Hayashida K, Sakai T, Matsui H, **Hiramori K**. Factors affecting ST depression during cardiopulmonary exercise testing in patients with mitral stenosis without significant coronary lesions. **Jpn Heart J**. 2004;45(2):251-5. (IF 0.300)
14. Ueshima K, Fukami K, **Hiramori K**, Hosoda S, Kishida H, Kato K, Fujita T, Tsutani K, Sakuma A; Japanese Acute Myocardial Infarction Prospective study group. Is angiotensin-converting enzyme inhibitor useful in a Japanese population for secondary prevention after acute myocardial infarction? A final report of the Japanese Acute Myocardial Infarction Prospective (JAMP) study. **Am Heart J**. 2004;148(2):e8. (IF 3.300)
15. Okajima T, Ueshima K, Nishiyama O, Ogawa M, Aisaka M, Saito M, Masahiro K, Muranaka K, Nagamine M, **Hiramori K**. A case of recurrent breast cancer detected by Tc-99m tetrofosmin myocardial scintigraphy. **Clin Nucl Med**. 2004;29(9):597. (IF 0.737)
16. Ohsawa M, **Nakamura M**, Pan LH, Shizuka T, Nakagawa J, Ishida H, Ouchi M, Shioto T, Hotta K, Sawai T, **Hiramori K**. Post-operative constrictive pericarditis complicated with lymphocytopenia and hypoglobulinemia. **Intern Med**. 2004;43(9):811-5. (IF 1.012)
17. **Satoh M**, Iwasaka J, **Nakamura M**, Akatsu T, Shimoda Y, **Hiramori K**. Increased expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme and tumor necrosis factor- $\alpha$  in peripheral blood mononuclear cells in patients with advanced congestive heart failure. **Eur J Heart Fail**. 2004;6(7):869-75. (IF 2.938)
18. Ueshima K, Kamata J, Kobayashi N, Saito M, Sato S, **Kawazoe K**, **Hiramori K**. Effects of exercise training after open heart surgery on quality of life and exercise tolerance in patients with mitral regurgitation or aortic regurgitation. **Jpn Heart J**. 2004;45(5):789-97. (IF 0.330)
19. **Nakamura M**, Onoda T, **Itai K**, Ohsawa M, Satou K, Sakai T, Segawa T, Sasaki J, Tonari Y, **Hiramori K**, Okayama A. Association between serum C-reactive protein levels and microalbuminuria: a population-based cross-sectional study in northern Iwate, Japan. **Intern Med**. 2004;43(10):919-25. (IF 1.012)
20. Kon H, **Nakamura M**, Arakawa N, **Hiramori K**. Muscle metaboreflex is blunted with reduced vascular resistance response of nonexercised limb in patients with chronic heart failure. **J Card Fail**. 2004;10(6):503-10. (IF 2.000)
21. Sato S, **Suzuki K**, **Takikawa Y**, Endo R, Omata M. Clinical epidemiology of fulminant hepatitis in Japan before the substantial introduction of liver transplantation: an analysis of 1309 cases in a 15-year national survey. **Hepatol Res**. 2004;30(3):155-161. (IF 0.991)
22. Sainokami S, Abe K, Kumagai I, Miyasaka A, Endo R, **Takikawa Y**, **Suzuki K**, Mizuo H, Sugai Y, Akahane Y, Koizumi Y, Yajima Y, Okamoto H. Epidemiological and clinical study of sporadic acute hepatitis E caused by indigenous strains of hepatitis E virus in Japan compared with acute hepatitis A. **J Gastroenterol**. 2004;39(7):640-8. (IF 1.179)
23. Lin SD, **Takikawa Y**, Endo R, **Suzuki K**. Proinflammatory cytokines up-regulate synthesis and secretion of urinary trypsin inhibitor in human hepatoma HepG2 cells. **Hepatol Res**. 2004;29(4):243-248. (IF 0.991)
24. Lin SD, Endo R, Kuroda H, Kondo K, Miura Y, **Takikawa Y**, Kato A, **Suzuki K**. Plasma and urine levels of urinary trypsin inhibitor in patients with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. **J Gastroenterol Hepatol**. 2004;19(3):327-32. (IF 1.530)
25. Ushio A, **Takikawa Y**, Lin SD, Miyamoto Y, **Suzuki K**. Induction of Bel-xL is a possible mechanism of anti-apoptotic effect by prostaglandin E2 EP4-receptor agonist in human

- hepatocellular carcinoma HepG2 cells. **Hepatol Res** 2004;29:173-179. (IF 0.991)
26. Miyamoto Y, **Takikawa Y**, De Lin S, Sato S, **Suzuki K**. Apoptotic hepatocellular carcinoma HepG2 cells accelerate blood coagulation. **Hepatol Res**. 2004;29(3):167-172. (IF 0.991)
  27. Kato H, Sugauchi F, Ozasa A, Kato T, Tanaka Y, Sakugawa H, Sata M, Hino K, Onji M, Okanoue T, Tanaka E, Kawata S, **Suzuki K**, Hige S, Ohno T, Orito E, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotype G is an extremely rare genotype in Japan. **Hepatol Res**. 2004;30(4):199-203. (IF 0.991)
  28. Kato A, Kato M, Ishii H, Ichimiya Y, **Suzuki K**, Kawasaki H, Yamamoto SI, Kumashiro R, Yamamoto K, Kawamura N, Hayashi N, Matsuzaki S, Terano A, Okita K, Watanabe A. Development of quantitative neuropsychological tests for diagnosis of subclinical hepatic encephalopathy in liver cirrhosis patients and establishment of diagnostic criteria-multicenter collaborative study in Japanese. **Hepatol Res**. 2004;30(2):71-78. (IF 0.991)
  29. Sawara K, Kato A, Yoshioka Y, **Suzuki K**. Brain glutamine and glutamate levels in patients with liver cirrhosis: assessed by 3.0-T MRS. **Hepatol Res**. 2004;30(1):18-23. (IF 0.991)
  30. Inomata M, Endo M, Obara H, Hashimoto Y, Terui T, Oana S, Kudara N, Chiba T, Orii S, **Suzuki K**. Endoscopic papillary balloon dilation in the management of common bile duct stones in patients with Roux-En-Y reconstruction. **Endoscopy**. 2004;36(7):669. (IF 3.227)
  31. Endo M, Inomata M, Terui T, Oana S, Kudara N, Obara H, Hashimoto Y, Chiba T, Orii S, **Suzuki K**. New endoscopic technique to close large mucosal defects after endoscopic mucosal resection in patients with gastric mucosal tumors. **Digestive Endoscopy** 2004; 16:372-375.
  32. Nakai K, **Nakai K**, Nagane Y, Obara W, Sato M, Ohi K, Matsumoto N, Takanashi N, Itoh C. Serum levels of cardiac troponin I and other marker proteins in patients with chronic renal failure. **Clin Exp Nephrol**. 2004;8(1):43-7.
  33. **Nakai K, Habano W**, Nakai K, Fukushima N, Fujita T, Gurwitz D. Ethnic differences of coronary artery disease-associated SNPs in two Israeli healthy populations using MALDI-TOF mass spectrometry. **Life Sci**. 2004;75(8):1003-10. (IF 1.944)
  34. Ogasawara S, **Maesawa C**, Yamamoto M, Akiyama Y, Wada K, Fujisawa K, Higuchi T, Tomisawa Y, Sato N, Endo S, **Saito K, Masuda T**. Disruption of cell-type-specific methylation at the Maspin gene promoter is frequently involved in undifferentiated thyroid cancers. **Oncogene**. 2004 Feb 5;23(5):1117-24. (IF 6.495)
  35. Itabashi T, **Maesawa C**, Uchiyama M, Higuchi T, **Masuda T**. Quantitative detection of mutant alleles of the K-ras gene with minor groove binder-conjugated fluorogenic DNA probes. **Int J Oncol**. 2004;24(3):687-96. (IF 2.536)
  36. Uchiyama M, **Maesawa C**, Yashima-Abo A, Tarusawa M, **Satoh M**, Satoh T, **Ishida Y**, Ito S, Murai K, Enomoto S, Utsugisawa T, **Masuda T**. Short consensus probes with 3'-minor groove binder of the immunoglobulin heavy-chain gene for real-time quantitative PCR in B-cell non-Hodgkin lymphomas. **Lab Invest**. 2004;84(7):932-6. (IF 4.418)
  37. Oyama K, Terashima M, Takagane A, **Maesawa C**. Prognostic significance of peritoneal minimal residual disease in gastric cancer detected by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Br J Surg**. 2004;91(4):435-43. (IF 3.772)
  38. Wada K, **Maesawa C**, Akasaka T, **Masuda T**. Aberrant expression of the maspin gene



