

平成23年3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究 (A)

研究期間：2009～2010

課題番号：21689011

研究課題名 (和文)

炎症および神経変性疾患の発症・進展を制御する受容体 RAGE の多機能性の解明

研究課題名 (英文)

TIRAP, an Adaptor Protein for TLR2/4, Transduces a signal from RAGE Phosphorylated upon Ligand Binding

研究代表者

阪口 政清 (SAKAGUCHI MASAKIYO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：70379840

研究成果の概要 (和文)：

本計画における成果は以下の通りである。

RAGE にリガンドが結合すると、膜直下細胞質領域の 391Ser が PKC $\zeta$  によりリン酸化を受ける。このリン酸化修飾が後の多彩な信号伝達に必須であり、TLR2 と TLR4 に共通のアダプタータンパク質である TIRAP と MyD88 をリクルートすることで下流に様々なシグナルを伝達できる (TRAM はリクルートされない)。その結果、NF $\kappa$ B 活性化の誘導を介して様々な炎症性サイトカインが誘導される。本成果は、S100 タンパク質群をリガンドとする RAGE の炎症憎悪への役割を理解するための大きな手がかりとなるばかりでなく上記疾患の治療対策に貢献することが大いに期待される。

研究成果の概要 (英文)：

The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is thought to be involved in the pathogenesis of a broad range of inflammatory, degenerative and hyperproliferative diseases. It binds to diverse ligands and activates multiple intracellular signaling pathways. Despite these pivotal functions, molecular events just downstream of ligand-activated RAGE have been surprisingly unknown. Here we show that the cytoplasmic domain of RAGE is phosphorylated at Ser391 by PKC $\zeta$  upon binding of ligands. TIRAP and MyD88, which are known to be adaptor proteins for Toll-like receptor-2 and -4 (TLR2/4), bound to the phosphorylated RAGE and transduced a signal to downstream molecules. Blocking of the function of TIRAP and MyD88 largely abrogated intracellular signaling from ligand-activated RAGE. Our findings indicate that functional interaction between RAGE and TLRs coordinately regulates inflammation, immune response and other cellular functions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	12,900,000	3,870,000	16,770,000
2010年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
年度			0
年度			
年度			
総計	16,500,000	4,950,000	21,450,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医科学

キーワード：シグナル伝達、イメージング、多機能受容体、RAGE、S100 タンパク質

### 1. 研究開始当初の背景

受容体 RAGE は、多様なリガンドに結合してリガンド特異的な情報を細胞内に伝達し、細胞増殖、分化、遊走、アポトーシスなどの結果をもたらす多機能性細胞膜上情報処理ユニットとしての働きをしている。炎症、糖尿病における血管障害、神経変性疾患、がんなどの重要疾患で中心的な役割を果たしていると考えられているが、その詳細な作用機序は未だ明らかではない。本研究は、RAGE 膜直下シグナル伝達機構の解明に、従来の分子細胞生物学的解析技術と我々独自の生体内 RAGE 分子の機能状態の動的可視化技術を融合することで、RAGE の作動機構を明らかにし、RAGE を標的とする治療法の開発やスクリーニングシステム開発の基盤にしようというものである。

### 2. 研究の目的

受容体 RAGE は、多様な S100 タンパク質に結合して各々に特異的な情報を細胞内に伝達するが、その作動機構は未だ不明である。本計画では、RAGE 膜直下細胞質領域からどのように多様なシグナルが伝達されていくのかに関して以下の検討を行うものとする。

- (1) RAGE 活性化状態の動的イメージング
- (2) RAGE 細胞質領域のリン酸化状態、
- (3) RAGE 細胞質領域のリン酸化部位およびリン酸化酵素の同定
- (4) RAGE 細胞質領域結合性アダプタータンパク質の同定とその相互作用解析
- (5) RAGE 下流信号伝達（炎症性サイトカインの誘導に至る過程）へのアダプタータンパク質結合の重要性

