

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461456

研究課題名(和文) 膠原病に伴う肺高血圧症におけるIPAS/HIF-3 シグナルの役割の解明

研究課題名(英文) Role of IPAS/HIF-3 $\alpha$ -mediated signals in the pathophysiology of pulmonary hypertension associated with connective tissue disease

研究代表者

牧野 雄一 (Makino, Yuichi)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90345033

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：結合織疾患に伴う肺動脈性肺高血圧症(PAH)は、膠原病難治性病態の一つであるが発症機序の詳細は不明である。本研究は、膠原病性肺高血圧症におけるIPAS/HIF-3 シグナル異常の意義を究明し、IPAS/HIF-3 シグナルを標的とする新規治療法の開発基盤の確立を目的としている。成果としてPAH合併強皮症患者において有意に高頻度に認められるHIF-3 遺伝子一塩基多型(SNP)を同定し、当該SNP導入HIF-3 はET1発現を増強させることを見出した。SNP保有HIF-3 によるET1発現の増強は血管平滑筋細胞の増殖・遊走を惹起しPAHの血管リモデリング異常と密接に関連することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a poor prognostic complication of connective tissue disease (CTD). Increased expression of endothelin-1 (ET-1) is of particular interest for its pathogenic role in PAH. We previously identified non-synonymous single nucleotide polymorphisms (SNPs) of HIF3A gene in the patients with systemic sclerosis (SSc) associated with PAH and demonstrated that ET-1 mRNA is induced by overexpression of HIF-3 carrying the SNPs (SNP-HIF3) even under normoxic condition. In this study, we aim to further investigate the pathophysiological roles of SNP-HIF3 in ET-1 regulation with respect to PAH. We found SSc-PAH related SNP-HIF3 is a potent transcriptional activator of ET-1 gene. Upregulated ET-1 by SNP-HIF3 caused enhancement of proliferation and migration of pulmonary artery smooth muscle cells. In conclusion, SNP-HIF3 might play a role in dysregulation of pulmonary arterial remodeling and contribute to pathogenesis of PAH in SSc.

研究分野：内科学、膠原病学

キーワード：一塩基多型 エンドセリン1 低酸素 膠原病 肺高血圧症 HIF

### 1. 研究開始当初の背景

膠原病性肺高血圧症は、免疫抑制療法の進化した今日においても膠原病患者の予後改善を阻む難治性病態の一つである。中でも肺動脈性肺高血圧症(PAH)は、その約 2/3 を占める重要な病態であり、肺動脈の血管収縮、血管リモデリング異常(動脈壁肥厚)、血栓形成、などによる肺動脈血管抵抗が右心負荷を増大させ、心機能の著しい低下を惹起する。近年、PAHにおける肺動脈血管抵抗の増大に、局所におけるエンドセリン1(ET1)の増加による血管内皮細胞増殖および血管収縮の亢進や、一酸化窒素・プロスタグランジン I<sub>2</sub>の低下に伴う血管拡張の減弱などが関与することが示され、ET受容体拮抗薬、ホスホジエステラーゼ5阻害剤などによる治療の有効性も示されつつあるが、PAHの病態の成立機序については、不明な点が多く残されている。

低酸素によって活性化される転写因子 Hypoxia-inducible factors (HIFs)は、basic helix-loop-helix (bHLH)-Per-Arnt-Sim (PAS)型蛋白ファミリーに属する HIF-1 $\alpha$ 、HIF-2 $\alpha$ 、HIF-3 $\alpha$ のいずれかの $\alpha$ サブユニットと HIF-1 $\beta$ サブユニットからなるヘテロ二量体であり、各種解糖系酵素、グルコース輸送蛋白、血管内皮増殖因子(VEGF)、造血因子エリスロポイエチンなど、多くの遺伝子の発現を転写レベルで制御し、生体の低酸素適応に重要な役割を果たしている。近年、HIFsが肺高血圧症の発症・進展に関与する可能性が基礎的、臨床的解析により示され、注目されている。例えば、HIF-1は肺動脈血管内皮細胞において、ET1やVEGFの発現を転写のレベルで誘導し、血管内皮細胞の増殖やアポトーシスの制御を介して血管リモデリングの異常に寄与するらしい。HIF-1は肺動脈平滑筋における電位依存性カリウムチャンネルを抑制し、肺動脈の収縮を助長する。また、HIF-1 $\alpha$ 遺伝子のヘテロノックアウトマウスでは、慢性低酸素暴露による肺高血圧症の発症が抑制されることが示されている。さらに、HIF-2の恒常的活性化が誘導される遺伝子変異を持つ家系では、多血症と共に肺高血圧症が発症することが報告されている。

