

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591350

研究課題名（和文） 強皮症線維芽細胞を用いた線維化の機序の解明

研究課題名（英文） The investigation on the pathogenesis of fibrosis using scleroderma fibroblasts

研究代表者

尹 浩信（IHN HIRONOBU）

熊本大学・生命科学研究部・教授

研究者番号：20282634

研究成果の概要（和文）：線維化の *in vitro* モデルである強皮症線維芽細胞を解析し、細胞外マトリックスの1つであるトロンボスポンジン-1（TSP-1）の過剰発現とそのリガンドであるCD36の発現低下を見いだした。これらの現象は autocrine TGF- β signaling によることを明らかにし、さらに TSP-1 の過剰発現あるいは CD36 の発現抑制にて線維化が誘導できることを証明した。

研究成果の概要（英文）：We investigated scleroderma fibroblasts as an *in vitro* model of fibrosis. We have shown that scleroderma fibroblasts overexpressed thrombospondin-1 (TSP-1), one of extracellular matrix proteins, and down-regulated CD36, the ligand for TSP-1. These phenomenon were shown to be induced by autocrine transforming growth factor- β (TGF- β) signaling in scleroderma fibroblasts. Furthermore, forced overexpression of TSP-1 or knock-down of CD36 was shown to induce fibrosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：(1)collagen (2)TGF- β (3)extracellular matrix (4)signal transduction (5)transcriptional regulation

1. 研究開始当初の背景

全身性強皮症は原因不明の結合織疾患であり、コラーゲンなどの細胞外マトリックスの皮膚や内臓臓器への過剰な沈着を特徴とする。その病態は血管障害やリンパ球活性化に始まり、各種サイトカイン、インテグリン、細胞-細胞外マトリックス相互作用による線維芽細胞のコラーゲン代謝調節亢進に至る

可能性が示唆されている。

強皮症線維芽細胞におけるコラーゲン合成の異常として I 型、III 型コラーゲンの蛋白および mRNA の発現亢進が認められ、転写レベルの異常であることが証明されている。また TGF- β 、oncostatin M、interleukin-4、interferon- γ 、tumor necrosis factor- α 、interleukin-10 などのサイトカインは転写

レベルでコラーゲン遺伝子の発現を調節することが知られている。しかしながら、強皮症線維芽細胞におけるコラーゲン合成亢進の詳細な機序は未だ明らかではなく、また種々のサイトカインによるコラーゲン遺伝子発現調節においても不明な点が多い。

2. 研究の目的

強皮症線維芽細胞におけるコラーゲン合成亢進の機序に関しては、TGF- β の関与が示唆されている。しかしながら強皮症培養線維芽細胞では TGF- β の発現は変化せずコラーゲン合成が亢進している。この観点より申請者らは autocrine TGF- β loop 仮説、すなわち TGF- β の発現は変化せず TGF- β 情報伝達系が活性化していることによりコラーゲン合成が亢進しているという全く新しい仮説を提唱し、注目を集めている。しかしながら、強皮症線維芽細胞における TGF- β 情報伝達系活性化の詳細な機序は明らかとなっていないため、この点を詳細に検討する必要がある。

本研究では、強皮症病態形成に関与していると考えられるサイトカイン、インテグリン、細胞外マトリックスの正常および強皮症皮膚線維芽細胞に対する分子レベルでのコラーゲン遺伝子転写制御および情報伝達への影響について検討を加えたい。

本研究では、強皮症線維芽細胞における TGF- β 情報伝達系の亢進が本当に正しいのかさらに検証し、その上で強皮症線維芽細胞における TGF- β 情報伝達系の活性化の詳細な機序を明らかにしたい。