- associated with epigenetic modification in melanoma cells. **J Invest Dermatol.** 2004;122(3):805-11. (IF 4.194)
39. Sato A, Imaizumi M, Chikaoka S, Niizuma H, Hoshi Y, Takeyama J, Fujii K, Nishio T, Watanabe M, **Maesawa C**, Hayashi Y, Iinuma K. Acute renal failure due to leukemic cell infiltration followed by relapse at multiple extramedullary sites in a child with acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Lymphoma.** 2004;45(4):825-8. (IF 1.163)
  40. Takamiya M, Saigusa K, Kumagai R, **Nakayashiki N**, **Aoki Y**. Studies on mRNA expression of tissue-type plasminogen activator in bruises for wound age estimation. **Int J Legal Med.** 2005;119(1):16-21. (IF 2.093)
  41. **Sugai T**, **Habano W**, Jiao Y-F, Suzuki M, Takagi R, Otsuka K, Higuchi T, **Nakamura S**. Analysis of allelic imbalances at multiple cancer-related chromosomal loci and microsatellite instability within the same tumor using a single tumor gland from colorectal carcinomas. **Int J Cancer.** 2005;114(3):337-45. (IF 4.357)
  42. **Nakamura M**, Sato K, Nagano M. Estimation of aortic systolic blood pressure in community-based screening: the relationship between clinical characteristics and peripheral to central blood pressure differences **J Hum Hypertens.** 2005;19(3):251-3. (IF 1.406)
  43. Fujisawa K, **Maesawa C**, Sato R, Wada K, Ogasawara S, Akiyama Y, Takeda M, Fujita T, Otsuka K, Higuchi T, **Suzuki K**, Saito K, **Masuda T**. Epigenetic status and aberrant expression of the maspin gene in human hepato-biliary tract carcinomas. **Lab Invest.** 2005;85(2):214-24. (IF 4.418)
  44. Uchiyama M, **Maesawa C**, Yashima-Abo A, Tarusawa M, Endo M, Sugawara W, Chida S, Onodera S, Tsukushi Y, **Ishida Y**, Tsuchiya S, **Masuda T**. Consensus JH gene probes with conjugated 3'-minor groove binder for monitoring minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. **J Mol Diagn.** 2005;7(1):121-6. (IF 3.571)
  45. Shimoda Y, **Satoh M**, **Nakamura M**, Akatsu T, **Hiramori K**. Activated tumor necrosis factor- $\alpha$  shedding process is associated with in-hospital complication in patients with acute myocardial infarction. **Clin Sci (Lond)**., in press (2004 Dec 17; Epub ahead of print) (IF 2.117)
  46. **Satoh M**, **Nakamura M**, Akatsu T, Shimoda Y, Segawa I, **Hiramori K**. Myocardial osteopontin expression is associated with collagen fibrillogenesis in human dilated cardiomyopathy. **Eur J Heart Fail.**, in press. (IF 2.938)
  47. **Nakamura M**, Sakai T, Osawa M, Onoda T, Yonezawa S, Okayama A, **Hiramori K**. Comparison of positive cases for B-type natriuretic peptide and ECG testing for identification of precursor forms of heart failure in an elderly population. **Jpn Heart J.**, in press. (IF 0.300)
  48. Segawa, T, **Nakamura M**, **Itai K**, Onoda T, Okayama A, **Hiramori K**. Plasma B-type natriuretic peptide levels and risk factors for congestive heart failure in a Japanese general population. **Jpn Heart J.**, in press. (IF 0.300)
  49. Nagano M, **Nakamura M**, Sato K, Tanaka F, Segawa T, **Hiramori K**. Association between serum C-reactive protein levels and pulse wave velocity: a population-based cross-sectional study in a general population. **Atherosclerosis.**, in press. (IF 3.603)
  50. **Sugai T**, **Habano W**, Jiao Y-F, Suzuki M, Takagane A, **Nakamura S**. Analysis of genetic alterations associated with DNA diploidy, aneuploidy and multiploidy in gastric cancers. **Oncology.**, in press. (IF 2.381)

51. Hamada T, Goto M, Tsutsumida H, Nomoto M, Higashi M, **Sugai T, Nakamura S**, Yonezawa S. Mapping of the methylation pattern of the MUC2 promoter in pancreatic cancer cell lines, using bisulfite genomic sequencing. **Cancer Lett.**, in press. (IF 2.641)
52. **Takanami T, Kubota Y, Horiuchi S**. The Arg280His polymorphism in X-ray repair cross-complementing gene 1 impairs DNA repair ability. **Mutation Res.**, in press. (3.987)
53. Terashima M, **Maesawa C**, Oyama K, Ohtani S, Akiyama Y, Ogasawara S, Takagane A, Saito K, **Masuda T**, Kanzaki N, Matsuyama S, Hoshino Y, Kogure M, Gotoh M, Shirane M, Mori M. Gene expression profiles in human gastric cancer -Expression of maspin correlates with lymph node metastasis. **Br J Cancer.**, in press. (IF 3.849)
54. Iwaya T, **Maesawa C**, Uesugi N, Kimura T, Ogasawara, Ikeda K, Kimura Y, Mitomo S, Ishida K, Sato N, Saito K, **Masuda T**. Infrequent mutation of the human envoplakin gene closely linked to the tylosis oesophageal cancer (TOC) locus in sporadic oesophageal squamous cell carcinomas. **Oncol Rep.**, in press. (IF 1.256)