申請者は、一貫してHIFsによる遺伝情報発現制御機構、生体機能調節機構について究明を続けている。これまで、HIFsによる腫瘍細胞分化制御、免疫細胞機能制御、高グルコースによる低酸素非依存性HIFs活性化と細小血管障害など、HIFsが低酸素応答のみならず広く生体機能調節に関わることを示して来た。中でも、HIF-1、HIF-2機能を抑制する内因性分子IPAS(= Inhibitory PAS domain protein)を発見し、組織特異的な低酸素応答制御(応答抑制)機構の解明に寄与した(Nature 2001)。IPASはHIF-3 $\alpha$ のスプライシングバリエーションであり、IPAS/HIF-3 $\alpha$ の複数のアイソフォームがHIFファミリーのドミナントネガティブ分子としてHIFsを介した

低酸素応答の抑制に重要な役割を果たしていることが申請者を含め複数のグループにより明らかにされている。

申請者らは、IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子のノックアウトマウス(KO)を作成した。IPAS/HIF-3 $\alpha$  KOマウスでは、HIF-1、HIF-2に対する抑制作用が減弱し、「脱抑制」の状態となるため、HIF-1、HIF-2標的遺伝子の低酸素誘導性発現が亢進する。IPAS/HIF-3 $\alpha$  KOマウスは、正常に誕生するが、徐々に右室拡大、径30 $\mu$ m未満の肺細動脈の筋性動脈化、さらに肺血管内皮細胞でのET1産生の亢進などヒト肺動脈性肺高血圧症に極めて類似した形質を示した。IPAS/HIF-3 $\alpha$  KOマウス由来の肺血管内皮細胞に、IPAS/HIF-3 $\alpha$ ファミリー遺伝子を再導入すると、ET1産生の亢進は是正された。すなわち、IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子の異常が、HIF-1、HIF-2機能の制御異常とともに、肺動脈性肺高血圧症に発症進展に関わる可能性を示す結果である。申請者は、このIPAS/HIF-3 $\alpha$  KOマウスにおけるヒト肺高血圧症類似の形質に着目し、膠原病性肺高血圧症患者におけるIPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子の一塩基多型(SNP)を解析した。米国NCBIのSNPデータベース(dbSNP)には約1000のヒトHIF-3 $\alpha$ 遺伝子SNPが登録されているが、そのうちヒトHIF-3 $\alpha$ 遺伝子エクソン領域のSNPについて、強皮症性肺高血圧症患者遺伝子におけるSNP陽性率を解析した。その結果、肺高血圧症を有する強皮症患者において(肺高血圧症を有さない強皮症患者および正常人に比べ)有意に高頻度で認められるSNPを複数同定した。予備的検討では、これらのSNPを導入した変異IPAS/HIF-3 $\alpha$ では、ET1遺伝子を含む低酸素誘導性遺伝子の発現が増強することが判明した。すなわち、膠原病性肺高血圧症の発症・進展にIPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子の変異あるいはIPAS/HIF-3 $\alpha$ 機能変化が関与する可能性が高いと考え、本研究提案に至った。

### 2. 研究の目的

IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子のSNPあるいは変異が、膠原病性肺高血圧症の発症進展に①どのように関わるか<患者におけるSNP保有率やSNPと臨床像の関連の解析、疾患別保有分布の解析など>、②いかなるメカニズムで関わるか<SNP保有IPAS/HIF-3 $\alpha$ の機能解析>を解明し、膠原病性肺高血圧症の病態におけるIPAS/HIF-3 $\alpha$ シグナルの意義を究明し、IPAS/HIF-3 $\alpha$ シグナルを標的とした肺高血圧症新規治療法開発の基盤を確立することを目指す。

### 3. 研究の方法

本研究の具体的な遂行計画は、①膠原病性肺高血圧症患者におけるIPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子異常(多型)の解析、②IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子異常がもたらすIPAS/HIF-3 $\alpha$ 分子機能の変調ならびにHIFシグナルの異常の肺高血圧症における役割の究明、③IPAS/HIF-3 $\alpha$ シグナル