強皮症線維芽細胞における TGF- β 情報伝達系活性化の機序が明らかとなれば、強皮症のみならず肺線維症、肝硬変、腎硬化症などの線維化の新しい治療法の開発に繋がる可能性がある。特に TGF- β 情報伝達系全てを遮断した場合重篤な副作用が生じるため臨床的応用が困難と考えられるが、線維化において TGF- β 情報伝達系を活性化する機序（蛋白）が細胞外マトリックスや細胞表面のインテグリンやサイトカイン受容体である場合、選択的に同蛋白を阻害することによって臨床的応用が可能であり、また TGF- β 情報伝達系の一部が重要であることが明らかとなれば、その蛋白を選択的に阻害することによって臨床的応用が可能であると考えられる。以上の点から TGF- β 情報伝達系活性化の機序を詳細に知ることができれば、副作用の少ない治療法の開発に繋がると考えられ、申請者らの知る限り、このような研究はまだなされていない。

3. 研究の方法

全身性强皮症患者の前腕伸側硬化部位および正常人より研究に使用する旨同意を取っ

た上皮膚生検を行ない、フォルマリン固定皮膚組織および凍結皮膚組織切片を得、また皮膚線維芽細胞を培養した。

強皮症皮膚線維芽細胞における integrin $\alpha V \beta 5$ の過剰発現の意義を明らかにするために、エレクトロポレーション法を用いて線維芽細胞に integrin $\alpha V \beta 5$ を過剰発現させた細胞 (integrin $\alpha V \beta 5$ stable transfectant) を既に作成し、integrin $\alpha V \beta 5$ stable transfectant の I 型、III 型コラーゲン、フィブロネクチン、テネイシンなどの細胞外マトリックス、MMP-1 などの細胞外マトリックス分解酵素である metalloproteinases (MMPs)、TIMP-1、TIMP-2 などの細胞外マトリックス分解酵素阻害物質である tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) の発現を免疫ブロット法にて蛋白質レベルで、real time PCR 法にて mRNA レベルで、CAT assay にて転写レベルで検討した。さらに I 型コラーゲンに関しては deletion mutants、site specific mutants を用いた転写活性を検討し、その response element、関与する転写因子を gel shift 法にて (super-shift にて) 同定し、その転写因子のリン酸化、DNA 結合能も併せて検討した。さらに各種情報伝達経路を検討するために、Smad2、Smad3 のリン酸化を免疫沈降法にて、また Smad3、Smad4 の DNA 結合能に関しては DNA affinity precipitation assay および gel shift 法にて検討した。PI3 キナーゼに関しては p85 のリン酸化を免疫沈降法にて検討し、PI3 キナーゼ活性も測定した。PI3 キナーゼの下流である Akt に関しては、リン酸化は抗リン酸化 Akt 抗体を用いた免疫ブロット法にて検討し、さらに in vitro kinase assay にてキナーゼ活性を検討した。また FAK のリン酸化は免疫沈降法およびリン酸化 FAK を認識する抗体を用いた免疫ブロット法にて検討した。さらに PI3 キナーゼ、Akt の情報伝達系を遮断するために、PI3 キナーゼ特異的阻害剤 wortmannin、LY294002、Akt inhibitor を用いて、さらには dominant negative PI3 キナーゼあるいは dominant negative Akt を一過性強発現指せることによって integrin $\alpha V \beta 5$ の過剰発現による異常、特に細胞外マトリックス過剰発現が是正されるか検討した。また integrin $\alpha V \beta 5$ stable transfectant の細胞骨格の解析として actin などの cytoskeleton を免疫蛍光法にて観察し、あわせて FAX、Paxillin の細胞内分布も免疫蛍光法にて観察した。免疫沈降法、免疫ブロット法を用いて Paxillin のリン酸化も検討した。また多くの integrin がサイトカイン受容体と会合して情報伝達を行うため、integrin $\alpha V \beta 5$ とサイトカイン受容体、特に TGF- β 受容体と Smad2、Smad3、Smad7、との介合も検討した。また TGF- β 情報伝達に