#### **Proceedings, Books, and Others**

1. **Nakamura M**. Cardiac B-type natriuretic peptide testing and preclinical heart failure screening. **Current Topics in Peptide & Protein Research** 2004; 6: 57-63.
2. Kamata H, **Hiramori K**, Mizunuma Y, Kanno T. New Ambulatory Electrocardiography (AECG) Network - Cost Advantage Over Inhouse Analysis. **Medinfo**. 2004 (CD):1641.
3. Kato A, **Suzuki K**. How to select BCAA preparations. *Hepato Res* 2004;30S:30-35.
4. **Suzuki K**, Kato A, Iwai M. Branched-chain amino acid treatment in patients with liver cirrhosis. *Hepato Res* 2004;30S:25-29.
5. **Kubota Y, Takanami T, Horiuchi S**. Analysis of the XRCC1 mutant cells: BRCT motifs and polymorphism. American Society for Microbiology Conference on DNA Repair and Mutagenesis: From Molecular Structure to Biological Consequences, Bermuda, November. Book of Abstracts, p40. 2004.

## ープロジェクト2ー

### 組織

プロジェクトリーダー 藤岡知昭和

プロジェクト推進委員

藤岡知昭, 近田 龍一郎, 石田陽治, 小宅達郎, 鈴木啓二郎, 小笠原邦昭, 別府高明, 吉田研二, 久保慶高, 齋藤和好, 柏葉匡寛, 川副浩平, 泉元浩史, 平 英一, 近藤ゆき子, 杉山 徹, 利部正裕, 高橋和宏, 谷田達男, 友康 信, 増田友之

計 21名

### 研究成果

#### 腎細胞癌のミニ移植モデルマウスの開発

研究代表者	石田陽治	所属	血液内科学講座
共同研究者	藤岡知昭	所属	泌尿器科学講座
	大森 聡	所属	泌尿器科学講座
	柏葉匡寛		外科学第一講座

#### 【研究成果】

腎細胞癌(RCC)に対する非破壊的幹細胞移植(RIST)モデルマウスの作製とその応用モデルマウスの作製をして以下の点を明らかとする。

- (A) RIST が効果ある治療法かどうかの検討
- (B) どのリンパ球が抗腫瘍効果を示しているのか
- (C) このマウスモデルで移植治療の効果を予知できるか

#### 研究成果

##### 1. 細胞株を使ったマウス実験モデルの開発

RCCの細胞株としてA498(HLA-A2+)を用いる。この細胞株はHLA-A2拘束性にMUC-1を発現している。

- (a) **MUC1 ペプチド特異的 HLA-A2 拘束性 CTL クローン細胞の樹立**：正常ヒト末梢血(HLA-A2+)から単核球をとりだし、付着細胞を得た。GM-CSF, IL-4とともに培養後、5日目にTNF- $\alpha$ を加え培養し樹状細胞を得た。同様に単核球をMUC1ペプチド添加自己樹状細胞で繰り返し刺激しCTLクローン細胞を樹立した。
- (b) **A498 担癌マウスの作製**：SCIDマウスの皮下にA498細胞を植え込み生存曲線を検討した。9.0x10<sup>6</sup>のA498細胞を皮下に植え込むと平均67日(52日、81日)の生存を示した。3.5x10<sup>7</sup>では平均48日(30日、34日、75日)の生存を示した。今後の実験には5.0x10<sup>7</sup>の皮下投与が好ましいと考えられた。
- (c) **抗腫瘍活性の確認**：A498細胞と上述のCTL細胞を加えて培養後、A498細胞の細胞障害率をフローサイトメトリーで検討した。
- (d) **CTL細胞のin vivo抗腫瘍効果の評価**：A498担癌マウスに毎週1x10<sup>6</sup>のCTL細胞を

輸注していき、腫瘍の大きさ、生存率を比較検討した。コントロールとしてCTL細胞のかわりにヒトリンパ球 (HLA-A2+あるいはHLA-A2-) を輸注した。現在、施工中であるが、コントロール群では 25 日、63 日に全匹死亡したのに対し、CTL細胞輸注群では 1 匹が 42 日に死亡したが、他は生存中である。

## **腎癌の発症機構の解明および新たな治療への展開**

研究代表者	近田 龍一郎	所属	泌尿器科学講座
共同研究者	小原 航	所属	泌尿器科学講座

### **【研究成果】**

腎細胞癌を合併した後天性嚢胞腎 (ARCD) を対象に肝細胞増殖因子 (HGF) とその受容体である c-met およびそのシグナル伝達因子である Bcl-2 の発現検討を行った。16 例 19 腎 (男 14、女 2) を対象として、摘出組織を用いて HGF, c-met, Bcl-2 について免疫組織学および RT-PCR 法により検討した。その結果、正常腎において HGF の発現は尿細管細胞でほとんど認めなかった。c-met および Bcl-2 の発現は主に遠位尿細管細胞で認めた。腎癌を合併した ARCD 組織中の非腫瘍部では HGF および c-met は尿細管、嚢胞壁に発現を強く認めた。これらの発現は hyperplastic cyst に顕著であった。また腫瘍部でも HGF, c-met の発現を認めた。Bcl-2 の発現パターンは HGF や c-met の発現パターンと類似していた。RT-PCR の結果 HGF は正常腎では発現を認めなかったのに対して、腎癌合併の ARCD 組織中の非腫瘍部、腫瘍部で発現を認めた。これらの結果から、HGF, c-met の発現亢進は尿細管の嚢胞形成や引き続き生じうる癌化に関与する可能性が示唆された。さらに Bcl-2 の発現の増加は、この過程におけるアポトーシスの回避に関与していることが推測された (文献)。