を標的とする膠原病性肺高血圧症の新規分子療法開発の基盤構築、の3つの柱より構成される。

#### (1) 膠原病性肺高血圧症における IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子多型の解析

すでに、東京女子医科大学に登録されている「肺高血圧症を有する強皮症患者」とその対照群遺伝子の解析において、疾患群に高頻度に検出されるヒト IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子 SNP を複数同定した。他の膠原病患者へ対象を拡大し解析する。同定された SNP の他、NCBI dbSNP に登録済みの IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子エクソン SNP を中心に、強皮症さらに MCTD など他の膠原病も含めた肺高血圧症患者とその対照群を対象に解析を行う。

#### (2) 膠原病性肺高血圧症患者で認めた IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子 SNP が分子機能に与える影響の解析

予備検討では、強皮症性肺高血圧症患者で検出された SNP は IPAS/HIF-3 $\alpha$ によるエンドセリン (ET 1) など低酸素誘導性遺伝子発現を増強させる証左を得ている。SNP 保有 IPAS/HIF-3 $\alpha$ の機能について、以下のごとく解析する。

##### 2-1) SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$ が低酸素誘導性遺伝子発現に与える影響の解析

上記 SNP を導入したヒト、マウス IPAS/HIF-3 $\alpha$ 発現プラスミドは既に作成され、予備的検討が行われている。ヒト、マウス由来の血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、肺胞上皮細胞等に SNP 保有 IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子を導入し、低酸素暴露時の ET 1 をはじめとする HIF-1、HIF-2 標的遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法などで解析する。

##### 2-2) SNP 導入による IPAS/HIF-3 $\alpha$ 機能変調のメカニズムの解析

SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$ による (ET 1 などの) 発現誘導のメカニズムを解析する。SNP は IPAS/HIF-3 $\alpha$ の分子構造のうち、とくに DNA 結合領域、二量体形成領域に存在することから、SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$ と HIF-1 $\beta$ の二量体形成様相について免疫沈降法で解析する。さらに SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$ 強発現下での HIF-1、HIF-2 標的遺伝子のプロモーター占拠様相についてクロマチン沈降法で解析する。

#### (3) IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子異常がもたらす肺動脈性肺高血圧症類似形質とその是正の試み

IPAS/HIF-3 $\alpha$ KO マウスでは、右室拡大、非筋性肺細動脈の筋性動脈化と共に肺血管内皮細胞での ET1 産生の亢進などヒト肺動脈性肺高血圧症類似の形質を示す。血管内皮細胞における SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$ 発現が肺動脈リモデリング異常に与える影響と肺高血圧症治療薬による形質是正の可否などについて解析する。

## 4. 研究成果

### (1) 膠原病性肺高血圧症における

### IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子多型の解析

東京女子医科大学が所有する「肺高血圧症を有する強皮症患者」とその対照群である「肺高血圧症を有さない強皮症患者」「正常人」遺伝子を対象として、米国 NCBI dbSNP に登録されているヒト HIF3A 遺伝子 SNP のうちエクソン領域に存在する SNP 全てについてダイレクトシーケンス法でその有無を解析した。ヒト HIF3A 遺伝子エクソン 5 ならびに 6 領域に存在する 2 つの SNP が、肺高血圧症を有する強皮症患者においてアリル頻度、ゲノタイプ数いずれも統計学的有意に高く認められた。エクソン 5/6 SNP を共に有する例も存在した。

一方、当該 SNP の保有頻度について、東京女子医大が所有する「肺高血圧症を有する全身性エリテマトーデス患者」および「肺高血圧症を有する混合性結合織病患者」とそれぞれ肺高血圧症を有さない対照群の遺伝子を同じくダイレクトシーケンス法で解析した結果、SNP は検出されなかったことから、当該 SNP は肺高血圧症を有する強皮症患者に特異性をもって認められる SNP である可能性が示唆された。