において caveolin, clathrin と Smad2, Smad3, Smad7 との介合についても解析した。

強皮症線維芽細胞における TSP-1 発現亢進の TGF- β 情報伝達系活性化への関与について明らかにするため作成した皮膚線維芽細胞に TSP-1 を過剰発現した細胞 (TSP-1 stable transfectants) に関しては、I 型、III 型コラーゲンなどの細胞外マトリックス、MMP-1 などの MMPs、TIMP-1 などの TIMPs の発現を免疫ブロット法にて蛋白質レベルで、real time PCR 法にて mRNA レベルで、CAT assay にて転写レベルで検討した。さらに I 型コラーゲンに関しては deletion mutants、site specific mutants を用いた転写活性を検討し、その response element、関与する転写因子を gel shift 法にて (super-shift にて) 同定し、その転写因子のリン酸化、DNA 結合能も併せて検討した。さらに各種情報伝達経路を検討するために、Smad2、Smad3 のリン酸化を免疫沈降法にて、また Smad3、Smad4 の DNA 結合能に関しては DNA affinity precipitation assay および gel shift 法にて検討した。PI3 キナーゼ、Akt、FAK に関してはリン酸化を免疫沈降法、免疫ブロット法にて検討し、キナーゼ活性も測定する。さらに各情報伝達経路の特異的阻害剤、さらには dominant negative form を一過性強発現させ、細胞外マトリックス過剰発現が是正されるか検討した。また α -smooth muscle actin の発現を免疫ブロット法にて検討し、更に免疫蛍光法にて α -smooth muscle actin の細胞内分布、発現量も検討し、各情報伝達経路の特異的阻害剤、さらには dominant negative form を一過性強発現させ、 α -smooth muscle actin の細胞内分布、発現量が変化するか検討した。

さらにこれまでの知見を臨床応用につなげるため、integrin α V β 5 の中和抗体、integrin α V β 5 特異的阻害剤 EMD121974、integrin α V β 5 siRNA、TSP-1 antisense oligo、TSP-1 中和抗体、TSP-1 siRNA の強皮症皮膚線維芽細胞に対する作用について検討を行なった。すなわち、正常および強皮症培養線維芽細胞にこれらの中和抗体、阻害剤存在下で I 型、III 型コラーゲンなどの細胞外マトリックス、MMP-1 などの MMPs、TIMP-1 などの TIMPs の発現を免疫ブロット法にて蛋白質レベルで、real-time PCR 法にて mRNA レベルで、CAT assay にて転写レベルで検討した。また強皮症皮膚線維芽細胞は myofibroblasts に分化し、 α -smooth muscle actin を発現していることが知られているため、これらの中和抗体、阻害剤存在下で α -smooth muscle actin の発現を免疫ブロット法にて検討し、更に免疫蛍光法にて正常および強皮症培養線維芽細胞における α -smooth muscle actin の細胞内分布、発現量も検討し

た。またマウスにブレオマイシンを投与した皮膚硬化モデルを既に作成しているため、integrin α V β 5 の中和抗体、integrin α V β 5 特異的阻害剤 EMD121974、integrin α V β 5 siRNA、TSP-1 antisense oligo、TSP-1 中和抗体、TSP-1 siRNA 投与における影響をコラーゲンなどの細胞外マトリックス、MMP-1 などの MMPs、TIMP-1 などの TIMPs の発現を免疫ブロット法にて蛋白質レベルで、real-time PCR 法にて mRNA レベルで発現を検討し、さらにコラーゲン量に関しては collagenase assay、皮膚病理組織像 (HE 染色)、組織切片のアザン染色を行なうことにより評価した。

またコラーゲンの受容体でもある Discoidin domain receptor (DDR) -1 についても検討を始めた。DDR-1 は情報伝達も制御するので、正常及び強皮症線維芽細胞における DDR-1 の発現量を蛋白、mRNA レベルで検討し、また免疫組織学染色、in situ hybridization 法にて in vivo の発現量として検討した。また DDR-1 のリン酸化を免疫沈降法で解析し、TGF- β 受容体との介合も検討し、DDR-1 が TGF- β 情報伝達亢進に関与するのか検討した。

