

## 炎症性腸疾患の病態解明および治療薬開発に向けての機能ゲノム解析

●中島淳<sup>1)</sup> ◆松橋信行<sup>2)</sup> ◆油谷浩幸<sup>3)</sup>

1) 横浜市立大学大学院・分子消化管内科学 2) NTT東日本関東病院・消化器内科 3) 東大先端科学技術研究センター・ゲノムサイエンス

### ＜研究の目的と進め方＞

近年急速に進歩した機能ゲノム解析の方法を用いてヒト炎症性腸疾患の原因遺伝子を探索し、また異常をきたしている代謝経路を解明することにより創薬の標的となる分子を同定することを目的とする。具体的には、2001年度は、1) 最近炎症性腸疾患に対する有効性が示唆されているPPAR $\gamma$ リガンドの作用機序を解明するために実験マウス腸炎モデルにおいて網羅的遺伝子発現解析を行う。2) ヒト炎症性腸疾患の病変組織、特にクローン病の初期病変における遺伝子の発現プロファイリングをDNAチップ技術を用いて解析するために準備を行う。2002年度は(1) PPAR $\gamma$ リガンドの作用機序をモデルマウスを用いて解析する。(2) ヒトクローン病の初期病変の採取に着手する。2003年度は(1) マウスの腸炎モデルマウスからの遺伝子発現の網羅的解析から得た各種候補遺伝子のValidationを行い、診断や、治療に有用な候補遺伝子を同定する。(2) ヒトクローン病の初期病変特異的遺伝子の網羅的解析。2003年度は(1) マウス腸炎モデルにおいて腸炎の発症進展とともにPPAR $\gamma$ 遺伝子の発現が減少するが、当該遺伝子を挿入したAdeno virus vectorを用いて遺伝子治療への応用性を検討する。(2) ヒトクローン病の初期病変の網羅的遺伝子発現解析より得られた候補遺伝子のValidationを行う。2004年度は最終年であり、われわれが、偶然発見したPPAR $\gamma$ 阻害による腸管上皮の接着阻害作用の解明、および癌の治療への応用性を検討した。

### ＜研究開始時の研究計画＞

1. マウス腸炎モデルでの解析(2001年—2005年)；マウス腸炎モデルにおける腸管での遺伝子発現の網羅的解析をPPAR $\gamma$ リガンドであるピオグリタゾン投与前後で解析する。マウス腸炎モデルは最も汎用され十分解析が進んでいるDextran Sodium Sulfate Colitis model(以下DSS腸炎マウスモデル)を用いる。核内レセプターであるPeroxisome Proliferator Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )は腸管上皮に多量に存在するが、その生理学的意義は不明である。一方、われわれは本レセプターのリガンドが炎症性腸炎に対し治療効果があることを見つけてきた。本レセプターが転写因子であることを勘案し、そのリガンド投与前後での遺伝子発現のプロファイリング解析を行うことは、疾患の発症進展に関与する重要な新規遺伝子の同定につながるものと期待された。リガンドであるピオグリタゾン投与後に変化量の大きな遺伝子をリストアップし、Validationをモデルマウスにて行い疾患の病態解明や治療に有用な遺伝子に関しては遺伝子治療の手法を用いて実証研究をモデル動物を用いて行う。

2. ヒトクローン病患者における大腸での初期病変における発現遺伝子の網羅的解析(2001年—2004年)；クローン病は原因不明の腸管を病変の首座とする難病である。以前は欧米に多く、わが国には多くなかったが、近年と鹿や欧米食の普及に伴いわが国においても急速に患者数が増加している。本疾患は腸管における自

己免疫性疾患のひとつと考えられるが、他の自己免疫疾患と異なり大腸内視鏡検査により病変へアクセスできることが大きなメリットであると考えられ、実際内視鏡により、2—3ミリ径のアフタ用病変を初期病変として観察でき、経時的に進行病変である縦走潰瘍に至るまで観察できる。さらに、内視鏡検査では同時に生検により組織を採取することが可能である点も特記される。今回の研究ではこのようなクローン病の臨床現場でのメリットを最大限生かすために、内視鏡的に採取したヒトクローン病初期病変における発現遺伝子の網羅的解析を計画した。実施にあたっては学内倫理委員会の承認を得た後、十分なインフォームドコンセントを取れた患者に関して大腸内視鏡検査を行い、初期病変を生検かんして採取し、RNAを抽出し、Affymetrix社製GeneChipにて解析することを計画した。初期の計画では同一患者に関して初期病変から進行病変目での各病期での発現遺伝子のプロファイリングを試行し解析する。他方、6—10人の患者を解析し、初期病変特異的遺伝子発現のプロファイリングを解析し、初期病変特異的遺伝子の同定を試みる。初期病変特異的発現遺伝子は本疾患の発症・進展に重要な遺伝子であることが推定され得られた結果は新規の診断・治療につながるものと考えられる。