### (2) 膠原病性肺高血圧症患者で認めた IPAS/HIF-3 $\alpha$ 遺伝子 SNP が分子機能に与える影響の解析

#### 2-1) SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$ が低酸素誘導性遺伝子発現に与える影響の解析

上述のエクソン 5/6 の SNP を導入した IPAS/HIF-3 $\alpha$  (SNP IPAS/HIF-3 $\alpha$ )、および野生型 IPAS/HIF-3 $\alpha$ の発現ベクターを作成し HeLa 細胞に安定導入した。SNP IPAS/HIF-3 $\alpha$  恒常発現 HeLa 細胞株 (SNPHeLa)、IPAS/HIF-3 $\alpha$  恒常発現 HeLa 細胞株 (WtHeLa) が、それぞれ導入遺伝子産物を同レベルで発現することをウエスタンブロット法で確認した。SNPHeLa, WtHeLa を正常酸素分圧下、低酸素分圧下で培養後 ET1 mRNA 発現を RTPCR 法で解析した結果、SNPHeLa では正常酸素分圧下においても低酸素培養下と同程度に ET1 mRNA の発現が亢進していた。培養液中の ET1 濃度を ELISA 法で測定した結果、やはり SNPHeLa では正常酸素分圧下においても低酸素培養下と同程度に ET1 濃度が上昇していた。一方、ヒト肺動脈血管内皮細胞 (HPAEC) で作成した SNP 導入および野生型 IPAS/HIF-3 $\alpha$ 恒常発現細胞株 (SNPHPAEC および WtHPAEC) でも同様に正常酸素分圧下における ET1 の発現亢進が mRNA ならびにタンパク質のレベルで観察された。すなわち、SNP 保有 IPAS/HIF-3 $\alpha$ は、低酸素誘導性分子 ET1 の発現を酸素分圧にかかわらず誘導することが示唆された。

#### 2-2) SNP 導入による IPAS/HIF-3 $\alpha$ 機能変調のメカニズムの解析

ヒト HIF-3 $\alpha$ エクソン 5/6 は PAS 領域をコ

ードする。PAS 領域は IPAS/HIF-3 $\alpha$  の2量体形成など分子間結合に関わる領域であることから、同エクソンに存在する SNP が HIF-1 $\beta$  との2量体形成に与える影響について免疫沈降法を用いて解析した。前出の SNPHeLa 細胞、WtHeLa 細胞を正常酸素分圧、低酸素分圧下で培養した後、総細胞抽出液を調整し、抗ヒト HIF-3 $\alpha$  抗体あるいは抗ヒト HIF-1 $\beta$  抗体を用いて免疫沈降し、それぞれ抗ヒト HIF-1 $\beta$  抗体、抗ヒト HIF-3 $\alpha$  抗体でプロットした結果、いずれの抗体で沈降した場合も SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  と HIF-1 $\beta$  の結合は、野生型 IPAS/HIF-3 $\alpha$  との結合と比較して増強していた。特に SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  と HIF-1 $\beta$  の結合は正常酸素分圧下でも増強していることが確認された。

続いて SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  と HIF-1 $\beta$  複合体が ET1 遺伝子プロモーターに与える影響について解析した。ヒト ET1 遺伝子は転写開始点より約 150bp 上流までに低酸素に応答して活性化する配列が存在する。この領域には複数の転写因子結合配列が確認されているが、低酸素応答性配列 (HRE) が近傍の GTG 配列を含む類似配列とともに含まれることが示されている。この領域への IPAS/HIF-3 $\alpha$  の結合をクロマチン免疫沈降法 (ChIP 法) で解析した。SNPHeLa 細胞、WtHeLa 細胞を正常酸素分圧、低酸素分圧下で培養後、細胞を固定し断片化クロマチンを得、抗ヒト HIF-3 $\alpha$  抗体を用いて免疫沈降した。ET1 遺伝子転写開始点から上流約 150bp を含む領域は、いずれの細胞でも低酸素下で多く回収 (増幅) されたが、SNPHeLa 細胞では正常酸素分圧、低酸素分圧を問わず WtHeLa 細胞より多くの断片が回収された。すなわち、SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  は野生型 IPAS/HIF-3 $\alpha$  に比べより高い親和性で ET1 遺伝子プロモーターに結合することが示唆された。