4. 研究成果

正常および強皮症培養線維芽細胞を用いて免疫ブロット法、免疫沈降法にてトロンボスポンジン-1 (TSP-1) 蛋白の発現量を検討したところ強皮症線維芽細胞において発現が亢進していた。Northern blot 法にて強皮症線維芽細胞において TSP-1 mRNA の発現が亢進していた。皮膚組織を用いた免疫染色法にて強皮症線維芽細胞における TSP-1 の発現亢進が in vivo で確認された。TSP-1 の過剰発現は I 型コラーゲン過剰発現、Smad3 のリン酸化亢進と相関した。また強皮症線維芽細胞では Northern blot 法にて TSP-1 mRNA stability が亢進している事が示され、また TSP-1 遺伝子プロモーター領域を用いた CAT assay にて強皮症線維芽細胞では TSP-1 遺伝子転写活性は亢進していなかった。

また正常線維芽細胞において TGF- β 刺激にて TSP-1 発現が促進され、強皮症線維芽細胞では TSP-1 の過剰発現は TGF- β 中和抗体あるいは TGF- β 1 アンチセンスオリゴにて抑制され、autocrine TGF- β signaling (強皮症線維芽細胞自身が分泌する TGF- β が活性化して TGF- β 情報伝達が亢進した結果) によるものと考えられた。

また TSP-1 中和抗体あるいは TSP-1 アンチセンスオリゴにて強皮症線維芽細胞コラーゲン発現亢進、Smad3 のリン酸化亢進が抑制され、強皮症線維芽細胞における autocrine TGF- β signaling に TSP-1 過剰発現が関与していると考えられた。

TSP-1の受容体として細胞膜蛋白のCD36が知られている。CD36蛋白の発現量を正常および強皮症培養線維芽細胞を用いて免疫ブロット法で検討したところ強皮症線維芽細胞において発現が低下していた。Real time PCR法にてCD36 mRNA発現を検討したところ強皮症線維芽細胞において発現が低下していた。皮膚組織を用いた免疫染色にて強皮症線維芽細胞におけるCD36蛋白の発現を検討したところCD36発現低下がin vivoにて確認された。CD36蛋白の発現低下はトロンボスポンジン-1の過剰発現、I型コラーゲン過剰発現、 α -smooth muscle actin過剰発現、Smad3のリン酸化亢進と相関した。また正常線維芽細胞ではTGF- β 刺激にてCD36発現低下が確認され、強皮症線維芽細胞におけるCD36の発現低下はautocrine TGF- β signaling (強皮症線維芽細胞自身が分泌するTGF- β が活性化してTGF- β 情報伝達が亢進した結果)によるものと考えられた。

さらに正常線維芽細胞におけるsiRNA CD36を用いたRNA干渉によるCD36発現抑制によってトロンボスポンジン-1の過剰発現、I型コラーゲン過剰発現、 α -smooth muscle actin過剰発現、Smad3のリン酸化亢進が誘導され、CD36発現抑制は線維化を誘導する可能性が示唆された。

強皮症線維芽細胞におけるCD36発現低下の意義をさらに明らかにするため、正常および強皮症線維芽細胞へのlatent form TGF- β 添加によってCD36の発現量、TGF- β 活性化、トロンボスポンジン α -smooth muscle actin発現量、Smad3のリン酸化の程度を検討した。正常線維芽細胞ではlatent form TGF- β 添加によってCD36の発現低下、TGF- β 活性化、トロンボスポンジン-1の発現亢進、I型コラーゲン発現亢進、 α -smooth muscle actin発現亢進、Smad3のリン酸化亢進が確認されたが、強皮症線維芽細胞においてはCD36の発現量、TGF- β 活性化、トロンボスポンジン-1の発現量、I型コラーゲン発現量、 α -smooth muscle actin発現量、Smad3のリン酸化の程度に変化を認めなかった。さらに強皮症線維芽細胞におけるCD36とトロンボスポンジン-1の介合、CD36とlatent form TGF- β の介合、トロンボスポンジン-1とlatent form TGF- β が確認されたが、正常線維芽細胞では無刺激下では各々認められなかった。

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 58 件)

1. Maekawa T, Jinnin M, Ihn H. The expression levels of thrombospondin-1 in

dermatofibroma and dermatofibrosarcoma protuberans. *Eur J Dermatol*, in press.