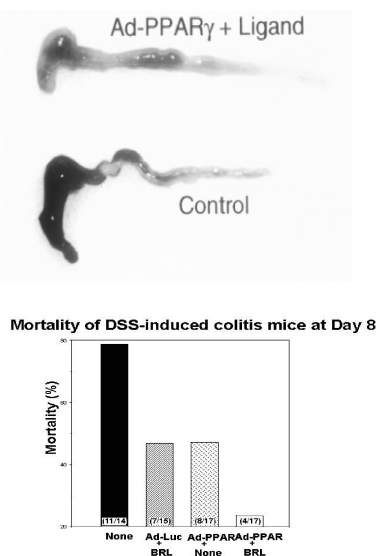
### ＜研究期間の成果＞

1. マウス腸炎モデルでの解析(2001年—2005年)；実験マウス腸炎モデルにおいて網羅的遺伝子発現解析を行ないリストアップした遺伝子のValidationをした。候補遺伝子の遺伝子導入による補充療法やアンチセンスオリゴの導入による発現抑制療法を試み、候補遺伝子が新規治療薬の標的になりえるかの実証実験の検討した。DSS腸炎マウスを用いてPPAR $\gamma$ リガンドが治療に有効であること、PPAR $\gamma$ 欠損マウスではワイルドタイプに加え炎症が激しくなることから、内因性のPPAR $\gamma$ を介した代謝経路が炎症性腸疾患の発症阻止の働きをしていることを見出した。また、DSS腸炎をPPAR $\gamma$ リガンドによって治療したときに変化する遺伝子発現をDNAアレイ(GeneChip)を用いて遺伝子発現の変化をプロファイリングし、疾病の発症および薬の効果発現に重要な遺伝子を解析し、CD66を発見しその免疫応答における役割を解明した。CD66はCarcino-embryonic antigen (CEA) familyのひとつでCEACAM1 (Carcino-embryonic antigen cell adhesion molecule 1)と呼称され、これまでの報告ではマウスのT細胞には発現しないことになっていた。われわれは腸炎モデルの網羅的解析から、本分子が、活性化T細胞上に誘導され、炎症の制御を行う仮説を立てた。この作業仮説に従い、単離したマウスT細胞をLPS(Lipopolysaccharide)で刺激するとT細胞表面にCD66が誘導されてくることを、FACSにて確認することができた。さらに、混合リンパ球培養試験(MLR)において抗CD66モノクローナル抗体の添加は3H-チミジンのとりこみを有意に抑制した。CD66はマウスT細胞上にLPS刺激後30分程

度で発言してくる。我々は以上の結果を報告するとともにさらに本分子の制御が移植免疫に応用できないかを考え、マウス皮膚移植実験を行ったところ抗CD66モノクローナル抗体投与に拒絶反応は著名に抑制されることを発見した。

実験マウス腸炎モデルにおいて網羅的発現遺伝子解析から得られた候補遺伝子のValidationを行ったところ、マウス腸炎モデルにおいてPPAR $\gamma$ の標的となる候補遺伝子は腸炎モデルにおいてPPAR $\gamma$ の標的となる候補遺伝子は、(1) IFN- $\gamma$ などのサイトカイン、ケモカイン、HLA classIIなどの免疫関連遺伝子、(2) Gro 1 oncogeneなどの癌遺伝子関連、(3) アクアポリンなどの水・電解質代謝にかかわる遺伝子関連、(4) Urinary proteinなどのフェロモン関連遺伝子であった。Validationは50個の候補遺伝子をReal-time PCRで定量し、約70%に有意差を確認した。Validationの結果、驚いたことに腸炎の進展にともないPPAR $\gamma$ 自体が著名に低下していることを見出した。そこで、マウスPPAR $\gamma$ 遺伝子を挿入したアデノウイルスベクターを作成し、マウス腸炎モデルに導入したところ劇的な治療効果を認めた。

1.



以上の結果はマウス腸炎モデルでは腸炎により腸管上皮のPPAR $\gamma$ 自体が減少し、その結果腸炎が増悪することが推定された。実際ヒト潰瘍性大腸炎では炎症後、腸上皮のPPAR $\gamma$ タンパク量が低下することがその後報告されている。ところで腸管上皮にPPAR $\gamma$ は多量に存在しているが、その生理的意義が何かは不明である。多くの癌細胞ではPPAR $\gamma$ が多量に発現していることが知られているが、我々は炎症で本分子が減少し、癌で増加する意味を解明するために大腸癌細胞においてPPAR $\gamma$ 阻害剤T0070907又はPPAR $\gamma$ -sxRNAを用いてPPAR $\gamma$ 作用を阻害するとどうなるかを検討した。PPAR $\gamma$ 阻害剤T0070907を培養大腸癌細胞HT-29に投与すると細胞はシャーレの足場依存症を喪失し、培養液中に浮遊してくることを認める。

PPAR $\gamma$ リガンド投与により、各種がん遺伝子の発現が変化することから、PPAR $\gamma$ リガンドが発がんやがんの転移・浸潤に対してどのような作用を有するのかを検討した。