次に ET1 遺伝子プロモーター活性化に与える影響を解析した。上述の ET1 遺伝子プロモーター配列を含むルシフェラーゼレポーターを作成し SNPHeLa 細胞、WtHeLa 細胞に導入後、正常酸素分圧、低酸素分圧下培養を行いレポーター活性を測定した。両細胞において、ET1 遺伝子プロモーターは低酸素培養下でより強く活性化された。SNPHeLa 細胞においては正常酸素分圧下培養においても低酸素分圧下培養 WtHeLa 細胞と同等のプロモーター活性を誘導されていた。さらにプロモーター配列から HRE, 近傍類似 GTG 配列を欠損させたルシフェラーゼレポーターを作成して解析した結果、WtHeLa 細胞では HRE のみが ET1 遺伝子プロモーター活性化に寄与しているのに対し、SNPHeLa 細胞では HRE, 近傍類似 GTG 配列の双方がプロモーター活性化に重要であることが判明した。

以上より、SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  は、野生型 IPAS/HIF-3 $\alpha$  には認めないメカニズムとして、酸素分圧を問わず、ET1 遺伝子プロモーター配列の二箇所を介してより高い親和性

で結合し、ET1 遺伝子プロモーターを強く活性化することが示唆された。

(3) IPAS/HIF-3 $\alpha$  遺伝子異常がもたらす肺動脈性肺高血圧症類似形質とその是正の試み

IPAS/HIF-3 $\alpha$ KO マウスの表現形質のもっとも顕著な特徴の一つに肺血管のリモデリング異常があった。血管内皮細胞における SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  発現が肺動脈リモデリングに与える影響について解析した。前述の SNP 導入および野生型 IPAS/HIF-3 $\alpha$  恒常発現 HPAEC 株 (SNPHPAEC および WtHPAEC) あるいはコントロールベクター導入 HPAEC 株 (mockHPAEC) を正常酸素分圧下で培養し、培養上清を調整した。各培養上清をヒト血管平滑筋培養液に添加したところ、SNPHPAEC 上清は血管平滑筋の増殖、遊走を誘導した。WtHPAEC ならびに mockHPAEC では見られなかった。SNPHPAEC による誘導活性は血管平滑筋培養液にリコンビナント ET1 を 50-100 ng/ml の (最終) 濃度で添加した場合と同等であった。さらに、SNPHPAEC 培養上清による血管平滑筋増殖・遊走誘導は、ET 受容体阻害剤 (100  $\mu$ M ボセンタン) によってほぼ完全に消失したが、ホスホジエステラーゼ 5 阻害剤 (100 nM シルデナフィル) では有意な変化は認めなかった。すなわち、SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  が肺動脈内皮細胞において発現を増強させた ET1 は、パラクラインに働き血管平滑筋の増殖、遊走を惹起することにより肺血管リモデリング異常をもたらす可能性が示された。この血管平滑筋に対する影響は ET 受容体阻害剤により特異的に抑制することが可能であり、SNP 保有 HIF-3 $\alpha$  が関連する肺高血圧症の特異的治療薬となりうることを示唆された。

#### (4) 結論と展望

肺高血圧症合併強皮症患者で高頻度に認められた SNP 保有 HIF-3 $\alpha$  は、ET1 遺伝子プロモーターの強い活性化を介して ET1 産生亢進を促し、肺血管リモデリング異常を惹起する可能性が示された。今回実験計画に挙げながら達成できなかった IPAS/HIF-3 $\alpha$  遺伝子ノックアウトマウスの肺高血圧症類似形質の救済実験、SNP 導入 IPAS/HIF-3 $\alpha$  遺伝子マウスにおける肺高血圧モデル作成などの解析は今後遂行すべき研究である。

#### 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 RXR $\beta$  is a MHC-encoded susceptibility gene associated with anti-topoisomerase I antibody-positive systemic sclerosis.  
Oka A, Asano Y, Hasegawa M. et al, (Kawaguchi Y, 22 人中 7 番)

J Invest Dermatol. 2017 May 12. pii: S0022-202X(17)31494-X.[Epub ahead of print]

② Transethnic meta-analysis identifies GSDMA and PRDM1 as susceptibility genes to systemic sclerosis.

Terao C, Kawaguchi T, Dieude P. et al (Kawaguchi Y, 54 人中 7 番め)  
Ann Rheum Dis. 2017 Jun;76(6):1150-1158.

③ Safety and tolerability of bosentan for digital ulcers in Japanese patients with systemic sclerosis: Prospective, multicenter, open-label study.

Hamaguchi Y, Sumida T, Kawaguchi Y et al  
J Dermatol. 2017 Jan;44(1):13-17.