### 3. 研究の方法

**(1) 細胞：**本研究には以下の細胞を使用した。ヒト胎児腎細胞株 (HEK293, ATCC 社) およびその MD2/CD14 遺伝子安定発現株 (293-hMD2-CD14, InvivoGen 社)、正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC)、不死化マウス線維芽細胞株 (NIH3T3, ATCC 社)、MyD88 遺伝子ノックアウト (MyD88 KO) マウス肺線維芽細胞 (MyD88 KO マウスはオリエンタル酵母社から購入)。HUVEC は、サプリメントとして 2% FBS、FGF-B (5 ng/ml)、EGF (10 ng/ml)、hydrocortisone (1 mg/ml)、heparin (10 mg/ml) を含有する Humedia-EG 培地 (Kurabo 社) にて培養し、その他の細胞は全て、10% FBS を含有する DMEM/F12 培地 (Gibco 社) にて培養した。細胞内タンパク質のリン酸化には、<sup>32</sup>P-標識正リン酸 (ICN 社) を用いた。

### (2) 試薬およびリコンビナントタンパク質

LPS (TLR4 を刺激) は、Sigma-Aldrich 社より、lipoteichoic acid (LTA-SA)、bacterial lipoprotein (Pam3CSK4)、peptidoglycan (PGN-EC)、lipomannan (LM-MS) は、いずれも InvivoGen 社より購入した。TLR2 刺激には、LTA-SA、Pam3CSK4、PGN-EC、LM-MS のミクスチャーを使用した。polymixin B (PMB; LPS を捕捉) は、Indofine Chemical 社より、組み換えヒト TLR2 細胞外ドメイン (rexTLR2) と組み換えヒト TLR4 細胞外ドメイン (rexTLR4/MD-2) は、R&D 社より購入した。AGE-BSA (AGE) および LPS-binding protein (LBP) は、Calbiochem 社および R&D 社よりそれぞれ購入した。ヒト TIRAP および MyD88 機能阻害性膜透過ペプチド (TIRAPI、MyD88I) は、Imgenex 社より購入した。

ヒト S100A8、S100A9、S100A11、S100A12、HMGB1 に関しては、GST 融合タンパク質として大腸菌で産生させ、グルタチオン共有結合担体によるアフィニティークロマトグラフィーで精製の後、GST を切断・除去した。

### (3) 抗体

Western blot 解析には以下の抗体を使用した。mouse anti-HA tag (clone 6E2)、mouse anti-Myc tag (clone 9B11)、anti-human IRF-3; rabbit anti-human RAGE (Santa Cruz Biotechnology 社)、rabbit anti-human phospho-IRF-3 (Ser396)、rabbit anti-human p38、rabbit anti-human phospho-p38 (Thr180/Tyr182)、rabbit anti-human SAPK/JNK、mouse anti-human phospho-SAPK/JNK (Thr183/Tyr185)、rabbit anti-human Akt、rabbit anti-human phospho-Akt (Ser473)、rabbit anti-human IKKα、rabbit anti-human IKKα/b (Ser176/180)、rabbit anti-human IRAK4、rabbit anti-human NFκB (p65)、mouse anti-human cleaved caspase 8 (Asp384) antibodies (Cell Signaling 社); rabbit anti-His tag、rabbit anti-human MyD88 antibodies (MBL 社); rabbit anti-human PKCa、rabbit anti-human PKCe、rabbit anti-human PKCz、rabbit anti-human PKCm antibodies (Santa Cruz Biotechnology 社); rabbit anti-human TIRAP、mouse anti-TRAM antibodies (Abcam 社); mouse anti-human tubulin antibody (Sigma-Aldrich 社)

**(4) 哺乳動物発現コンストラクト：**CMV イントロンプロモーター (CMVi) を導入した

PDN1r ベクター (プロモーターレスドナーベクター; Clontech 社) を構築し、CMV の下流にヒト RAGE (C 末に Myc-HA-Flag-6His tag が付加あるいは、N 末に 6His-2HA tag が付加) をコードする cDNA を挿入した (全長、細胞質領域欠損型、細胞質領域発現コンストラクト)。TIRAP および MyD88 (N 末に Myc tag、C 末に HA tag)、そして PKC アイソフォーム (C 末に HA tag) 発現ベクターも上記と同様に作製した。各挿入 cDNA の塩基配列は DNA シークエンサーにより正しいことを確認した。