活性型 vitamin D はカルシウム代謝調節以外に癌細胞増殖抑制効果を有することが示唆されており、その作用は vitamin D receptor (VDR) および Retinoid X receptor (RXR) を介して発揮されるとされる。腎癌組織 23 検体 (腫瘍部・非腫瘍部) を用いて VDR, RXR- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\gamma$  遺伝子について RT-PCR, Real-Time PCR により mRNA レベルでの発現検討を行った。結果、腎癌組織における VDR および RXR- $\beta$  は腫瘍部と非腫瘍部で発現差は認めなかった。RXR- $\alpha$  は非腫瘍部に比較して腫瘍部で有意に発現が亢進していた ( $p < 0.0001$ )。RXR- $\gamma$  は非腫瘍部に比較して腫瘍部で有意に発現が低下していた ( $p < 0.05$ )。有意差は認めなかったが腫瘍部における RXR- $\alpha$  の発現は癌の stage が進行するに連れて上昇している傾向を認めた。逆に RXR- $\gamma$  の発現は stage が進行するに連れて低下している傾向を認めた。これらの結果から、腎癌における RXR $\alpha$  および RXR $\gamma$  遺伝子は腫瘍部と非腫瘍部で異なる発現を呈しさらに進行度と関連しており、活性型 vitamin D の作用に影響を及ぼす可能性が示唆された (文献)。

## **慢性虚血脳に対する血行再建後に出現する過灌流の病態・意義・対策・診断・予知に関する研究**

研究代表者	小笠原邦昭	所属	脳神経外科学講座
共同研究者	久保慶高	所属	脳神経外科学講座
	吉田研二	所属	脳神経外科学講座

### **【研究成果】**

[目的]慢性虚血脳に対する血行再建後に出現する過灌流の病態・意義を解明し、その対策・診断・予知を確立することを目的とする。

[方法]対象は慢性虚血脳に対し脳虚血発作再発目的に血行再建術を施行した150例である。

1)術前後に脳血流 SPECT を行った。2)術中に近赤外線による経頭蓋的脳局所酸素飽和度測定および超音波によるドップラー法を用いた経頭蓋的中大脳動脈血流速度測定を行った。3)術前後に高次脳機能の測定を行った。4)150例を95例と55例に分け、後者の群ではフリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンを術中投与し、術後過灌流および術後高次脳機能障害の出現頻度を比較した。

[結果・結論]1)術後数日間過灌流を呈した時に初めて症状(過灌流症候群)をきたす(文献)。2)術後過灌流はたとえ無症候性であっても術後高次脳機能障害の原因となる(文献)。さらに、過灌流症候群をきたすと高次脳機能障害は遷延する(文献)。3)フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンの術中投与は術後過灌流そのものの発生頻度を有意に低下させるのみならず<sup>7)</sup>、術後高次脳機能障害の発生頻度も有意に低下させる(文献)。4)術中の経頭蓋的脳局所酸素飽和度測定および経頭蓋的中大脳動脈血流速度測定は術後過灌流の術中診断のtoolとして有用である(文献)。5)術前の脳循環の低下は有意な術後過灌流の予測因子である(文献)。

## **高磁場MRIを用いた悪性脳腫瘍の解剖学的解析**

研究代表者	別府高明	所属	脳神経外科学講座
-------	------	----	----------

### **【研究成果】**

麻痺を伴った悪性神経膠腫症例に高磁場MRIによる3 dimensional anisotropy contrast axonography (3DAC)を施行し、3DACが腫瘍と錐体路の位置関係の把握のみならず、3DACの色彩の変化が錐体路への腫瘍細胞の浸潤や神経路破壊を、造影MRIで検出できる時期より以前に推測しうる可能性を明らかにした(文献)。

悪性神経膠腫症例において、腫瘍内に関心領域において測定したFA値がグリオーマの組織

型と関係があることを明かにし、症例毎に術前診断に利用可能であることを報告した(文献). また、膠芽腫において FA 値が細胞増殖能と相関があるを報告した(文献). これらの結果により FA 値は腫瘍細胞に密度に影響を受けることが示唆された.

## **高齢者感染症に対する効果的粘膜免疫型ワクチンの開発**

研究代表者	吉野直人	所属	細菌学講座
共同研究者	萩原由加利	所属	北里研究所・生物製剤研究所・開発研究部門

### **【研究成果】**

殆どの病原微生物は体外と体内環境の接点となっている鼻腔・口腔にはじまり呼吸器、消化器、泌尿生殖器を被っている粘膜面を介して侵入してくる。生体の第一線の防御バリアーとして機能している粘膜局所のみならず、全身系にも特異的免疫応答も誘導しうる粘膜ワクチンは、非常に有効な感染防御手段である。この粘膜ワクチン開発の鍵を握っているのが、有効で安全な粘膜アジュバントの開発である。我々はタンパク抗原を粘膜アジュバントと共に経鼻接種する方法が最も実用化に近いと考えている。そして、コレラ菌由来のコレラ毒素(nCT)や大腸菌由来の易熱性毒素(LT)の強力な粘膜アジュバント効果に注目し、遺伝的手法により毒性がなく且つ粘膜増強作用が維持されている無毒化変異コレラ毒素(mCT)の開発を進めた。アカゲザルを用いた実験において、タンパク抗原とCTを経鼻接種したところ、粘膜免疫増強活性が認められたものの、CTが嗅神経等の中枢神経系へ取り込まれ、神経障害を認める所見が得られたが、我々のグループで開発を進めてきたCTのA-subunit(CTA)の112番目のアミノ酸をGluからLysに置換したmCT E112Kは、毒性が低下しているばかりでなく、嗅神経への取り込みも有意に低い結果を示した(文献)。しかし、mCT E112Kの問題として大量に製造することが困難であるという点が挙げられる。そこで、本研究を行う上で新たな方向性としてnCTの毒性を軽減するために従来の遺伝子変異による方法と異なり、毒性を中和する天然物由来物質との併用が可能かどうかを検討した。リンゴポリフェノールは、nCTと結合しnCTの毒性を中和する活性があることが知られている。このリンゴポリフェノールとnCTの併用で粘膜アジュバント活性が維持されているかをマウスを用いて実験を行った。その結果、経鼻免疫では鼻腔周囲の炎症は著しく軽減され、nCTよりは低下するものの粘膜アジュバント活性は維持しており、そのレベルは液性免疫ではmCT E112Kと同等であった。

## **高齢者感染症に対する効果的粘膜免疫型ワクチンの開発**

研究代表者	近藤ゆき子	所属	薬理学講座
共同研究者	平 英一	所属	平薬理学講座

### 【研究成果】

樹状細胞におけるニコチン性アセチルコリン受容体の発現と機能について調べるために、単球および樹状細胞の特徴を併せ持つ細胞のモデルとして、p53 欠損マウス骨髄由来の JAWSII 細胞を用い、フローサイトメトリーと RT-PCR によりニコチン受容体とその他の細胞表面抗原の発現について検討した。