①. PPAR $\gamma$ リガンドによるマウス大腸化学発癌モデルでの検討 (Osawa et al. Gastroenterology 2002) Fig1ABのようなアゾキシメタン投与によるマウス大腸発癌モデルを用いてPPAR $\gamma$ リガンドであるピオグリタゾン、ロジグリタゾンの投与を行った。PPAR $\gamma$ リガンドはいずれも濃度異存できた前癌病変であるACF

(Aerrant Crypt Foci) 及び大腸腫瘍の発生を統計的に有意に抑制した (Table1)。本研究成果によりこれまでいろいろと議論のあったPPAR $\gamma$ と大腸癌については発がん抑制作用と有することが示された。

②. PPAR $\gamma$ アンタゴニストには大腸がん培養がん細胞への作用

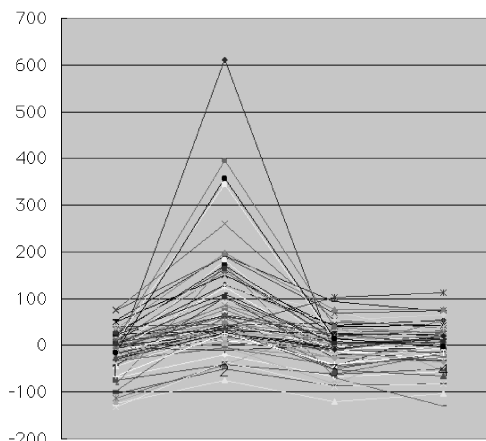
Table 1 Effect of PPAR $\gamma$  ligands on the multiplicity of AOM induced ACF in female BALB/c mice

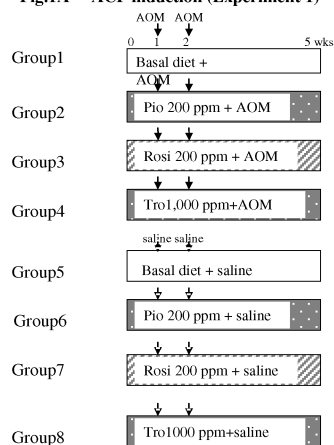
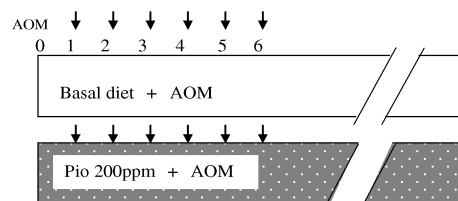
Experimental group	AOM	Diet	No. of mice	No. of ACF/mouse	No. of ACs/mouse
Group 1	+	basal diet alone	10	14.8 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>	20.3 $\pm$ 11
Group 2	+	basal diet + pioglitazone 200 ppm	10	2.5 $\pm$ 1.2 <sup>**b</sup>	3.3 $\pm$ 1.9 <sup>**</sup>
Group 3	+	basal diet + rosiglitazone 200 ppm	9	2.7 $\pm$ 1.9 <sup>**</sup>	3.6 $\pm$ 2.9 <sup>**</sup>
Group 4	+	basal diet + troglitazone 1,000 ppm	6	9.3 $\pm$ 3.9 <sup>a</sup>	10.7 $\pm$ 5.0 <sup>a</sup>
Group 5	-	basal diet alone	10	0	0
Group 6	-	basal diet + pioglitazone 200 ppm	10	0	0
Group 7	-	basal diet + rosiglitazone 200 ppm	10	0	0
Group 8	-	basal diet + troglitazone 1,000 ppm	10	0	0

<sup>a</sup>average  $\pm$  S.D.

<sup>b</sup>Differences were significant compared to the values in Group 1 (<sup>\*</sup>p<0.05, <sup>\*\*</sup>p<0.001).

### DSS腸炎において増加する遺伝子群



**Fig.1A ACF induction (Experiment 1)****Fig.1B Colon carcinogenesis (Experiment 2)****Table 2.** Genes up-regulated in DSS colitis and down-regulated in DSS colitis associated to PPAR $\gamma$ .

GenBank	Sort score	qRT-PCR	Gene
D63362	-45.39	-70	Mouse DNA for regIIIgamma protein
M96827	-41.3	-72	Haptoglobin
M16360	-40.94	-80	Major Urinary Protein 5
X66402	-40.42	-56	Matrix metalloproteinase 3
D63359	-40.37	-50	Pancreatic associated protein
X99347	-33.67	-52	Lipopolysaccharide binding protein
X66473	-33.48	-48	Matrix metalloproteinase 13
X04653	-32.68	-40	Ly-6 alloantigen
AJ007971	-32.38	-44	Interferon-inducible GTPase
J04596	-12.27	-46	GRO1 oncogene
AI836812	-12.11	-30	RAB5C, member RAS oncogene family
U73487	-11.89	-30	Calcium channel, voltage-dependent, alpha2/delta subunit 1
D42124	-11.75	-22	V-maf
U20735	-11.71	-26	Jun-B oncogene
U43085	-11.69	-30	Interferon-induced protein with tetratricopeptide
AFO49850	-11.59	-30	Major Histocompatibility Complex III
X52643	-11.45	-26	Histocompatibility class II antigen A
X56602	-11.42	-25	Interferon inducible protein
U88623	-11.42	-32	Aquaporin 4
U28405	-11.40	-35	Chemokine (C-C) receptor1
Y13185	-11.39	-24	Matrix metalloproteinase 10
XM125899	-11.0	-23	Interferon gamma

Sort score: difference in gene expression change, qRT-PCR: quantitative RT-PCR.

## 〈国内外での成果の位置づけ〉

国内外での以下の主題演題にて発表した。

藤沢信隆、米田正人、中島 淳

大腸発ガンにおけるPPAR $\gamma$   $\beta$ -cateninのクロストーク  
(ワークショップ; 消化器疾患と細胞内シグナル伝達異常)

第90回日本消化器病学会総会 平成16年4月21日

永瀬 肇、稲森正彦、中島 淳

ガラニンを中心とした消化管機能の神経内分泌調節機構  
(ワークショップ: 消化管のニューロサイエンス)

Nobutaka Fujisawa, Masato Yoneda, Hirokazu Takahashi,  
Takako Yoshii, Atsushi Nakajima, Nobuyuki Matsushashi

The Role of PPAR $\gamma$  in Colon Carcinogenesis, and Its  
Relation to  $\beta$ -Catenin

The 105th Annual Meeting of the American  
Gastroenterological Association May 18, 2004 New  
Orleans, LA

第280回日本消化器病学会関東支部例会

中島淳 PPAR $\gamma$ リガントによる大腸発癌抑制とそのメカ  
ニズム

平成16年8月5日、厚生労働省第3次対がん総合戦略研究事  
業 中釜班「疾患モデルを用いた発がんの分子機構及び  
感受性要因の解明とその臨床応用」の班会議

Osawa E, Dohi T, Nakajima A

Cytokine balance effects on colon carcinogenesis in new  
rodent model of IBD (Poster)

The 3rd International Conference on Gastroenterological  
Carcinogenesis ICGC'04 Aug. 19, 2004

藤澤信隆、米田正人、高橋宏和、藤澤聡郎、藤田浩司、  
島村健、中島淳

大腸発癌におけるPPAR $\gamma$ の役割~ $\beta$ -cateninとAPCとの  
関係(ワークショップ1、消化器癌の前癌病変)

第15回日本消化器癌発生学会 平成16年8月 札幌 ロ  
イトン札幌

高橋宏和、島村健、中島淳 大腸がん細胞におけるPP  
AR $\gamma$ インヒビターの作用について 第63回日本癌学会  
学術総会 平成16年9月 福岡

藤澤 聡郎 高橋 宏和 中島 淳 “胃癌の増殖、浸潤、  
転移抑制を目的としたPPAR $\gamma$ の発現コントロール”  
2005年1月28日 第1回消化管学会総会 名古屋国際会議  
場

藤澤 聡郎 藤澤 信隆 高橋 宏和 中島 淳  
“PPAR $\gamma$ 阻害による大腸発癌に対する検討” 2005年2月19  
日 第3回PPAR $\gamma$ 研究会 丸の内クラブ関東

藤澤信隆、藤澤聡郎、中島淳 大腸上皮細胞の増殖と癌  
化における Peroxisome Proliferator-Activated  
Receptorg(PPAR $\gamma$ )の役割に関する検討 パネルディス  
カッション5-12 日本消化器学会 平成17年4月14日

Toshio Fujisawa, Hirokazu Takahashi, Nobutaka Fujisawa,  
Yoneda Masato, Koji Fujita, Atsushi Nakajima, Katherine  
Schaefer, Lawrence J. Saubermann "Inhibition of PPAR $\gamma$   
Activity Induced Apoptosis of Esophageal Carcinoma  
Cells" Anaheim Convention center, Anaheim, Orange  
County, CA April 16, 2005

Toshio Fujisawa, Hirokazu Takahashi, Nobutaka Fujisawa,  
Yoneda Masato, Koji Fujita, Atsushi Nakajima Katherine  
Schaefer, Lawrence J. Saubermann "Control of PPAR $\gamma$   
expression for suppression of Proliferation, Invasion and  
Metastasis in the gastric carcinoma" 6th International  
Gastric Cancer Congress Pacifico Yokohama,

Yokohama, Japan May 6, 2005

Nobutaka Fujisawa, Toshio Fujisawa, Atsushi Nakajima  
PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED  
RECEPTOR GAMMA (PPARgamma) REGULATES CELL  
PROLIFERATION, WHICH IS AN EXPLANATION FOR  
THE ANTI-TUMORIGENIC PROPERTIES OF  
PPARgamma Tumor and Cell Biology, Digestive Disease  
Week 2005 May 15, 2005

Toshio Fujisawa, Hirokazu Takahashi, Nobutaka Fujisawa,  
Masato Yoneda, Koji Fujita, Atsushi Nakajima, Katherine  
Schaefer, Lawrence J. Saubermann "Suppression of PPAR  
 $\gamma$  expression affects the proliferation and invasion in the  
gastric cancer cells " Digestive Disease Week 2005  
McCormick Place, Chicago, IL May 16, 2005