**(5) プラスミドベクターの細胞内導入:** 高純度精製発現コンストラクトの細胞へのトランスフェクションは FuGENE-HD (Roche 社) トランスフェクション試薬を用いて行った。36 時間後に細胞を回収した。

**(6) 免疫沈降:** 細胞に強制発現させた tag 付加遺伝子産物の免疫沈降には、Monoclonal Anti-HA (clone HA-7) tag-agarose (Sigma-Aldrich 社)、monoclonal Anti-His tag (clone 2D8)、monoclonal anti-Myc tag (clone 1G4) agaroses (MBL 社) を使用した。内因性 RAGE の免疫沈降に関しては、Rabbit anti-human RAGE antibody (Santa Cruz Biotechnology 社) を ビオチン標識 (Biotin Labeling Kit-SH; Dojindo Molecular Technologies 社) したものを使用した {streptavidin-agarose (Invitrogen 社) によりプルダウン}。沈降してきた担体結合タンパク質は、いずれも酸性 buffer により溶出した。

**(7) PKC $\zeta$  の活性化:** 細胞内 PKC $\zeta$  の活性化状態は、特異的基質を用いた In vitro リン酸化酵素反応により行った。細胞抽出液にビオチン化 PKC $\zeta$  特異的基質 (biotinylated-PKC $\zeta$ -specific substrate; Santa Cruz Biotechnology 社) と g  $^{32}$ P-標識 ATP を添加し、インキュベーションした後、ビオチン化基質をストレプトアビジンでコーティングした 96 穴プレート (streptavidin-coated plate; BD Biosciences 社) に捕捉させ、その放射活性を測定した。

**(8) siRNA:** 本研究に使用した siRNA は以下の通りである。human PKCa siRNA (ID No. s11092)、human PKC $\zeta$  siRNA (ID No. s11129)、control siRNA (Silencer Negative control 2 siRNA) は、Ambion 社から購入した。Human PKCe siRNA (siGENOME SMART pool M-004653-02-0005)、human PKCm siRNA (siGENOME SMART pool M-005028-02-0005)、human RAGE siRNA (siGENOME SMART pool M-003625-02-0005)、mouse TIRAP siRNA

(siGENOME SMART pool M-049112-00-0005) は、Thermo Scientific Dharmacon 社より購入した。siRNA のトランスフェクションには、Lipofectamin RNAiMAX reagent (Invitrogen 社) を使用した。

#### 4. 研究成果

**(1) RAGE の動的イメージング:** HEK293 細胞に RAGE イメージングベクター [RAGE(wt) -IRES-GFP-NFkBRE-Luc、および細胞質領域欠損型 RAGE( $\Delta$  cyt) -IRES-GFP-NFkBRE-Luc] を一過性に過剰発現させ、RAGE リガンド (S100A11、S100A12、HMGB1) でそれぞれ刺激した。その後、RAGE による NFkB 活性 (Luc 活性) を観察したところ、ワイルドタイプで顕著な活性化を動的に捉えることに成功した。また、 $\Delta$  cyt では、この活性化は検出されなかった。このことより、本実験系が RAGE の活性化検出法として有効であることが示された。

**(2) リガンド刺激による RAGE 細胞質領域のリン酸化:** HEK293 細胞に RAGE 全長 (wt) および細胞質領域欠損型 ( $\Delta$  cyt) を一過性に過剰発現させ、RAGE リガンド (S100A11、S100A12、HMGB1) でそれぞれ刺激した。その後、細胞抽出液を調製し、免疫沈降により RAGE を回収したところ、RAGE の細胞質領域が刺激に応じてリン酸化を受けることが判明した。

**(3) RAGE 細胞質領域のリン酸化酵素の同定:** RAGE 細胞質領域を強制発現させた HEK293 細胞より monoclonal Anti-His tag agarose にて精製した RAGE 細胞質領域を用いて、種々組み換えリン酸化酵素 (活性化型) によるリン酸化反応を検討したところ、PKCa による RAGE 細胞質領域のリン酸化バンドが検出された。