1. 培養細胞上に発現していた細胞表面抗原は HMC I, HMC II, CD80, CD86 などマウス抗原提示細胞に特有で、本培養細胞においても従来報告されているものと一致していた。
2. 培養細胞上にはニコチン性アセチルコリン受容体の特異的阻害薬である  $\alpha$ -ブンガロトキシンの特異的結合部位が確認された。また、その結合部位はニコチンにより特異的に阻害されるため、ニコチン受容体である可能性が高いと思われた。
3. 細胞を LPS および TNF- $\alpha$  で刺激すると細胞表面抗原の発現が変化し、MHC I, CD80, CD86 の発現は軽度増加した。
4. 細胞を LPS および TNF- $\alpha$  で刺激すると  $\alpha$ -ブンガロトキシンの特異的結合部位は消失した。
5. ニコチン受容体を構成する各サブユニットのメッセンジャーRNA を RT-PCR で検出し、 $\alpha$  7 サブユニットのメッセンジャーRNA が検出された。

以上について我々は第 55 回日本薬理学会北部会にて報告している。今後は細胞を LPS で刺激したときにニコチン受容体の各サブユニットのメッセンジャーRNA の発現について検討し、ニコチン受容体の発現がこの細胞の機能にどのような影響を与えているのかを検討し、同様の実験をマウス骨髄細胞由来の単球、樹状細胞を用いて実験する予定である。

### 切迫早産における予後因子マーカーの検索

研究代表者	利部正裕	所属	産婦人科学講座
共同研究者	杉山 徹	所属	産婦人科学講座
共同研究者	福島明宗	所属	産婦人科学講座
	室月 淳	所属	産婦人科学講座
	庄子忠宏	所属	産婦人科学講座
	金杉知宣	所属	産婦人科学講座
	前沢千早	所属	病理学第二講座

### 【研究成果】

当院には国より指定された周産母子医療センターがあり、切迫早産患者が岩手県内はもちろんのこと、遠く県外からも切迫早産症例の母体搬送を受け入れている。我々は、切迫早産の予後を予測するマーカーとして以前より Heat shock protein 70 (HSP70) と IL1 $\beta$  および IL6 について末梢血および臍分泌液を用いて計測を行ってきた。HSP70 は、治療抵抗性の切迫早産において、治療可能だった切迫早産と比べ高値を示すことが明らかになった(文献)。また、IL1 $\beta$  および IL6 の母胎血中濃度は正期産より高く、早産マーカーとして有用であることが明らかになった(文献)。今回我々は、オープンリサーチプロジェクトに導入される多数の IL を同時計測可能なサスペンションアレイシステムを用い、IL についてさらに解析を進めるべく、現在検体を採取・保存中である。サスペンションアレイシステムが平成 17 年 1 月に導入されるため、その後解析を行う予定である。

## **新規テロメア配列結合低分子化合物による悪性腫瘍の老化誘導療法の開発研究 肝線維症における外因性エストロゲンによる肝細胞分裂寿命延長に関する研究**

研究代表者	増田友之	所属	病理学第二講座
共同研究者	前沢千早	所属	病理学第二講座
	及川浩樹	所属	病理学第二講座
	佐藤 亮	所属	内科学第一講座
	及川寛太	所属	病理学第二講座
	藤原仁美	所属	病理学第二講座

### 【研究成果】

【背景・目的】テロメラーゼは悪性腫瘍の 85%程度で強発現し、細胞の不死活に大きく関与している。テロメラーゼを標的にした癌治療戦略は、腫瘍細胞のテロメアを分裂毎に極端に短縮させ、腫瘍細胞を senescence/apoptosis に誘導する、いわば老化誘導療法とも言える分子標的治療である。我々は種々の telomerase inhibitor の臨床応用を目指している。

### 【結果】

(1) テロメラーゼの活性中心である hTERT (human telomerase reverse transcriptase) に注目して、hTERT 遺伝子の発現制御によるテロメアの短縮について解析した。

- 肺癌の分子標的治療薬として臨床応用されている Iressa (Gefitinib) は、食道癌培養細胞株では EGFR-MAPK-Ets を介して hTERT 遺伝子の発現を抑制し、テロメラーゼ活性の抑制→テロメアの短縮/senescence の誘導を可能にした(投稿中)
- 一方、膠芽腫では標的分子である EGFR が過剰発現しているにも関わらず、Iressa



- (Gefitinib)添加により，食道癌とは反対に hTERT 遺伝子の発現増強がみとめられた。
- (2) G-quardplex 結合物質によるテロメラーゼ抑制効果の検討。
- G-G mismatch を認識する，naphthyridine dimer がテロメアの末端構造 G-quardplex に結合し，テロメラーゼ活性を抑制することが明らかとなった。
  - さらに結合の特異性をを増すために naphthyridine tetramer の合成をおこなった。
- (3) hTERT の活性抑制効果を持つ hPinX1 をヒト悪性腫瘍で解析したが，特定の異常は認められなかった(文献)。
- (4) 骨肉腫培養細胞株における hTERT の発現はテロメラーゼ活性との相関が認められた(文献)。
- (5) 肝硬変・肝炎患者の肝細胞分裂寿命の延長には，外因性エストロゲン投与による hTERT 遺伝子の活性化が有用であることを *in vivo*, *in vitro* で明らかにした(文献)。

【考案】食道癌では，テロメラーゼの活性中心である hTERT 遺伝子の発現増強に EGFR-MAPK 系のシグナル伝達系が中心的役割を担っていると考えられた。低濃度 Iressa (Gefitinib) による hTERT の発現は，食道癌細胞株を senescence に誘導できることが明らかとなった。しかし，膠芽腫では Iressa (Gefitinib) 添加により hTERT は反対に過剰発現し，いずれかのシグナル伝達系へのスイッチングが起きている可能性が示唆された。

【展望】

- 膠芽腫でおきているシグナル伝達系のスイッチングの現象を解明する。naphthyridine tetramer を用いた *in vivo* 前臨床試験を行う。