Emi Osawa, Taeko Doi, Atsushi Nakajima Indction of  
Th2-Type Hapten-Induced Tumors Digestive Disease  
Week 2005 McCormick Place, Chicago, IL May 15,  
2005 poster session

Takashi Nagaishi, Hideki Iijima, Lily Pao, Daohong Chen,  
Jonathan Glickman, Atsushi Nakajima, Benjamin G. Neel,  
Richard S. Blumberg T Cell Inhibition By Ceacam1  
Isoforms Expressing a Long Cytoplasmic Domain  
Digestive Disease Week 2005 McCormick Place,  
Chicago, IL May 15, 2005 poster session

Hirokazu Takahashi, Toshio Fujisawa, Koji Fujita,  
Tomotake Masuda, Koichiro Wada, Katherine Schaefer,  
Lawrence J. Saubermann, Atsushi Nakajima Decreased  
Ppargamma Activity Mediated Inability of Cell Adhesion  
and Invasion in Pancreatic Carcinoma Cells Digestive  
Disease Week 2005 McCormick Place, Chicago, IL  
May 17, 2005 poster session

## 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

ヒトのサンプルの解析については倫理問題のクリアー  
に時間がかかり着手するのに2年遅れになってしまった。  
又ヒトサンプルの遺伝子発現プロファイリングについて  
はValidationができない困難があった。

## 〈今後の課題〉

本研究の成果を生かすべくさらに解析を続けている。

## 〈研究期間の全成果公表リスト〉

### 1) 論文/プロシーディング

Iwasaki T, Nakajima A, Yoneda M, Yamada Y, Mukasa K,  
Fujita K, Fujisawa N, Wada K, Terauchi Y Serum ferritin is  
associated with visceral fat area and subcutaneous fat area.  
Diabetes Care. 2005 (10):2486-91

Kubota K, Abe Y, Inamori M, Kawamura H, Kirikoshi H,  
Kobayashi N, Saito S, Ueno N, Nakajima A Percutaneous  
transhepatic gallbladder stenting for recurrent acute  
acalculous cholecystitis afte failed endoscopic attempt J  
Hepatobiliary Pancreat Surg 2005 12:286-289

Katayama K, Wada K, Nakajima A, Kamisaki Y, Mayumi T  
Nuclear Receptors as Targets for Drug Development: The  
Role of Nuclear Receptors During Neural Stem Cell  
Proliferation and Differentiation Journal of  
Pharmacological Sciences 2005 171-176

Nakajima A, Wada K Nuclear Receptors as Targets for  
Drug Development: Preface Journal of Pharmacological  
Sciences, 2005 163-170

- Lu J, Imamura K, Nomura S, Mafune K, Nakajima A, Kadowaki T, Kubota N, Terauchi Y, Ishii G, Ochiai A, Esumi H, Kaminishi M. Chemopreventive Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  on Gastric Carcinogenesis in Mice *Cancer Res.* 2005.
- Inamori M, Togawa J, Iwasaki T, Ozawa Y, Kikuchi T, Muramatsu K, Chiguchi G, Matsumoto S, Kawamura H, Abe Y, Kirikoshi H, Kobayashi N, Shimamura T, Kubota K, Sakaguchi T, Saito S, Ueno N, Nakajima A. Early effects of lafutidine or rabeprazole on intragastric acidity: which drug is more suitable for on-demand use? *Journal of Gastroenterology* 2005;40:453-458
- Masuda T, Wada K, Nakajima A, Okura M, Kudo C, Kadowaki T, Kogo M, Kamisaki Y Critical Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  on Anoikis and Invasion of Squamous Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11(11):4012-4021
- Togawa J, Inamori M, Fujisawa N, Takahashi H, Yoneda M, Kawamura H, Abe Y, Kirikoshi H, Kobayashi N, Sakaguchi T, Takamura T, Nakajima A, Ueno N, Sekihara H Efficacy of a Triple Therapy with Rabeprazole, Amoxicilin, and Faropenem as second-line Treatment after Failure of Initial Helicobacter pylori Eradication Therapy. *Hepato-Gastroenterology* 2005;52:645-648
- Schaefer KL, Wada K, Takahashi H, Matsuhashi N, Ohnishi S, Wolfe MM, Turner JR, Nakajima A, Borkan SC, Saubermann LJ. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  inhibition Prevents Adhesion to the Extracellular Matrix and Induces Anoikis in Hepatocellular Carcinoma Cells. *Cancer Res.* 2005 15;65(6):2251-9.
- Iwasaki T, Mukasa K, Yoneda M, Ito S, Yamada Y, Mori Y, Fujisawa N, Fujisawa T, Wada K, Sekihara H, Nakajima A. Marked Attenuation of Production of Collagen Type I from Cardiac Fibroblasts by Dehydroepiandrosterone. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005 Jan ; 288(6):E1222-8
- Yoneda M, Wada K, Katayama K, Nakajima N, Iwasaki T, Osawa E, Mukasa K, Yamada Y, Blumberg RS, Sekihara H, Nakajima A. A Novel Therapy for Acute Hepatitis Utilizing Dehydroepiandrosterone in the Murine Model of Hepatitis. *Biochemical Pharmacology.* 2004 Dec;68(11):2283-9
- Shimamura T, Yasuda J, Ino Y, Gotoh M, Tsuchiya A, Nakajima A, Sakamoto M, Kanai Y, Hirohashi S. Dysadherin expression facilitates cell motility and metastatic potential of human pancreatic cancer cells. *Cancer Res.* 2004 Oct;64(19):6989-95.
- Katayama K, Wada K, Nakajima A, Kamisaki Y, Mayumi T. Nuclear receptors on stem cells: the role of nuclear receptors during nural stem cell proliferation and differentiation. *J Pharmacological Science* 2005 Feb;97(2):171-6.
- Nakajima A, Wada K. Nuclear Receptors on Diseases; Nuclear receptors as Targets for Drug Development. *J Pharmacological Science* 2005 Feb;97(2):163.
- Yoshii T, Mizuno K, Hirose T, Nakajima A, Sekihara H, Ohno S. sPAR-3, a splicing variant of PAR-3, shows cellular localization and expression pattern different from that of PAR-3 during enterocyte polarization. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005 Mar;288(3):G564-70.
- Wada K, Nakajima A, Takahashi H, Yoneda M, Fujisawa N, Ohsawa E, Kadowaki T, Kubota N, Terauchi Y, Matsuhashi N, Saubermann LJ, Nakajima N, Blumberg RS Protective effect of endogenous PPAR  $\gamma$  against acute gastric mucosal lesions associated with ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004 ;287:G452-G458.
- Yamada Y, Nakajima A, Sekihara H. Supplement. anti-apoptotic effect of dehydroepiandrosterone and its role in an aging society. *Intern Med.* 2004 Feb;43(2):158-60.
- Kudo C, Wada K, Masuda T, Yonemura T, Shibuya A, Fujimoto Y, Nakajima A, Niwa H, Kamisaki Y. Nonylphenol induces the death of neural stem cells due to activation of the caspase cascade and regulation of the cell cycle. *J Neurochem.* 2004 Mar;88(6):1416-23.
- Chen D, Iijima H, Nagaishi T, Nakajima A, Russell S, Raychowdhury R, Morales V, Rudd CE, Utku N, Blumberg RS. Carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule 1 isoforms alternatively inhibit and costimulate human T cell function. *J Immunol.* 2004 Mar 15;172(6):3535-43.
- Iijima H, Neurath MF, Nagaishi T, Glickman JN, Nieuwenhuis EE, Nakajima A, Chen D, Fuss IJ, Utku N, Lewicki DN, Becker C, Gallagher TM, Holmes KV, Blumberg RS. Specific Regulation of T Helper Cell 1-mediated Murine Colitis by CEACAM1. *J Exp Med.* 2004 16;199(4):471-82.
- Katayama K, Wada K, Miyoshi H, Ohashi K, Tachibana M, Furuki R, Mizuguchi H, Hayakawa T, Nakajima A, Kadowaki T, Tsutsumi Y, Nakagawa S, Kamisaki Y, Mayumi T. RNA interfering approach for clarifying the PPAR  $\gamma$  pathway using lentiviral vector expressing short hairpin RNA. *FEBS Letters.* 2004 27;560(1-3):178-82.
- Abe Y, Inamori M, Togawa J, Kikuchi T, Muramatsu K, Chiguchi G, Kawamura H, Kobayashi N, Kirikoshi H, Sakaguchi T, Takamura T, Nakajima A, Ueno N, Sekihara H. The Comparative effects of single intravenous doses of omeprazole and famotidine on intragastric pH. *J Gastroenterol.* 2004;39(1):21-5
- Matsuhashi N, Nomura S, Nakajima A, Kaminishi M. Inflammatory fibroid polyps of the stomach and Helicobacter pylori. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2004;19(3):346-7.
- Inamori M, Togawa J, Takahashi K, Yoneda M, Fujisawa N, Iwasaki T, Ozawa Y, Kikuchi T, Muramatsu K, Chiguchi G, Matsumoto S, Kawamura H, Abe Y, Kirikoshi H, Kobayashi N, Sakaguchi T, Takamura T, Nakajima A, Ueno N, Sekihara H. Comparison of the effect on intragastric pH of a single dose of omeprazole or rabeprazole: which is suitable for on-demand therapy? *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18(9):1034-8
- Nakajima A, Katayama K, Mayumi T PPAR  $\gamma$ -gene therapy using an adenovirus vector for inflammatory bowel disease *Folia Pharmacol. Jpn.* 2003;122:309-316
- Inamori M, Togawa J, Kawamura H, Abe Y, Naitoh H, Nagase H, Nakajima A, Saito T, Tominaga S, Ueno N, Tanaka K, Sekihara H. Severe ulceration of the stomach after endoscopic injection sclerotherapy. *Endoscopy.*

2003;35(12):1082

Kudo C, Kori M, Matsuzaki K, Yanai K, Nakajima A, Shibuya A, Niwa H, Kamisaki Y, Wada K. Diclofenac inhibits proliferation and differentiation of neural stem cells. *Biochemical Pharmacology* 2003;66:289-295

Matsuhashi N, Nishi Y, Nagoshi D, Kanemoto H, Nakajima A. Epidemic enterocolitis possibly as a result of norwalk virus infection presenting as ischemic colitis. *Digestive Endoscopy* 2003;15:138-141

Katayama K, Wada K, Nakajima A, Mizuguchi H, Hayakawa T, Nakagawa S, Kadowaki T, Nagai R, Kamisaki Y, Blumberg R, Mayumi T. A Novel PPAR  $\gamma$  Gene Therapy to Control Inflammation Associated With Inflammatory Bowel Disease in a Murine Model. *Gastroenterology* 2003;124:1315-1324

Inamori M, Togawa JI, Nagase H, Abe Y, Umezawa T, Nakajima A, Saito T, Ueno N, Tanaka K, Sekihara H, Kaifu H, Tsuboi H, Kayama H, Tominaga S, Nagura H. Clinical characteristics of Japanese reflux esophagitis patients as determined by Los Angeles classification. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:172-176.

Osawa E, Nakajima A, Wada K, Ishimine S, Fujisawa N, Kawamori T, Matsuhashi N, Kadowaki T, Ochiai M, Sekihara H, Nakagawa H. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  Ligands Suppress Colon Carcinogenesis Induced by Azoxymethane in Mice. *GASTROENTEROLOGY* 2003;124:361-367.

Matsuhashi N, Akahane M, Nakajima A, Barium Impaction Therapy for Refractory Colonic Diverticular Bleeding. *AJR*, 2003; 180: 490-492.

Aoki K, Nakajima A, Mukasa K, Osawa E, Mori Y, Sekihara H. Prevention of diabetes, hepatic injury, and colon cancer with dehydroepiandrosterone. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003 Jun;85(2-5):469-72.

Nagase H, Nakajima A, Sekihara H, York DA, Bray GA. Regulation of feeding behavior, gastric emptying, and sympathetic nerve activity to interscapular brown adipose tissue by galanin and enterostatin: the involvement of vagal-central nervous system interactions. *J Gastroenterol* 2002;37: 118-127.

Saubermann LJ, Nakajima A, Wada K, Zhao S, Terauchi Y, Kadowaki T, Aburatani H, Matsuhashi N, Nagai R, Blumberg RS. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Agonist Ligands Stimulate a Th2 Cytokine Response and Prevent Acute Colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 2002 ;8(5):330-9

Togawa J, Nagase H, Tanaka K, Inamori M, Nakajima A, Ueno N, Saito T, Sekihara H. Oral Administration of Lactoferrin Reduces Colitis in Rats Via Modulation of the Immune System and Correction of Cytokine Imbalance. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17(12):1291-8

Zhu X, Peng J, Raychowdhury R, Nakajima A, Lencer WI, Blumberg RS. The Heavy Chain of Neonatal Fc Receptor for IgG is Sequestered in Endoplasmic Reticulum by forming Oligomers in the Absence of Beta2-microglobulin Association. *Biochem J* 2002 ;367:703-14

Shibuya A, Wada K, Nakajima A, Saeki M, Katayama K, Mayumi T, Kadowaki T, Niwa H, Kamisaki Y. Nitration of PPAR $\gamma$  inhibits ligand-dependent translocation into nucleus in macrophage-like cell line, RAW 264 cells. *FEBS LETT*, 525 (2002) 43-47.

Shiojiri T, Wada K, Nakajima A, Katayama K, Shibuya A, Kudo C, Kadowaki T, Mayumi T, Yura Y, Kamisaki Y. PPAR  $\gamma$  ligands inhibit nitrotyrosine formation and inflammatory mediator expressions in adjuvant-induced rheumatoid arthritis mice. *European J Pharmacology*.2002;448:231-238.

Nakajima A, Wada A, Katayama K, Saubermann L, Yoshida S, Osawa E, Nagase H, Ueno N, Matsuhashi N, Aburatani H. Gene Expression Profile After Peroxisome Proliferator Activator Receptor-  $\gamma$  Ligand Administration in Dextran Sodium Sulfate Mice. *J Gastroenterol*. 2002 ; 37 : 62-66.

Togawa J, Nagase H, Tanaka K, Inamori M, Umezawa T, Nakajima A, Naito M, Sato S, Saito T, Sekihara H. Lactoferrin reduces colitis in rats via modulation of the immune system and correction of cytokine imbalance. *Am J Physiol*.283:187-195, 2002 .

Nakajima A, Iijima H, Neurath MF, Nagaishi T, Nieuwenhuis EE, Raychowdhury R, Glickman J, Blau DM, Russell S, Holmes KV, Blumberg RS. Activation-induced expression of carcinoembryonic antigen-cell adhesion molecule 1 regulates mouse T lymphocyte function. *J Immunol*, 168:1028-1035, 2002

Osawa E, Nakajima A, Yoshida S, Omura M, Nagase H, Ueno N, Wada K, Matsuhashi N, Ochiai M, Nakagawa H and Sekihara H. Chemoprevention of precursors to colon cancer by dehydroepiandrosterone (DHEA). *Life Sci*. 70:2623-2630, 2002

Wada K., Nakajima A., Blumberg RS. PPAR  $\gamma$  and inflammatory bowel disease: a new therapeutic target for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Trends Mol. Med*. 7: 329-377, 2001

Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Kadowaki T, Blumberg R.S., Nagai R, and Matsuhashi N. : Novel anti-inflammatory pathway mediated by PPAR  $\gamma$  in ischemia-reperfusion injury. *Gastroenterology*. 120:460-469, 2001.

Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Kadowaki T, Blumberg R.S., Nagai R, and Matsuhashi N : Novel anti-inflammatory pathway mediated by PPAR  $\gamma$  in ischemia-reperfusion injury. *Gastroenterology*. 120:460-469, 2001.

Nakajima A, Ohnishi S, Mimura T, Kubo K, Suzuki A, Yazaki Y and Matsuhashi N Protein-losing enteropathy associated with hypocplementemia and anti-nuclear antibodies. *J Gastroenterol*. 35:627-630, 2000.

Nakajima A, Matsuhashi N, Yazaki Y, Oka T, and Sugano K: Details of hyperplastic polyps of the stomach shring after anti-Helicobacter pylori therapy. *J Gastroenterol*. 35:372-375,2000.

Matsuhashi N, Nakajima A, Suzuki A, Yazaki Y, Takazoe M. Long-term outcome of non-surgical strictureplasty using metallic stents for intestinal strictures in Crohn's disease. *Gastrointest Endosc*. 51(3):343-345, 2000.

Matsuhashi N, Nakajima A, Watanabe K, Komeno Y, Suzuki A, Ohnishi S, Omata M, Kondo K, Usui Y, Iwadare J, Watanabe T, Nagawa H, Muto T. Tacrolimus in corticosteroid-resistant ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 2000;35:635-640.

Aoki K, Kikuchi T, Mukasa K, Ito S, Nakajima A, Satoh S, Okamura A, Sekihara H.

Dehydroepiandrosterone suppresses elevated hepatic

glucose-6-phosphatase mRNA level in C57BL/KsJ-db/db mice: comparison with troglitazone. *Endocr J.* 2000 Dec;47(6):799-804.

Nakajima A, Yajima S, Shirakura T, Ito T, Kataoka Y, Ueda K, Nagoshi D, Kanemoto H, Matsuhashi N. Rifampicin-associated pseudomembranous colitis. *J Gastroenterol.* 2000;35(4):299-303.

Matsuhashi N, Nakajima A, Shinohara K, Oka T, Yazaki Y. Rectal cancer after sulindac therapy for a sporadic adenomatous colonic polyp. *Am J Gastroenterol.* 1998 Nov;93(11):2261-6.

Nakajima N, Hanaki K, Shimizu YK, Ohnishi S, Gunji T, Nakajima A, Nozaki C, Mizuno K, Odawara T, Yoshikura H. Hybridization-AT-tailing (HybrAT) method for sensitive and strand-specific detection of DNA and RNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998 Jul 30;248(3):613-20.

Matsuhashi N, Nakajima A, Fukushima Y, Yazaki Y. Effects of sulindac on sporadic colorectal adenocarcinomatous polyps. *Gut* 1997;40:344-349

Matsuhashi N, Nakajima A, Suzuki A, Akanuma M, Yazaki Y, Takazoe M. Non-surgical strictureplasty for intestinal strictures in Crohn's disease. *Gastrointest Endosc* 1997;45:176-178.

Nakajima A, Kodama T, Yazaki Y, Takazoe M, Saito N, Suzuki R, Nishino H, Yamamoto K, Silver J, Matsuhashi N. Specific clonal T cell accumulation in intestinal lesions of Crohn's disease. *J Immunol* 1996;157:5683-5688.

Matsuhashi N, Nakajima A, Yazaki Y, Sato A, Hiraishi M, Konishi T. Sarcoid reactions in association with leiomyosarcoma of the stomach. *Am J Gastroenterol* 1996;91:2623-2624.

Matsuhashi N, Nakajima A, Yazaki Y, Sato A, Hiraishi M, Konishi T. Three histologically different tiny gastric cancers developing adjacent to each other resected endoscopically in a single mucosal piece. *Am J Gastroenterol* 1996;91:2200-2202.

Nojima Y, Miura T, Hamasaki K, Furuya H, Tanaka G, Nakajima A, Matsuhashi N, Yazaki Y. Chronic intestinal pseudoobstruction associated with autoantibodies against proliferating cell nuclear antigen. *Arthritis Rheum* 1996;39:877-879.

Nakajima A, Matsuhashi N, Kodama T, Yazaki Y, Takazoe M, Kimura A. HLA-linked susceptibility and resistance genes in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1995;109:1462-1467.