PKC は、同じような性質を持ったアイソザイムからなるファミリーを形成している。我々は、さらにどのタイプの PKC が RAGE 細胞質領域を強くリン酸化するのか検討した。上記と同様の方法を用いて解析したところ PKC $\zeta$  に最も強い活性が検出された。

各 PKC 種に特異的な siRNA を用いて HEK293 細胞の内因性 PKC をノックダウンしたところ、強制発現させた RAGE (全長) の S100A11 刺激によるリン酸化が、PKC $\zeta$  siRNA によって消失した。また、我々は RAGE の細胞質領域に PKC $\zeta$  が特異的に結合していることを明らかにしている。以上の結果から、PKC $\zeta$  が、リガンド刺激による RAGE 細胞質領域のリン酸化を引き起こしていることが明らかとなった。

**(4) RAGE リガンドによる PKC $\zeta$  の活性化:** 次に我々は、PKC $\zeta$  が、RAGE のリガンド刺激に

より活性化されるかどうかの検討を行った。HEK293 細胞に RAGE (wt: 全長あるいは  $\Delta$  cyt: 細胞質領域欠損型)を一過性に強制発現させた後に、種々RAGE リガンド(S100A11、S100A12、HMGB1、AGE)で細胞を刺激した。その細胞抽出液中の PKC $\zeta$  の活性を解析したところ、使用した全ての RAGE リガンド刺激において、酵素活性の顕著な上昇が認められた。この反応は、細胞質領域欠損型では認められなかった。

**(5) PKC $\zeta$ によるRAGE細胞質領域のリン酸化部位の同定:** RAGE細胞質領域には、4つのリン酸化可能なアミノ酸(Ser391、Ser399、Ser400、Thr401)が存在する。これらの内、Ser391は、動物種間(ヒト、マウス、モルモット、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ)で良く保存されている。それぞれのアミノ酸をAla(A)に置換した変異体(SSST: wt、ASST: Ser391をAla、SAST: Ser399をAla、SSAT: Ser400をAla、SSSA: Thr401をAla)を作成し、組み換えPKC $\zeta$ (活性化型)によるIn vitroリン酸化反応を行ったところ、ASST変異体でPKC $\zeta$ によるリン酸化が消失した。

また、RAGE全長(SSST: wtとASST: Ser391をAla)をHEK293細胞にトランスフェクションしたところ、S100A11刺激によるRAGE全長(SSST)のリン酸化がASSTで消失した。これらの結果から、Ser391がPKC $\zeta$ によるRAGEのリン酸化部位であることが判明した。

**(6) RAGE 細胞質領域への TIRAP/MyD88 の結合:** RAGE細胞質領域のリン酸化修飾の生理的意義を検討するため、RAGE細胞質領域に結合するアダプター様のタンパク質を同定しようと試みた。RAGE細胞質領域プルダウン法による結合タンパク質のLC-MS/MS解析では、残念ながら候補のタンパク質を得ることができなかった。そこで、RAGEと機能的に類似性のある受容体を参考にして、結合性があるだろうと予想される候補タンパク質群をスクリーニングする方法に切り替えた。RAGEの下流で活性化される分子群は、TLR2やTLR4のそれと驚くべき程類似していることより、TLR2/4のアダプタータンパク質であるTIRAP、MyD88、TRAMに着目した。これらタンパク質それぞれをRAGE細胞質領域と共にHEK293細胞に発現させ、両者の結合解析を免疫沈降法により行った。その結果、TIRAPとMyD88がRAGE細胞質領域に結合することが判明した。この時、TRAMは結合しなかった。

**(7) RAGEへのTIRAP/MyD88の結合におけるRAGE細胞質領域のリン酸化修飾の重要性:** 上記結合がRAGE細胞質領域のリン酸化状態(Ser391)によって影響を受けるかどうかの検討を行った。RAGE細胞質領域のリン酸化類

似変異体(ESST: Ser391をGluに置換)を新たに作成し、TIRAP、MyD88と共にHEK293細胞に発現させ、RAGE細胞質領域の免疫沈降により結合の変動を解析した。結果として、リン酸化類似体ESSTは、ワイルド体SSSTに比較してTIRAP/MyD88結合の有意な上昇を示した。また、非リン酸化変異体ASSTでは結合が認められなかった。