## 業 績

### Original Papers

55. Suzuki K, Sugawara T, Kowata S, Utsugizawa T, Ito S, Murai K, **Ishida Y**. Uncommon karyotypic abnormality, t(11;19)(q23;p13.3), in a patient with blastic phase of chronic myeloid leukemia. **Cancer Genet Cytogenet**. 2004;150(2):159-63. (IF 1.542)
56. Ito S, **Ishida Y**, **Oyake T**, Satoh M, Aoki Y, Kowata S, Uchiyama T, Enomoto S, Sugawara T, Numaoka H, **Suzuki K**, Murai K. Clinical and biological significance of CD56 antigen expression in acute promyelocytic leukemia. **Leuk Lymphoma**. 2004;45(9):1783-9. (IF 1.163)
57. Ito S, **Oyake T**, Uchiyama T, Sugawara T, Murai K, **Ishida Y**. Successful treatment with cyclosporine and high-dose gamma immunoglobulin for persistent parvovirus B19 infection in a patient with refractory autoimmune hemolytic anemia. **Int J Hematol**. 2004;80(3):250-3. (IF 1.119)
58. Kakino S, **Ogasawara K**, **Kubo Y**, Otawara Y, Tomizuka N, Suzuki M, Ogawa A. Treatment of vertebral artery aneurysms with posterior inferior cerebellar artery-posterior inferior cerebellar artery anastomosis combined with parent artery occlusion. **Surg Neurol**. 2004;61(2):185-9; discussion 189. (IF 0.871)
59. **Ogasawara K**, Mikami C, Inoue T, Ogawa A. Delayed cerebral hyperperfusion syndrome caused by prolonged impairment of cerebrovascular autoregulation after carotid endarterectomy: case report. **Neurosurgery**. 2004;54(5):1258-61; discussion 1261-2. (IF 2.338)
60. Otawara Y, **Ogasawara K**, **Kubo Y**, Tomitsuka N, Watanabe M, Ogawa A, Suzuki M, Yamadate K. Anxiety before and after surgical repair in patients with asymptomatic unruptured intracranial aneurysm. **Surg Neurol**. 2004;62(1):28-31; discussion 31. (IF 0.871)
61. Mikami C, Inoue T, **Ogasawara K**, Ogawa A. Medullary streaks in a patient with atherosclerotic internal carotid artery occlusion: case report. **Surg Neurol**. 2004;62(1):42-4; discussion 44. (IF 0.871)
62. Inoue T, **Ogasawara K**, **Beppu T**, Ogawa A. Three-dimensional anisotropy contrast imaging of gliomatosis cerebri: two case reports. **Surg Neurol**. 2004;62(2):151-4; discussion 154-5. (IF 0.871)
63. **Ogasawara K**, Inoue T, Kobayashi M, Endo H, Fukuda T, Ogawa A. Intracerebral hemorrhage after carotid endarterectomy associated with asymptomatic perioperative cerebral ischemia detected by cerebral perfusion imaging: case report. **Surg Neurol**. 2004;62(4):319-22; discussion 323. (IF 0.871)
64. **Ogasawara K**, Inoue T, Kobayashi M, Endo H, Fukuda T, Ogawa A. Pretreatment with the free radical scavenger edaravone prevents cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy. **Neurosurgery**. 2004;55(5):1060-1067. (IF 2.338)
65. Misaki T, **Beppu T**, Inoue T, **Ogasawara K**, Ogawa A, Kabasawa H. Use of fractional anisotropy value by diffusion tensor MRI for preoperative diagnosis of astrocytic tumors: case report. **J Neurooncol**. 2004;70(3):343-8. (IF 1.568)
66. Yoshioka K, Niinuma H, Ohira A, Kawakami T, **Kawazoe K**. Three-dimensional demonstration of the artery of Adamkiewicz by multidetector-row computed tomography. **Ann Thorac Surg**. 2004;78(2):719. (IF 2.041)

67. Yoshioka K, Niinuma H, **Kawazoe K**, Ehara S. Three-dimensional demonstration of the Adamkiewicz artery and its collateral supply with contrast-enhanced magnetic resonance angiography. **Eur J Cardiothorac Surg**. 2004;26(2):440-1. (IF 1.465)
68. Koizumi J, Nakajima T, **Izumoto H**, Ohsawa S, Ishihara K, **Kawazoe K**. Transaortic mitral valve repair combined with a modified Bentall procedure in a patient with Marfan's syndrome: report of a case. **Surg Today**. 2004;34(9):774-6. (IF 0.528)
69. **Konda R**, Sato H, Hatafuku F, Nozawa T, Ioritani N, **Fujioka T**. Expression of hepatocyte growth factor and its receptor C-met in acquired renal cystic disease associated with renal cell carcinoma. **J Urol**. 2004;171(6 Pt 1):2166-70. (IF 3.297)
70. **Konda R**, Sato H, Sakai K, Abe Y, **Fujioka T**. Urinary excretion of vascular endothelial growth factor is increased in children with reflux nephropathy. **Nephron Clin Pract**. 2004;98(3):c73-8.
71. Ashida S, Nakagawa H, Katagiri T, Furihata M, Iizumi M, Anazawa Y, Tsunoda T, Takata R, Kasahara K, Miki T, **Fujioka T**, Shuin T, Nakamura Y. Molecular features of the transition from prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) to prostate cancer: genome-wide gene-expression profiles of prostate cancers and PINs. **Cancer Res**. 2004;64(17):5963-72. (IF 8.649)
72. Okada K, Hirota E, Mizutani Y, **Fujioka T**, Shuin T, Miki T, Nakamura Y, Katagiri T. Oncogenic role of NALP7 in testicular seminomas. **Cancer Sci**. 2004;95(12):949-54. (former Jpn J Cancer Res IF 1.918)
73. Akaza H, Miyanaga N, Takashima N, Naito S, Hirao Y, Tsukamoto T, **Fujioka T**, Mori M, Kim WJ, Song JM, Pantuck AJ. Comparisons of percent equol producers between prostate cancer patients and controls: case-controlled studies of isoflavones in Japanese, Korean and American residents. **Jpn J Clin Oncol**. 2004;34(2):86-9. (IF 0.799)
74. Sonoda T, Nagata Y, Mori M, Miyanaga N, Takashima N, Okumura K, Goto K, Naito S, Fujimoto K, Hirao Y, Takahashi A, Tsukamoto T, **Fujioka T**, Akaza H. A case-control study of diet and prostate cancer in Japan: possible protective effect of traditional Japanese diet. **Cancer Sci**. 2004;95(3):238-42. (former Jpn J Cancer Res IF 1.918)
75. Omori H, Asahi H, Irinoda T, Itabashi T, **Saito K**. Pneumothorax as a presenting manifestation of early sarcoidosis. **Jpn J Thorac Cardiovasc Surg**. 2004;52(1):33-5.
76. Sasaki R, Takeda Y, Hoshikawa K, Takahashi M, Funato O, Nitta H, Murakami M, Kawamura H, Suto T, Yaegashi Y, Kanno S, **Saito K**. Long-term results of central inferior (S4a+S5) hepatic subsegmentectomy and pancreatoduodenectomy combined with extended lymphadenectomy for gallbladder carcinoma with subserous or mild liver invasion (pT2-3) and nodal involvement: a preliminary report. **Hepatogastroenterology**. 2004;51(55):215-8. (IF 0.837)
77. Sasaki R, Takeda Y, Hoshikawa K, Takahashi M, Funato O, Nitta H, Murakami M, Kawamura H, Suto T, Uesugi N, **Sugai T**, **Nakamura S**, Kanno S, **Saito K**. Resection of liver metastasis from extrahepatic bile duct carcinoma previously treated by pancreatoduodenectomy. **Hepatogastroenterology**. 2004;51(55):245-6. (IF 0.837)
78. Omori H, Asahi H, Irinoda T, Takahashi M, Kato K, **Saito K**. Peliosis hepatis during postpartum period: successful embolization of hepatic artery. **J Gastroenterol**. 2004;39(2):168-71. (IF 1.179)
79. Omori H, Asahi H, Inoue Y, Irinoda T, **Saito K**. Pulmonary involvement in Crohn's disease report of a case and review of the literature. **Inflamm Bowel Dis**. 2004;10(2):129-34. (IF

3.023)

80. **Taira E**, Tsukamoto Y, Kohama K, Maeda M, Kiyama H, Miki N. Expression and involvement of gicerin, a cell adhesion molecule, in the development of chick optic tectum. **J Neurochem**. 2004;88(4):891-9. (IF 4.825)
81. **Taira E**, Kohama K, Tsukamoto Y, Okumura S, Miki N. Characterization of Gicerin/MUC18/CD146 in the rat nervous system. **J Cell Physiol**. 2004;198(3):377-87. (IF 5.463)
82. Kumamaru E, Kuo CH, Fujimoto T, Kohama K, Zeng LH, **Taira E**, Tanaka H, Toyoda T, Miki N. Reticulon3 expression in rat optic and olfactory systems. **Neurosci Lett**. 2004;356(1):17-20. (IF 1.967)
83. Okumura S, Kohama K, Kim S, Iwao H, Miki N, **Taira E**. Induction of gicerin/CD146 in the rat carotid artery after balloon injury. **Biochem Biophys Res Commun**. 2004;313(4):902-6. (IF 2.836)
84. **Tanita T**, Tomoyasu M, Deguchi H, Mizuno M, **Kawazoe K**. Review of preoperative functional evaluation for lung resection using the right ventricular hemodynamic functions. **Ann Thorac Cardiovasc Surg**. 2004;10(6):333-9. (IF 2.041)
85. Tsuda N, Mochizuki K, Harada M, Sukehiro A, Kawano K, Yamada A, Ushijima K, **Sugiyama T**, Nishida T, Yamana H, Itoh K, Kamura T. Vaccination with predesignated or evidence-based peptides for patients with recurrent gynecologic cancers. **J Immunother**. 2004;27(1):60-72. (IF 3.983)
86. Hachisuga T, Saito T, Kigawa J, Ohwada M, Yamazawa K, Yasue A, Iwasaka T, **Sugiyama T**, Kita T, Nagai N. Clinicopathologic study of 56 patients with endometrial cancer during or after adjuvant tamoxifen use for their breast cancers. **Gynecol Oncol**. 2004;95(1):139-44. (IF 2.341)
87. Dohi T, Fujihashi K, Koga T, Etani Y, Yoshino N, Kawamura YI, McGhee JR. CD4<sup>+</sup>CD45RB<sup>Hi</sup> interleukin-4 defective T cells elicit antral gastritis and duodenitis. **Am J Pathol**. 2004;165(4):1257-1268. (IF 6.946)
88. **Yoshino N**, Lü FXS, Fujihashi K, Hagiwara Y, Kataoka K, Lu D, Hirst L, Honda M, van Ginkel FW, Takeda Y, Miller CJ, Kiyono H, McGhee JR. A novel adjuvant for mucosal immunity to HIV-1 gp120 in non-human primates. **J Immunol**. 2004;173(11):6850-6857. (IF 6.702)
89. Akiyama Y, **Maesawa C**, Wada K, Fujisawa K, Itabashi T, Noda Y, Honda T, Sato N, Ishida K, Takagane A, **Saito K**, **Masuda T**. Human PinX1, a potent telomerase inhibitor, is not involved in human gastrointestinal tract carcinoma. **Oncol Rep**. 2004;11(4):871-4. (IF 1.256)
90. Sato R, **Maesawa C**, Fujisawa K, Wada K, Oikawa K, Takikawa Y, **Suzuki K**, Oikawa H, Ishikawa K, **Masuda T**. Prevention of critical telomere shortening by oestradiol in human normal hepatic cultured cells and carbon tetrachloride induced rat liver fibrosis. **Gut**. 2004;53(7):1001-9. (IF 5.883)
91. Mukaida Y, Machida S, **Masuda T**, Tazawa Y. Correlation of retinal function with retinal histopathology following ischemia-reperfusion in rat eyes. **Curr Eye Res**. 2004;28(6):381-9. (IF 1.113)
92. Suzuki M, Satoh T, Nishida J, Kato S, Toba T, Honda T, **Masuda T**. Solid variant of aneurysmal bone cyst of the cervical spine. **Spine**. 2004;29(17):E376-81. (IF 2.676)

93. Fukushima A, Kawahara H, Isurugi C, Syoji T, Oyama R, **Sugiyama T, Horiuchi S**. Changes in serum levels of heat shock protein 70 in preterm delivery and pre-eclampsia. **J Obstet Gynaecol Res**. 2005;31(1):72-7. (IF 0.452)
94. Otawara Y, **Ogasawara K**, Ogawa A, Yamadate K. Cognitive function before and after surgery in patients with unruptured intracranial aneurysm. **Stroke**. 2005;36(1):142-3. (IF 5.233)
95. **Beppu T**, Inoue T, Shibata Y, Yamada N, Kurose A, **Ogasawara K**, Ogawa A, Kabasawa H. Fractional anisotropy value by diffusion tensor magnetic resonance imaging as a predictor of cell density and proliferation activity of glioblastomas. **Surg Neurol**. 2005;63(1):56-61; discussion 61. (IF 0.871)
96. **Ogasawara K**, Yamadate K, Kobayashi M, Endo H, Fukuda T, Yoshida K, Terasaki K, Inoue T, Ogawa A. Postoperative cerebral hyperperfusion associated with impaired cognitive function in patients undergoing carotid endarterectomy. **J Neurosurg**. 2005;102(1):38-44. (IF 2.286)
97. **Ogasawara K**, Inoue T, Kobayashi M, Endo H, Yoshida K, Fukuda T, Terasaki K, Ogawa A. Cerebral hyperperfusion following carotid endarterectomy: diagnostic utility of intraoperative transcranial Doppler ultrasonography compared with single-photon emission computed tomography study. **AJNR Am J Neuroradiol**. 2005;26(2):252-7. (IF 2.629)
98. Inoue T, **Ogasawara K**, Kumabe T, Jokura H, Watanabe M, Ogawa A. Minute glioma identified by 3.0 tesla magnetic resonance spectroscopy. **Neurol Med Chir (Tokyo)**. 2005;45(2):108-11. (IF 0.408)
99. Someya K, Cecilia D, Ami Y, Nakasone T, Matsuo K, Burda S, Yamamoto H, **Yoshino N**, Kaizu M, Ando S, Okuda K, Zolla-Pazner S, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M. Vaccination of rhesus macaques with recombinant Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin Env V3 elicits neutralizing antibody-mediated protection against simian-human immunodeficiency virus with a homologous but not a heterologous V3 motif. **J Virol**. 2005 Feb;79(3):1452-1462. (IF 5.225)
100. Nakajima T, **Kawazoe K, Izumoto H**, Kamada T, Kataoka T, Yoshioka K, **Sugai T**. Influence of gelatin-resorcin-formalin glue on mid-term redissection after aortic repair. **Surg Today**. 2005;35(2):112-6. (IF 0.528)
101. Niinuma H, Yoshioka K, Ogino Y, **Kawazoe K**. Three-dimensional demonstration of bicuspid aortic valve by 16-row multidetector computed tomography: comparison with transesophageal echocardiography. **Eur J Cardiothorac Surg**. 2005;27(2):346. (IF 1.465)
102. Ohtsubo S, Iida A, Nitta K, Tanaka T, Yamada R, Ohnishi Y, Maeda S, Tsunoda T, Takei T, Obara W, Akiyama F, Ito K, Honda K, Uchida K, Tsuchiya K, Yumura W, Ujiiie T, Nagane Y, Miyano S, Suzuki Y, Narita I, Gejyo F, **Fujioka T**, Nihei H, Nakamura Y. Association of a single-nucleotide polymorphism in the immunoglobulin mu-binding protein 2 gene with immunoglobulin A nephropathy. **J Hum Genet**. 2005;50(1):30-5. (IF 2.278)
103. **Taira E**, Kohama K, Tsukamoto Y, Okumura S, Miki N. Gicerin/CD146 is involved in neurite extension of NGF-treated PC12 cells. **J Cell Physiol**, in press. (IF 5.463)
104. Kohama K, Tsukamoto Y, Furuya M, Okamura K, Tanaka H, Miki N, **Taira E**. Molecular cloning and analysis of a mouse gicerin gene. **Neurochem Int**, in press. (IF 3.261)
105. Kakino S, **Ogasawara K**, Konno H, **Kubo Y**, Tomitsuka N, Inoue T, Suzuki M, Ogawa A. Vascular Reconstruction Using Interposition of Saphenous Vein Graft for Symptomatic

- Stenosis at Angled V3-V4 Junction of Vertebral Artery. **Surg Neurol.**, in press. (IF 0.871)
106. Inoue T, **Ogasawara K**, **Beppu T**, Ogawa A. Diffusion tensor imaging for preoperative evaluation of tumor grade in gliomas. **Clin Neurol Neurosurg.**, in press. (IF 0.771)
107. **Ogasawara K**, Sasaki M, Tomitsuka N, **Kubo Y**, Inoue T, Ogawa A. Early revascularization for perfusion/diffusion-weighted imaging mismatch caused by acute vertebral artery occlusion. Case report. **Neurol Med Chirur.**, in press. (IF 0.408)
108. Inoue T, **Ogasawara K**, Kumabe T, Jokura H, Watanabe M, Ogawa A. Minute glioma identified by 3.0 Tesla magnetic resonance spectroscopy. **Neurol Med Chir.**, in press. (IF 0.408)
109. Inoue T, Kuzu Y, **Ogasawara K**, Ogawa A. Effect of 3.0 Tesla magnetic resonance imaging on various pressure programmable shunt valves. **J Neurosurg.**, in press. (IF 2.286)
110. Watanabe M, **Ogasawara K**, Doi M, Hidaka T, Suzuki A, Kubo N, Kikuchi Y, Yamanome T, Kidoguchi J, Miura K, Yoshida Y, Kibe M, Ootawara Y, Ogawa A. Postoperative treatment with an antiinflammatory agent, ibuprofen, reduces recurrence of chronic subdural hematoma after surgery: a prospective, randomized, controlled, open-label trial. **J Neurosurg.**, in press. (IF 2.286)
111. Endo H, Otawara Y, **Ogasawara K**, Ogawa A. Ruptured vertebral artery dissecting aneurysm with acute occlusion and early recanalization. Case report. **Neurol Med Chirur.**, in press. (IF 0.408)
112. **Ogasawara K**, Yamadate K, Kobayashi M, Endo E, Fukuda T, Yoshida K, Terasaki K, Inoue T, Ogawa A. Effects of the free radical scavenger, edaravone, on the development of postoperative cognitive impairment in patients undergoing carotid endarterectomy. **Surg Neurol.**, in press. (IF 0.871)
113. **Ogasawara K**, Komoribayashi N, Kobayashi M, Fukuda T, Inoue T, Yamadate K, Ogawa A. Neural Damage Caused by Cerebral Hyperperfusion Following Arterial Bypass Surgery in a Patient with Moyamoya Disease. **Neurosurgery.**, in press. (IF 2.338)
114. **Ogasawara K**, Komoribayashi N, Kobayashi M, Fukuda T, Inoue T, Terasaki K, Ogawa A. Transient crossed cerebellar diaschisis secondary to cerebral hyperperfusion following carotid endarterectomy. **Ann Nucl Med.**, in press. (IF 0.745)
115. **Beppu T**, Inoue T, Kuzu Y, **Ogasawara K**, Ogawa A, Sasaki M : Utility of three-dimensional anisotropy contrast magnetic resonance axonography for determining condition of the pyramidal tract in glioblastoma patients with hemiparesis. **J Neuro-Oncol.**, in press. (IF 1.568)
116. Sato N, Kojika M, Yaegashi Y, Suzuki Y, Kitamura M, Endo S, **Saito K**. Mini-laparoscopic appendectomy using a needle loop retractor offers optimal cosmetic results. **Surg Endosc.** 2004 Sep 23; [Epub ahead of print], in press. (IF 2.122)
117. Abe K, Terashima M, Fujiwara H, Takagane A, Uesugi N, **Saito K**. Experimental Evaluation of Bursting Pressure in Lymphatic Vessels with Ultrasonically Activated Shears. **World J Surg.** 2004 Dec 9; [Epub ahead of print], in press. (IF 1.909)
118. Yashima-Abo K, Satoh T, Abo T, Aoki Y, Kowata S, Ito S, Ishida Y, Fujiwara H, **Maesawa C**, **Masuda T**. Distinguishing between proliferating nodal lymphoid blasts in chronic myelogenous leukemia and non-Hodgkin lymphoma: A report of three cases and detection of a *bcr/abl* fusion signal by single cell analysis. **Pathol Int.**, in press. (IF 1.163)

119. Fujiwara-Akita H, **Maesawa C**, Honda H, Kobayashi S, **Masuda T**. Expression of human telomerase reverse transcriptase splice variants is well correlated with low telomerase activity in osteosarcoma cell lines. **Int J Oncol.**, in press. (IF 2.536)

#### Proceedings, Books, and Others