2. Arakawa H, Jinnin M, Muchemwa FC, Makino T, Kajihara I, Makino K, Honda N, Sakai K, Fukushima S, Ihn H. Analysis of adiponectin expression in rheumatic diseases. *Exp Dermatol*, in press.

3. Xie Y, Jinnin M, Zhang X, Wakasugi S, Makino T, Inoue Y, Masuguchi S, Sakai K, Jinnin M, Ihn H. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrate in discoid lupus erythematosus. *BioScience Trends*, in press.

4. Kajihara I, Jinnin M, Makino T, Toihata-Yonemitsu A, Fukushima S, Ihn H. Clinical significance of cobble stone appearance on the skin of patients with systemic sclerosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, in press.

5. Kuwata N, Makino T, Inoue Y, Ihn H. Expression pattern of new vessels arise related factors, VEGF1,2,3, and D2-40 protein, in the skin of patients with systemic sclerosis. *Eur J Dermatol*, in press.

6. Nakayama W, Jinnin M, Makino K, Kajihara I, Makino T, Fukushima S, Inoue Y, Ihn H. Serum levels of soluble CD163 in patients with systemic sclerosis. *Rheumatol Int*, in press.

7. Tomita M, Kadono T, Yazawa N, Kawashima T, Tamaki Z, Ashida R, Ohmatsu H, Asano Y, Sugaya M, Kubo M, Ihn H. Tamaki K, Sato S. Serum levels of soluble CD21 in patients with sclerosis. *Rheumatol Int*, in press

8. Oyama R, Jinnin M, Kakimoto A, Kanemura H, Ichihara A, Fujisawa A, Honda N, Masuguchi S, Fukushima S, Maruo K, Ihn H. Circulating microRNA associated with TNF signaling pathway in patients with plaque psoriasis. *J Dermatol Sci*, 61: 209-211, 2011. (査読有)

9. Kanemura H, Fukushima S, Yamashita J, Honda N, Oyama R, Kakimoto A, Masuguchi S, Ishihara T, Inoue Y, Jinnin M, Ihn H. Circulating microRNA-221 level in patients with malignant melanoma as a new tumor marker. *J Dermatol Sci*, 61: 187-193, 2011. (査読有)

10. Moriya C, Jinnin M, Yamane K, Maruo K, Muchemwa FC, Igata T, Makino T, Fukushima S, Ihn H. Expression of matrix metalloproteinase-13 is controlled by IL-13 via PI3K/Akt3 and PKC- δ in normal dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol*, 131: 655-661, 2011. (査読有)

11. Asano Y, Ihn H. Jinnin M, Tamaki K.

Altered dynamics of TGF- α receptors in scleroderma fibroblasts. *Ann Rheum Dis*, 70: 384-387, 2011. (査読有)

12. Kawashita Y, Jinnin M, Makino T, Kajihara I, Makino K, Honda N, Masuguchi S, Fukushima S, Inoue Y, Ihn H. Circulating miR-29a levels in patients with scleroderma spectrum disorder. *J Dermatol Sci*, 61: 67-69, 2011. (査読有)

13. Nakashima T, Jinnin M, Etoh T, Fukushima S, Masuguchi S, Maruo K, Inoue Y, Ishihara T, Ihn H. Down-regulation of mir-424 contributes to the abnormal angiogenesis via MEK1 and cyclin E1 in senile hemangioma: its implications to therapy. *PloS One*, 5: e14334, 2010. (査読有)

14. Honda N, Jinnin M, Kajihara I, Makino T, Fukushima T, Ihn H. Impaired lymphangiogenesis due to excess VEGF-D/Flt-4 signaling in the skin of patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol*, 163: 776-780, 2010. (査読有)