本結合に関して、我々は、大腸菌からの精製組み換えタンパク質を用いた検討からTIRAPが直接RAGE細胞質領域に結合することを見いだしている。一方、MyD88はTIRAPを介して間接的にRAGE細胞質領域に結合する。

次に、RAGE全長へのTIRAP/MyD88結合を、HEK293細胞を用いて検討した。細胞にRAGE(wtあるいは $\Delta$  cyt: 細胞質領域欠損型)を強制発現させ、リガンド刺激によるRAGEリン酸化とRAGEへの内因性TIRAP/MyD88の結合を解析した。その結果、RAGE全長は、RAGEリガンド(S100A11、S100A12、HMGB1、AGE)刺激時に特異的にリン酸化され、TIRAP/MyD88と結合することが判明した。ネガティブコントロールのGSTやTLR4のリガンドであるLPS、そしてTLR2のリガンドミクスチャー(TLR2Ls)では、このような現象は認められなかった。

内因性RAGEのリン酸化および、TIRAP/MyD88結合に関しては、HUVECを用いて検討した。RAGEの分子量は、抗体のH鎖とほぼ同等の分子量であるので、免疫沈降後のRAGEの検出ができなかったが、RAGE抗体をビオチン化することでこの問題を解決することができた。細胞抽出液と反応後のビオチン化RAGE抗体をストレプトアビジン担体にてプルダウンした後に酸性bufferで溶出する操作を行うが、ビオチンとアビジン結合が強固なためビオチン化抗体は溶出されないのである。この操作により内因性のRAGEを免疫沈降させることが可能になった。本方法より、HUVECにおいて、内因性RAGEのリン酸化および、TIRAP/MyD88結合を解析した。抗体による内因性RAGEの検出の特異性は、RAGE siRNAの適用により評価した。結果、内因性RAGEも、RAGEリガンド(S100A11、S100A12、HMGB1、AGE)刺激時に特異的にリン酸化され、TIRAP/MyD88と結合することが確認された。

**(8) RAGE下流信号伝達におけるTIRAP/MyD88の役割:** RAGEの下流ではAkt、p38、IKK $\alpha$ /b、等のリン酸化酵素が活性化されると共にNF $\kappa$ B転写因子の活性化による炎症性サイトカイン誘導が惹起されることが既に報告されている。我々は、RAGEの下流におけるこれら因子の活性化へのTIRAP/MyD88の必要性を検討しようと試みた。まず、HUVECをRAGEリガンドで刺激すると確かにAkt、p38、IKK $\alpha$ /b、NF $\kappa$ Bの活性化が誘導され、これは、siRNAを

用いた RAGE の発現抑制操作により顕著に現弱することより、これらの反応は RAGE 依存性であることが確認できた。

次に、この系を用いて TIRAP/MyD88 の機能抑制下での反応を検討した。TIRAP、MyD88 の機能を特異的に抑制するため、膜透過性の機能阻害ペプチド (TIRAP I pep.、MyD I pep.) を使用した。結果として、TIRAP I pep. および MyD I pep. の処理細胞 (HUVEC) では、RAGE リガンド (AGE) 刺激による内因性 RAGE のリン酸化が誘導されるものの、TIRAP、MyD88 の結合が消失していた。この時、Akt、p38、IKKa/b、NFkB の活性化もほぼ完全に抑制された。同様の結果が、MyD-/-マウス肺プライマリー線維芽細胞および、TIRAP siRNA 処理マウス NIH3T3 線維芽細胞株で観察された。

RAGE 下流信号伝達による炎症性サイトカイン誘導への TIRAP/MYD88 の重要性に関しては、サイトカイン検出アレイを用いた解析を行った (HUVEC 使用)。その結果、RAGE リガンド (AGE) 刺激により様々な増殖因子およびサイトカインが誘導されるが、これらの誘導は、MyD I pep. の共存下で全て顕著に抑制された。これらの内、代表的炎症性サイトカインである IL-6 に関しては、Northern Blot 法により、その誘導と抑制に関して確認を行った。以上の結果から、RAGE の細胞質領域への TIRAP、MyD88 の結合が、RAGE 下流信号伝達 (Akt、p38、IKKa/b、NFkB の活性化と炎症性サイトカイン誘導) に必須であることが明らかとなった。