④ Discontinuation of etanercept after achievement of sustained remission in patients with rheumatoid arthritis who initially had moderate disease activity-results from the ENCOURAGE study, a prospective, international, multicenter randomized study.

Yamanaka H, Nagaoka S, Lee SK et al(Makino Y 22 人中 19 番目) Mod Rheumatol. 2016 Sep;26(5):651-61.

⑤ One-year maintenance with routine assessment of patient index data 3-based remission may inhibit radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis treated with routine clinical therapy: A retrospective comparison of radiographic outcome and its prognostic factors between maintained remissions with patient-reported outcome index and physician-oriented disease activity indices. Katayama K, Okubo T, Sato T et al (Makino Y 9 人中 8 番目)  
Mod Rheumatol. 2016 Nov;26(6):817-827.

⑥ Clinical Manifestations and Myositis-Specific Autoantibodies Associated with Physical Dysfunction after Treatment in Polymyositis and Dermatomyositis: An Observational Study of Physical Dysfunction with Myositis in Japan.

Kawasumi H, Gono T, Kawaguchi Y et al  
Biomed Res Int. 2016;2016:9163201.

⑦ Increased Serine-Arginine (SR) Protein Phosphorylation Changes Pre-mRNA Splicing in Hypoxia.

Jakubauskiene E, Vilys L, Makino Y et al,  
J Biol Chem. 2015 Jul 17;290(29):18079-89.

⑧ Sildenafil attenuates the fibrotic phenotype of skin fibroblasts in patients with systemic sclerosis.

Higuchi T, Kawaguchi Y, Takagi K et al  
Clin Immunol. 2015 Dec;161(2):333-8.

⑨ Genetic Susceptibility to Interstitial Lung Disease Associated with Systemic Sclerosis.

Tochimoto A, Kawaguchi Y, Yamanaka H.  
Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med. 2016 Mar 13;9(Suppl 1):135-40.

[学会発表] (計 5 件)

① 膠原病性肺高血圧症における Hypoxia-inducible factor-3 $\alpha$  遺伝子一塩基多型とエンドセリン 1 遺伝子発現異常

牧野雄一、川口鎮司、水元克俊  
シンポジウム 低酸素バイオロジーの最前線  
第 39 回日本分子生物学年会  
2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日、横浜市

② 膠原病性肺高血圧症患者に見いだされた Hypoxia inducible factor-3 $\alpha$  遺伝子一塩基多型によるエンドセリン遺伝子発現制異常

水元克俊、高取恭平、高取清香 他 (川口鎮司 12 人中 11 番目、牧野雄一 12 人中 12 番目)  
第 60 回日本リウマチ学会総会・学術集会  
2016 年 4 月 21 日-23 日、横浜市

③ Dysregulation of Endothelin-1 production in arterial endothelial cells by Hypoxia-Inducible Factor-3 $\alpha$  carrying Single Nucleotide Polymorphisms Contributes to the Pathogenesis of Pulmonary Arterial Hypertension in Systemic Sclerosis

Mizumoto K, Nagahata K, Takatori K et al (Kawaguchi Y, 12 人中 11 番目、Makino Y, 12 人中 12 番目)

American College of Rheumatology annual meeting  
Nov 6-11, 2015, San Francisco, USA

④ Single nucleotide polymorphisms I hypoxia-inducible factor 3 $\alpha$  gene associated with pulmonary arterial hypertension yield transcriptional upregulation of endothelin-1

Mizumoto K, Yoshimoto R, Eguchi K et al (Kawaguchi Y 11 人中 9 番目、Makino Y 11 人中 11 番目)

Keystone Symposia, Hypoxia: From basic mechanism to therapeutics  
May 12-17, 2015, Dublin, Ireland

⑤ 膠原病患者肺動脈性肺高血圧症における Hypoxia inducible factor-3 $\alpha$  遺伝子一塩基多型と標的遺伝子発現調節異常の関連

水元克俊、牧野雄一、吉本良太 他 (川口鎮

司 13人中12番目)  
第59回日本リウマチ学会総会・学術集会  
2015年4月23日-25日、名古屋市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 雄一 (MAKINO, Yuichi)  
旭川医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：90345033

(2) 研究分担者

川口 鎮司 (KAWAGUCHI, Yasushi)  
東京女子医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：90297549