15. Kawashima T, Tada Y, Asano Y, Yazawa N, Tomita M, Tamaki Z, Kubo M, Ihn H, Sugaya M, Kadono T, Tamaki K, Sato S. Serum TARC/CCL17 levels are increased in dermatomyositis associated with interstitial lung disease. *J Dermatol Sci*, 60: 52-54, 2010. (査読有)

16. Higashi-Kuwata N, Jinnin M, Makino T, Fukushima S, Inoue Y, Muchemwa FC, Yonemura Y, Komohara Y, Takeya M, Mitsuya H, Ihn H. Characterization of monocyte/macrophage subsets in the skin and peripheral blood derived from patients with systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther*, 12: R128 (1-10), 2010. (査読有)

17. Kato T, Inoue Y, Ishihara T, Kageshita T, Ihn H. Amelanotic malignant melanoma where primary lesion was discovered 5 years after metastasis in the lymph node. *J Dermatol*, 37: 730-734, 2010. (査読有)

18. Muchemwa FC, Wakasugi S, Honda Y, Ihn H. PDGFB quantification is a useful tool in the diagnosis of dermatofibrosarcoma protuberans: a study of 10 cases. *Clin Exp Dermatol*, 35: 295-299, 2010. (査読有)

19. Muchemwa FC, Jinnin M, Wakasugi S, Sakamoto M, Inoue Y, Ishihara T, Ihn H. A novel COL1A1 exon 14/PDGFB fusion gene in dermatofibrosarcoma protuberans, *Eur J Dermatol*, 20: 390-391, 2010. (査読有)

20. Jinnin M, Makino T, Kajihara I, Honda N, Makino K, Ogata A, Ihn H. Serum levels of soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 in patients with

systemic sclerosis. *Br J Dermatol*, 162: 751-758, 2010. (査読有)

21. Makino T, Jinnin M, Muchemwa F, Fukushima S, Ihn H. Basic fibroblast growth factor stimulates the proliferation of human dermal fibroblasts via the ERK1/2 and JNK pathways. *Br J Dermatol*, 162: 717-723, 2010. (査読有)

22. Hoshino T, Matsuda M, Yamashita Y, Takehara M, Fukuya M, Mineda K, Maji D, Ihn H, Adachi H, Sobue G, Funasaka Y, Mizushima T. Suppression of melanin production by expression of HSP70. *J Biol Chem*, 285: 13254-13263, 2010. (査読有)

23. Igata T, Jinnin M, Makino T, Moriya C, Muchemwa F, Ishihara T, Ihn H. Up-regulated type I collagen expression by the inhibition of Rac1 signaling pathway in human dermal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 393: 101-105, 2010. (査読有)

24. Akiyama M, Sakai K, Yanagi T, Fukushima S, Ihn H, Hitomi K, Shimizu H. Transglutaminase 1 preferred substrate peptide K5 is an efficient tool in diagnosis of lamellar ichthyosis. *Am J Pathol*, 176: 1592-1599, 2010. (査読有)

25. Nishi H, Inoue Y, Kageshita T, Takata M, Ihn H. The expression of human high molecular weight melanoma-associated antigen in acral lentiginous melanoma. *Bioscience Trends*, 4: 86-89, 2010. (査読有)

26. Matsuda M, Hoshino T, Yamashita Y, Tanaka KI, Maji D, Sato K, Adachi H, Sobue G, Ihn H, Funasaka Y, Mizushima T. Prevention of ultraviolet B radiation-induced epidermal damage by expression of heat shock protein 70. *J Biol Chem*, 285: 5848-5858, 2010. (査読有)

27. Ohshima Y, Yajima I, Yanagishita T, Kumasaka MY, Yanagishita T, Watanabe D, Takahashi M, Inoue Y, Ihn H, Matsumoto Y, Kato M. CD109 expression levels in human malignant melanoma. *J Dermatol Sci*, 57: 132-146, 2010. (査読有)

28. Makino T, Johno T, Fukushima S, Wakasugi S, Inoue Y, Ihn H. Decreased serum IL-7 levels in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 54s: 68-69, 2009. (査読有)

29. Satoh T, Ishikawa O, Ihn H, Endo H, Kawaguchi Y, Sasaki T, Goto D, Takahashi K, Takahashi H, Masaki Y, Mimori T, Muro Y, Yazawa N, Sato S, Takehara K, Kuwana M. Clinical usefulness of anti-RNA polymerase III antibody measurement by

enzyme-linked immunosorbent assay. *Rheumatology* 48: 1570-1574, 2009. (査読有)

30. Higashi-Kuwata N, Makino T, Inoue Y, Takeya M, Ihn H. Alternatively activated macrophages (M2 macrophages) in the skin of patients with localized scleroderma. *Exp Dermatol*, 18: 727-729, 2009. (査読有)

31. Zhang X, Egawa K, Xie Y, Ihn H. The expression of SnoN in normal human skin and cutaneous keratinous neoplasms. *Int J Dermatol*, 48: 579-583, 2009. (査読有)

32. Fukushima S, Hirata S, Motomura Y, Fukuma D, Matsunaga Y, Haruta M, Ikuta Y, Ikeda T, Kageshita T, Ihn H, Nishimura Y, Senju S. Multiple antigen-targeted immunotherapy with α -galactosylceramide-loaded and genetically engineered dendritic cells derived from embryonic stem cells. *J Immunotherapy*, 32: 219-231, 2009. (査読有)

33. Kogushi-Nishi H, Kawasaki J, Kageshita T, Ishihara T, Ihn H. The prevalence of melanocytic nevi on the soles in the Japanese population. *J Am Acad Dermatol*, 60: 767-771, 2009. (査読有)

34. Hashimoto S, Egawa K, Ihn H, Tateishi S. Non-radioisotope method for diagnosing photosensitive disorders and a new marker for xeroderma pigmentosum variant. *J Dermatol*, 36: 130-135, 2009. (査読有)

35. Sakai K, Wakasugi S, Muchemwa FC, Ihn H. Quick detection of herpes viruses from skin vesicles and exudates without nucleic acid extraction using the multiplex PCR method. *Bioscience Trends*, 2: 164-168, 2008. (査読有)

36. Hashimoto S, Suga T, Kudo E, Ihn H, Uchino M, Tateishi S. Adult-onset neurological degeneration in a patient with Cockayne syndrome and a null mutation in the CSB gene. *J Invest Dermatol*, 128: 1597-1599, 2008. (査読有)

37. Xie Y, Zhang X, Wakasugi S, Makino T, Inoue Y, Ihn H. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrate in localized scleroderma. *Int J Dermatol*, 47: 438-442, 2008. (査読有)

38. Hashimoto S, Egawa K, Ihn H, Igarashi A, Matsunaga T, Tateishi S, Yamaizumi M. A new disorder in UV-induced skin cancer with defective DNA repair distinct from xeroderma pigmentosum or Cockayne syndrome. *J Invest Dermatol*, 128: 694-701, 2008. (査読有)

39. Ihn H. Autocrine TGF- β signaling in

the pathogenesis of systemic sclerosis. *J Dermatol Sci*, 49: 103-113, 2008. (査読有)

[学会発表] (計 50 件)

1. 尹 浩信. 「全身性強皮症の病因について」

2010.4.22-25 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (神戸ポートピアホテル・神戸)

2. Hironobu Ihn. Molecular mechanism of fibrosis. (Invited Lecture)

2010.4.2-3 The 21th Academic Meeting of Korean Society for Investigative Dermatology (Auditorium, 1st Floor, Clinical Research Institute Seoul National University Hospital, Seoul, Korea)

[図書] (計 18 件)

1. 尹 浩信: 強皮症 2009. リウマチ病セミナーXXI: 30-33, 2011. 永井書店.

2. 尹 浩信: 全身性強皮症. 皮膚疾患最新の治療 2009-2010 78-79, 2009. 南江堂.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尹 浩信 (IHN HIRONOBU)

熊本大学・生命科学研究部・教授

研究者番号: 20282634