#### 考察

**(1) RAGE の膜直下信号伝達:** 本研究より我々は、RAGE にリガンドが結合すると、膜直下細胞質領域の 391Ser (動物種間で良く保存) が PKCz によりリン酸化を受けること、このリン酸化修飾が後の多彩な信号伝達に必須であり、TLR2 と TLR4 に共通のアダプタータンパク質である TIRAP と MyD88 をリクルートすることで下流に様々なシグナルを伝達できること、その結果、多様な炎症性サイトカインの誘導につながることを明らかにすることができた。

このように、TIRAP は、多様な RAGE 信号伝達に中心的役割を担っていることが判明したが、この分子は、TLR4 のアダプター分子でもある。では、RAGE と TLR4 との下流信号伝達の違いはどのようであろうか？我々は、TRAM が RAGE に非結合性であることを見いだした。RAGE では TRAM-TRIF を介する IFN 誘導が起こらないのはこのためである。

また我々は、RAGE と TLR4 の同時活性化における予備的検討も行った。両者に結合能を持つ HMGB1 および S100A8/A9 での刺激を行ったところ、各受容体の単独刺激に対して顕著な NFkB 活性化の増強が惹起された。RAGE と

TLR4 の S100A8/A9 による同時活性化による過剰な炎症反応が、各種炎症性疾患に関わっているかもしれない。

**(2) PKCz の活性化:** PKCz は、atypical PKC (aPKC) サブファミリーに属するジアシルグリセロールおよびカルシウムに非感受性のプロテインキナーゼ C である。RAGE の下流では、どのような因子が PKCz を活性化しているのであろうか？ PKCz の活性化因子として低分子 GTPase である ras が知られている。実際に RAGE をリガンドで刺激すると ras の一過性の活性化がみられることが知られており、RAGE の下流における PKCz の活性化誘導には ras が関与するものと考えられる。しかし、ras が RAGE の膜直下でどのように活性化されるのかは不明であり、現在解析中である。

**(3) RAGE の膜直下信号伝達の阻害剤:** RAGE 阻害法では、1) リガンド吸着剤として RAGE 細胞外領域組み換えタンパク質、2) RAGE 細胞外領域結合性中和抗体、3) RAGE のリガンドに対する中和抗体、等が現在考えられているが、未だ実用化に至っていない。その理由は、1) では、血中安定性の問題、2) では、それ自身が逆にリガンドになりうること、3) では、RAGE には多種多様なリガンドが存在するため、全てに対するものを作製して評価するには大変な困難を要すること、等が指摘されているからである。これらのことより、我々の見いだした RAGE 信号伝達に関して、その機序の有効な特異的阻害剤が見つければ、その意義は非常に大きいものとする。

RAGE からの信号伝達には、TIRAP 結合が必須である。従って、TIRAP の RAGE への結合阻害法の確立が、将来的に本病態に関するひとつの有効な治療手段となるかもしれない。我々は独自に、RAGE の細胞質領域への TIRAP 結合には、TIRAP の TIR ドメイン内 BB-loop 配列が必須であることを発見している。この配列類似の化合物は、decoy として RAGE 信号を抑制してくれるはずであり、RAGE の関わる広範囲炎症性疾患に共通の治療薬剤の一つとして期待が持てる。

最後に、本研究成果は、世界をリードする新規発見であると共に、広範囲炎症性疾患(糖尿病、動脈硬化、神経変成疾患、がん等)に関わる RAGE の機能および役割のより深い理解につながる可能性を秘めている。得られた知見は、広範囲炎症性疾患の治療対策に貢献することが期待され、国内外においてその評価は非常に大きい。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計9件)

- 1 Murata H, **Sakaguchi M**, Jin Y, Sakaguchi Y, Futami JI, Yamada H, Kataoka K, Huh NH: A new cytosolic pathway from a Parkinson's disease-associated kinase, BRPK/PINK1: activation of AKT via MTORC2. *J Biol Chem*. 286: 7182-7189, 2011. 査読有
- 2 Du G, Kataoka K, **Sakaguchi M**, Abarzua F, Than SS, Sonogawa H, Makino T, Shimizu T, Huh NH. Expression of REIC/Dkk-3 in normal and hyperproliferative epidermis. *Exp Dermatol*. 20: 273-277, 2011. 査読有
- 3 Than SS, Kataoka K, **Sakaguchi M**, Murata H, Abarzua F, Taketa C, Du G, Yashiro M, Yanagihara K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH. Intraperitoneal administration of an adenovirus vector carrying REIC/Dkk-3 suppresses peritoneal dissemination of scirrhous gastric carcinoma. *Oncol Rep*. 25: 989-995, 2011. 査読有
- 4 **Sakaguchi M**, Huh NH: S100A11, a dual growth regulator of epidermal keratinocytes. *Amino Acids*. 2010. (In Press) 査読有
- 5 Aochi S, Tsuji K, **Sakaguchi M**, Huh NH, Tsuda T, Yamanishi K, Komine M, Iwatsuki K: Markedly elevated serum levels of calcium-binding S100A8/A9 proteins in psoriatic arthritis are due to activated monocytes/macrophages. *J Am Acad Dermatol*. 2010. (In Press) 査読有
- 6 Kataoka K, **Sakaguchi M**, Peng li K, Taketa C, Yamamoto K, Dui G, Funahashi H, Murata H, Huh NH: Internalization of REIC/Dkk-3 protein by induced pluripotent stem cell-derived embryoid bodies and extra-embryonic tissues. *Int J Mol Med* 26: 853-859, 2010. 査読有
- 7 Zhang K, Watanabe M, Kashiwakura Y, Aili S, Edamura K, Huang P, Yamaguchi K, Nasu Y, Kobayashi Y, **Sakaguchi M**, Ochiai K, Yamada H, Takei K, Ueki H, Huh NH, Li M, Kaku H, Na Y, Kumon H: Expression pattern of REIC/Dkk-3 in various cell types and the implications of the soluble form in prostatic acinar development. *Int J Oncol* 37: 1495-1501, 2010. 査読有
- 8 Yamamoto K, **Sakaguchi M**, Medina RJ, Niida A, Sakaguchi Y, Miyazaki M, Kataoka K,

Huh NH: Transcriptional regulation of a brown adipocyte-specific gene, UCPI, by KLF11 and KLF15. *Biochem Biophys Res Commun*. 400: 175-80, 2010. 査読有

- 9 Tanimoto R, **Sakaguchi M**, Abarzua F, Kataoka K, Kurose K, **Murata H**, Nasu Y, Kumon H, Huh NH: Down-regulation of BiP/GRP78 sensitizes resistant prostate cancer cells to gene-therapeutic overexpression of REIC/Dkk3. *Int J Cancer*. 126: 1562-1569, 2010. 査読有

〔学会発表〕(計1件:共著者の分を含まない)

- 1 **Masakiyo Sakaguchi**, Hitoshi Murata, Ken-ichi Yamamoto, Tomoyuki Ono, Yoshihiko Sakaguchi, Akira Motoyama, Toshihiko Hibino, Ken Kataoka, and Nam-ho Huh; TIRAP, an adaptor protein for TLR-2/-4, transduces a signal from RAGE phosphorylated upon ligand binding、神戸、第33回日本分子生物学会、2010年12月7日

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称: 遺伝子発現を上昇させるシステム及び該システムを保持したベクター

発明者: 阪口政清、公文裕巳、許南浩、渡部昌実

権利者: 桃太郎源社

種類: 特許

番号: 特願 2009-264299

出願年月日: 2009年11月19日

国内外の別: 国内

〔その他〕

阪口政清 岡山大学若手トップリサーチー研究奨励賞を受賞した。(2010年1月20日)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阪口 政清 (SAKAGUCHI MASAKIYO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号: 70379840

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし