

酸化ストレスの病理的意義の追究と その病理診断への応用

(研究課題) 14570140

平成14～15年度
文部科学省科学研究費補助金(基盤研究C)
研究成果報告書

平成16年3月

研究代表者 豊國 伸哉
(京都大学大学院医学研究科・助教授)

はじめに

本研究は、文部科学省科学研究費基盤研究（C）として補助を受け、平成 14 年度より 2 年間に渡って行われたものである。本代表者はこれまで下記の科学研究費補助金によりフリーラジカルの生物学的意義に関する研究を推進してきたが、本研究はその上に更に積み上げられたものである。

- 平成 5 年度：奨励研究（A）鉄による DNA 損傷とその癌遺伝子・癌抑制遺伝子への影響（代表・05770149）
- 平成 6 年度：奨励研究（A）鉄ニトリロ三酢酸による ras および p53 遺伝子の突然変異と腎発癌（代表・06770151）
- 平成 7～8 年度：一般研究（C）フリーラジカルによる DNA・蛋白の損傷・修飾が発癌過程で果たす意義（代表・07670241）
- 平成 9～11 年度：基盤研究（C）活性酸素のエフェクター分子の同定とその生物学的意義の追究（代表・09670223）

活性酸素・フリーラジカルの発生に起因する酸化ストレスが種々の病態に関与していることは多くの科学者の認めるところとなった。さらに生活習慣病と酸化ストレスの関係が脚光を浴びているが、その詳細なメカニズムは未だ明かではない。私たちは 1982 年に当講座で確立された鉄キレート剤の投与によるラット腎癌モデルに興味を寄せ続け、前回の報告書において、ついに酸化ストレス発癌において標的となる遺伝子が存在することを証明した。この発見は、これまでの「フリーラジカルは反応性がたいへん高いために、種々の遺伝子領域が同じ確率で傷害を受け、従って種々の癌遺伝子・癌抑制遺伝子に変化がおこるのであろう」という一般的な仮説を覆すことになった。大きな breakthrough であると私たちは認識している。今回の研究においては、このような変化が発癌過程の初期に始まっているということを見出した。現在、ヒト・マウスのゲノムのはほぼ全配列が明かとなり、またラットのゲノムも公開されるようになった。今後の努力により私たちはゲノムのどういう領域が特にフリーラジカルの傷害を受けやすいかを網羅的に明らかにできると信じている。また、本報告書においては、がん以外の病態への酸化ストレス研究の応用、病理形態学的診断への応用に関しても述べる。分担者の羽賀は、今後酸化ストレス研究の応用を計画しているヒト生体肝移植の病理診断に関して先端的研究を行った。本報告書においては、概要を簡潔に述べ、関連した論文の目録を収録し、ついで代表的論文を採録した。最後に、本研究を行うにあたり御協力いただいた共同研究者の方々、活発な議論や研究努力を惜しまなかった大学院生・研究生・研究員、技官、技術補佐員そして秘書の諸氏に深謝いたします。

平成 16 年 3 月 京都岡崎にて 豊國 伸哉

平成 14～15 年度文部科学省科学研究費補助金

研究成果報告書

1. 研究課題番号：基盤研究 (C) 14570140

2. 研究課題：酸化ストレスの病理的意義の追究とその病理診断への応用

3. 研究組織

研究代表者：豊國 伸哉 (京都大学大学院医学研究科・助教授)

研究分担者：羽賀 博典 (京都大学大学院医学研究科・助手)

4. 研究経費

平成 14 年度 2,500 千円

平成 15 年度 1,500 千円

計 3,500 千円

5. 研究成果総括

① 酸化ストレスの形態学的評価

これまでに私たちの開発した 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (clone N45.1) や 4-hydroxy-2-nonenal 修飾蛋白 (clone HNEJ-2) に対するモノクローナル抗体および市販の抗体を駆使して種々の病態に酸化ストレスが関与していることを評価した。これには、ヒトの試料を使用した大腸癌の肝転移病態、心不全の心筋、動物の試料を使用した肝虚血再灌流傷害、肺移植モデル、ビタミン D 欠乏、動脈硬化、糖尿病、運動負荷などが含まれる。これらの成果は機能的な評価として実際の病理診断に活かされることが大いに期待される。更に、上記 2 種類のモノクローナル抗体は世界で標準的に使用されるようになっており、2 つの文献の引用数はそれぞれ 150 件を越えた。

② 鉄誘発腎癌モデルの解析

鉄ニトリロ三酢酸の腹腔内投与を反復することにより、齧歯類で高頻度に腎

臓癌を誘発することができる。このモデルにおいては、Fenton 反応が腎臓特異的に生体内で起こることが判明している。私たちはこれまでの研究により、 $p15^{INK4B}$ ならびに $p16^{INK4A}$ 癌抑制遺伝子がひとつの標的となっていることを明かした。その不活性化メカニズムとして、点突然変異以外にホモ欠損やメチル化を高率に認めた。今回、その初期変化を FISH 法により検討したところ、実験開始後 1~3 週間ですでに $p16$ の片側アレルの欠損している細胞が有意に増加していることが明かとなった。この事実は、FISH 解析が種々の前がん病変の客観的な評価に使用できることを示唆する。私たちはこの成果を合成可能な PNA(peptide nucleic acid)プローブを使用してヒトのパラフィン包埋病理標本へ応用を試みているが、現在のところ満足いく結果は得られていない。ファージクローンからのプローブの作製が必須かもしれない。その過程において、PNA プローブで 50 年前に包埋されたパラフィン標本で mRNA を検出できることが明かとなった。一方、ラットの系においてはこの FISH 解析の方法がひとつの抗酸化剤の評価法として利用できることが明かとなった。

③ 抗酸化剤としての有色植物

熱帯・亜熱帯に生息する植物には鮮やかな色をしたものが多いが、それは強い紫外線から核酸や蛋白を守るためであると考えられる。国内海外共同研究で、日本に古来から存在する有色米(赤米、黒米)やモーリシャス特有の植物の抗酸化能の解析を行った。前者では、動物実験で米食の割合を高くした飼料を使用した際に白色米との差が現れた。後者においては培養細胞を使用したプロモーター解析において、フェノールやフラボノイド含量が Cu,Zn-SOD のプロモーター活性と比例し、catalase のプロモーター活性とは反比例することが観察された。

④ 迅速なウェスタンブロット法の開発

微量マイクロウェーブ照射装置を使用した方法で、ブロッキング後 1 時間以内に結果のでるウェスタンブロット法を開発した。応用範囲が広いため、普及することが予想される。

⑤ ヒト生体肝移植の診断基準の検討

このプロジェクトは羽賀が中心となり、酸化ストレスの形態学的評価を目指して行われた。血液型の ABO 不適合肝移植における診断基準を詳細に検討した。PNA プローブを使用して C 型肝炎ウイルスの検出を試みたが現在のところ、満足いく結果は得られていない。

⑥ Acrolein-derived 2'-deoxyadenosine adduct に対するモノクローナル抗体の開発

共同研究者である名古屋大学生命農学研究科 内田浩二博士の開発した上記モノクローナル抗体を、鉄ニトリロ三酢酸の抗体に応用した。アクロレインは過酸化脂質のひとつであるが、DNAと付加体を形成する。DNAの酸化傷害の新規マーカーとして注目される。

6. 研究成果

(1) 論文発表 (○は収録したもの)

○1. Robbins ME, Zhao W, Davis CS, **Toyokuni S**, and Bonsib SM. Radiation-induced kidney injury: a role for chronic oxidative stress? *Micron* 33:133-41, 2002.

○2. Hiroyasu M, Ozeki M, Kohda H, Echizenya M, Tanaka T, Hiai H, and **Toyokuni S**. Specific allelic loss of *p16^{INK4A}* tumor suppressor gene after weeks of iron-mediated oxidative damage during rat renal carcinogenesis. *Am J Pathol* 160: 419-424, 2002 (Commentary by Oberley TD in *Am J Pathol* 160: 403-408, 2002).

○3. Kondo S, **Toyokuni S**, Tsuruyama T, Ozeki M, Tachibana T, Echizenya M, Hiai H, Onodera H, and Imamura M. Peroxynitrite-mediated stress is associated with proliferation of human metastatic colorectal carcinoma in the liver. *Cancer Lett* 179: 87-93, 2002.

○4. **Toyokuni S**, Itani T, Morimitsu Y, Okada K, Ozeki M, Kondo S, Uchida K, Osawa T, Hiai H, and Tashiro T. Protective effect of colored rice over white rice on Fenton reaction-based renal lipid peroxidation in rats. *Free Radic Res* 36: 583-592, 2002.

○5. Shimoi K, Kasai H, Yokota N, **Toyokuni S**, and Kinae N. Comparison between HPLC analysis and a commercially available ELISA assay for the determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in human urine. *Cancer Epidem Biomar* 11: 767-770, 2002.

○6. Kanatsu-Shinohara M, Ogura A, Ikegawa M, Inoue K, Ogonuki N, Tashiro K, **Toyokuni S**, Honjo T, and Shinohara T. Adenovirus-mediated gene delivery and in vitro microinsemination produce offspring from infertile male mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:1383-1388, 2002.

- 7. Hiroyasu M, Ozeki M, Miyagawa-Hayashino A, Fujiwara Y, Hiai H, and **Toyokuni S**. Novel surrogate endpoint biomarker to evaluate agents for use in the chemoprevention of reactive oxygen species-associated cancer. *Red Rep* 7: 335-338, 2002.
- 8. Jikimoto T, Nishikubo Y, Koshiba M, Kanagawa S, Morinobu S, Morinobu A, Saura R, Mizuno K, Kondo S, **Toyokuni S**, Nakamura H, Yodoi J, and Kumagai S. Thioredoxin as a biomarker for oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Mol Immunol.* 38:765-772, 2002.
- 9. Miwa S, **Toyokuni S**, Nishina T, Nomoto T, Nishimura K, and Komeda M. Spatiotemporal alteration of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in cardiomyocytes after myocardial infarction in rats. *Free Radic Res* 36: 853-858, 2002.
- 10. Ozeki M, Hoshino S, Hiai H, and **Toyokuni S**. Isolation and characterization of annexin 2 pseudogene in *rattus norvegicus*. *Gene* 289: 185-190, 2002.
- 11. Nakamura K, Kusano K, Nakamura Y, Kakishita M, Ohta K, Nagase S, Yamamoto M, Miyaji K, Saito H, Morita H, Emori T, Matsubara H, **Toyokuni S**, and Ohe T. Carvedilol Decreases Elevated Oxidative Stress in Human Failing Myocardium. *Circulation* 105:2867-2871, 2002.
- 12. Yoshida N, Murase H, Kunieda T, **Toyokuni S**, Tanaka T, Terao J, Naito Y, Tanigawa T, and Yoshikawa T. Inhibitory effect of a novel water-soluble vitamin E derivative on atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 162:111-7, 2002.
- 13. Ban N, Yamada Y, Someya Y, Miyawaki K, Ihara Y, Hosokawa M, **Toyokuni S**, Tsuda K, and Seino Y. Hepatocyte Nuclear Factor-1alpha Recruits the Transcriptional Co-Activator p300 on the GLUT2 Gene Promoter. *Diabetes* 51:1409-1418, 2002.
14. **Toyokuni S**. Iron and carcinogenesis: From Fenton reaction to target genes. *Red Report* 7:189-197, 2002.
- 15. Miyawaki K, Yamada Y, Ban N, Ihara Y, Tsukiyama K, Zhou H, Fujimoto S, Oku A, Tsuda K, **Toyokuni S**, Hiai H, Mizunoya W, Fushiki T, Holst JJ, Makino M, Tashita A, Kobara Y, Tsubamoto Y, Jinnouchi T, Jomori T, and Seino Y. Inhibition of GIP signal prevents obesity. *Nat Med* 8: 738-742, 2002.

- 16. Ueno Y, Horio F, Uchida K, Naito M, Nomura H, Kato Y, Tsuda T, **Toyokuni S**, Osawa T. Increase in oxidative stress in kidneys of diabetic Akita mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 66:869-72, 2002.
- 17. Sakamaki K, Inoue T, Asano M, Sudo K, Kazama H, Sakagami J, Sakata S, Ozaki M, Nakamura S, **Toyokuni S**, Osumi N, Iwakura Y, and Yonehara S. Ex vivo whole-embryo culture of caspase-8-deficient embryos normalize their aberrant phenotypes in the developing neural tube and heart. *Cell Death Differ* 9: 1196-1206, 2002.
- 18. Kallay E, Bareis P, Bajna E, Kriwanek S, Bonner E, **Toyokuni S**, and Cross HS. Vitamin D receptor activity and prevention of colonic hyperproliferation and oxidative stress. *Food Chem Toxicol* 40:1191-1196, 2002
- 19. Yamagami K, Yamamoto Y, Toyokuni S, Yamaoka Y. Heat shock preconditioning reduces the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and 4-hydroxy-2-nonenal modified proteins in ischemia-reperfused liver of rats. *Free Radic Res* 36: 169-176, 2002.
20. Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Ogura A, **Toyokuni S**, Honjo T, and Shinohara T. Allogeneic offspring produced by male germ line stem cell transplantation into infertile mouse testis. *Biol Reprod* 68: 167-173, 2003.
21. Shinohara T, Inoue K, Ogonuki N, Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Nakata K, Kurome M, Nagashima H, **Toyokuni S**, Kogishi K, Honjo T, and Ogura A. Birth of offspring following transplantation of cryopreserved immature testicular piece and in vitro microinsemination. *Hum Reprod* 17: 3039-3045, 2002.
- 22. Minamiyama Y, Takemura S, **Toyokuni S**, Nishino Y, Yamasaki K, Hiai S, Yamamoto S, and Okada S. Amelioration of cisplatin toxicity by a fermented grain food product. *Biofactors* 16: 105-115, 2002.
- 23. Omasa M, Fukuse T, **Toyokuni S**, Mizutani Y, Yoshida H, Ikeyama K, Hasagawa S, and Wada H. Glycine ameliorates lung reperfusion injury after cold preservation in an ex vivo rat lung model. *Transplantation* 75:591-598, 2003.
- 24. **Toyokuni S**, Kawaguchi W, Akatsuka S, Hiroysu M, and Hiai H. Intermittent

microwave irradiation facilitates antigen-antibody reaction in Western blot analysis. *Pathology Int* 53:259-261, 2003.

○25. Hashimoto M, Shibata T, Wasada H, **Toyokuni S**, and Uchida K. Structural basis of protein-bound endogenous aldehydes: Chemical and immunochemical characterizations of configurational isomers of a 4-hydroxy-2-nonenal-histidine adduct. *J Biol Chem* 278: 5044-5051, 2003.

○26. Sakata S, Sakamaki K, Watanabe K, Nakamura N, **Toyokuni S**, Nishimune Y, Mori C, and Yonehara S. Involvement of death receptor Fas in germ cell degeneration in gonads of Kit-deficient W(v)/W(v) mutant mice. *Cell Death Differ* 10: 676-686, 2003.

○27. Narushima S, Spitz DR, Oberley LW, **Toyokuni S**, Miyata T, Gunnett CA, Buettner GR, Zhang J, Ismail H, Lynch RG, and Berg D. Evidence for oxidative stress in NSAID-induced colitis in IL10 mice. *Free Radic Biol Med* 34: 1153-1166, 2003.

28. Kuroda K, Han H, Tani S, Tanigaki K, Tun T, Furukawa T, Taniguchi Y, Kurooka H, Hamada Y, **Toyokuni S**, and Honjo T. Increased marginal zone B cells in deficiency of MINT, a negative regulator of Notch/RBP-J signaling. *Immunity* 18: 301-312 2003.

29. Kanatsu-Shinohara M, **Toyokuni S**, Morimoto T, Matsui S, Honjo T, and Shinohara T. Functional assessment of self-renewal activity of male germline stem cells following cytotoxic damage and serial transplantation. *Biol Reprod* 68: 1801-1807, 2003.

○30. Ishikawa T, Yoshida N, Tokuda H, Ichiishi E, Kuchide M, Kokura S, Naito Y, **Toyokuni S**, Nishino H, and Yoshikawa T. Tumor initiating activity of Helicobacter pylori water extract on mouse skin carcinogenesis. *Cancer Lett.* 191:41-47, 2003.

○31. Aoi W, Naito Y, Sakuma K, Kuchide M, Tokuda H, Maoka T, **Toyokuni S**, Oka S, Yasuhara M, and Yoshikawa T. Astaxanthin limits exercise-induced skeletal and cardiac muscle damage in mice. *Antioxid Redox Signal.* 5: 139-144, 2003.

32. Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Ogura A, **Toyokuni S**, and Shinohara T. Long-Term Proliferation in Culture and Germline Transmission of Mouse Male Germline Stem Cells. *Biol Reprod* 69: 612-616, 2003

- 33. **Toyokuni S**, Tanaka T, Kawaguchi W, Fang NRL, Ozeki M, Akatsuka S, Hiai H, Aruoma OI, and Bahorun T. Effects of phenolic contents of Mauritian endemic plant extracts on promoter activities of antioxidant enzymes. *Free Radic Res* 37: 1215-1224, 2003.
- 34. **Toyokuni S**. Guest editorial: Novel aspects in free radical chemistry and biology. *Arch Biochem Biophys* 417: 2, 2003.
35. Kanatsu-Shiohara M, **Toyokuni S**, and Shinohara S. CD9 is a surface marker on mouse and rat male germline stem cells. *Biol Reprod* 70: 70-75, 2004.
- 36. Kawai Y, Furuhashi A, **Toyokuni S**, Aratani Y, and Uchida K. Formation of acrolein-derived 2'-deoxyadenosine adduct in an iron-induced carcinogenesis model. *J Biol Chem* 278: 50346-50354, 2003.
37. Okada M, Adachi S, Imai T, Watanabe K, **Toyokuni S**, Ueno M, Zervos AS, Kroemer G,, and Nakhata T. A novel mechanism for imatinib mesylate-induced cell death of BCL-ABL positive human leukemic cells – caspase-independent necrosis-like programmed death mediated by serine protease activity. *Blood* (in press).
- 38. Hiroyasu M, Akatsuka S, Shirase T, Toda Y, Hiai H, and **Toyokuni S**. Detection of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase messenger RNA using peptide nucleic acid probe in paraffin-embedded archival specimens. *Pathol Int* (in press).
39. Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Ogura A, **Toyokuni S**, Shinohara T. Restoration of fertility in infertile mice by transplantation of cryopreserved male germline stem cells. *Hum Reprod* 18: 2660-2667, 2003.
40. Okumura H, Nagaya N, Itoh T, Okano I, Hino J, Mori K, Tsukamoto Y, Ishibashi-Ueda H, Miwa S, Tambara K, **Toyokuni S**, Yutani C, Kangawa K. Adrenomedullin Infusion Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury Through the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt-Dependent Pathway. *Circulation* (in press).
41. **Toyokuni S**. Forum editorial: Redox Control of Carcinogenesis and Tumor Biology. *Antioxid Redox Signal* (in press).
42. Nishigori C, Hattori Y, and **Toyokuni S**. Role of reactive oxygen species in skin

carcinogenesis. *Antioxid Redox Signal* (in press).

○43. Tanaka T, Akatsuka S, Ozeki M, Shirase T, Hiai H, and **Toyokuni S**. Redox regulation of annexin 2 and its implications for oxidative stress-induced renal carcinogenesis and metastasis. *Oncogene* (in press).

44. Imaoka S, Osada M, Minamiyama Y, Yukimura T, **Toyokuni S**, Takemura S, Hiroi T, Funae Y. Role of phenobarbital-inducible cytochrome P450s as a source of active oxygen species in DNA-oxidation. *Cancer Lett* 203: 117-125, 2004.

45. **Toyokuni S**, Ozeki M, Tanaka T and Hiai H. Chapter 58: Iron regulation, hemochromatosis and cancer. In *Critical Reviews of Oxidative Stress and Aging: Advances in Basic Science, Diagnosis and Intervention* (Cutler RG and Rodriguez H, eds.), 2002, pp. 1011-1025, World Scientific Publishing Co., London.

○46. **Toyokuni S**. Chapter 13. Oxyradicals in iron overload syndromes: Hemochromatosis. In *Redox genome interactions* (Fuchs J, Podda M, Packer L, ed.), 2003, pp. 287-304, Marcel Dekker, New York.

○47. **Haga H**, Egawa H, Shirase T, Miyagawa A, Sakurai T, Minamiguchi S, Yamabe H, Manabe T, Tanaka K. Periportal edema and necrosis as diagnostic histological features of early humoral rejection in ABO-incompatible liver transplantation. *Liver Transpl* 10:16-27, 2004.

○48. Miyagawa-Hayashino A, **Haga H**, Sakurai T, Shirase T, Manabe T, Egawa H. De novo autoimmune hepatitis affecting allograft but not the native liver in auxiliary partial orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 76: 271-272, 2003.

49. Ogura Y, Kaihara S, **Haga H**, Kozaki K, Ueda M, Oike F, Fujimoto Y, Ogawa K, Tanaka K. Outcomes for pediatric liver retransplantation from living donors. *Transplantation* 76: 943-948, 2003.

50. 廣安 誠, 尾関宗孝, 幸田晴康, 田中智之, 日合 弘, 豊國伸哉 鉄を介した酸化的組織傷害過程における $p16^{INK4A}$ がん抑制遺伝子の特異的欠損 磁気共鳴と医学 13: 132-134 2002

○51. 中村一文、垣下幹夫、草野研吾、三浦 綾、久松研一、永瀬 聡、森田 宏、齊藤博

則、江森哲郎、浅沼幹人、小川紀雄、宮崎正博、中村陽一、松原広己、伏見和郎、豊國伸哉、大江 透 β 遮断薬による心不全・不整脈治療の基礎と臨床 (カルベジロールを中心として) : β 遮断薬と酸化ストレス 日本心電学会誌 心電図 24: 15-21, 2004

52. 羽賀博典, 白瀬智之, 南口早智子, 宮川文, 木内哲也, 藤本康弘, 鍋島紀滋, 真鍋俊明, 田中 紘一. 慢性 C 型肝炎患者における生体肝移植後の肝炎再発の組織学特徴(会議録). 移植(0578-7947)37 卷 6 号 Page314(2002.12)

53. 羽賀博典 ABO 血液型不適合肝移植の病理 - 液性拒絶反応の病理組織を考える - (会議録). ABO 血液型不適合移植の新戦略 -2003- ABO 血液型不適合移植研究会 Page28-36(2003.03)

54. 香月奈穂美, 羽賀博典, 真鍋俊明. 生体肝移植における移植後リンパ増殖性疾患(PTLD)における臨床病理学的検討(会議録). 日本病理学会会誌(0300-9181)92 卷 1 号 Page242(2003.04)

55. 宮川文, 鶴山竜昭, 羽賀博典, 桜井孝規, 白瀬智之, 真鍋俊明. 移植肝の慢性拒絶反応における血管閉塞性病変はレシピエント由来の細胞による(会議録). 日本病理学会会誌(0300-9181)92 卷 1 号 Page338(2003.04)

(2) 学会発表

1. Toyokuni S. Target genes in free radical-induced carcinogenesis: a new concept. 1st Asian Conference on Photobiology (June 26-28, 2002, Awaji, Japan; invited speaker).

2. Toyokuni S, Hiroyasu M, Ozeki M, and Hiai H. Target genes in Fenton reaction-induced carcinogenesis: a novel concept. XIth Meeting of the Society for Free Radical Research International (July 16-20, 2002, Paris, France).

3. Toyokuni S, Tanaka T, Akatsuka S, Hiroyasu M, and Hiai H. Redox regulation of annexin 2 and its implications for ferric nitrilotriacetate-induced renal carcinogenesis and metastasis. Redox Kyoto 2002, International symposium for redox signaling and stress diseases (Nov 6-8, 2002, Kyoto, Japan).

4. Kwon Y-W, Kondo N, Ichijo H, Toyokuni S, Yodoi J, and Masutani H. ASK1 and thioredoxin regulate p53-dependent apoptosis induced by 3-methylcholanthrene. Redox Kyoto 2002,

International symposium for redox signaling and stress diseases (Nov 6-8, 2002, Kyoto, Japan).

5. Aruoma OI, Deiana M, Dessì MA, Toyokuni S and Bahorun T. Free radical scavenging, enzyme induction and chemoprevention. 8th International Conference on Mechanisms of Antimutagens and Anticarcinogens (October 4-8, 2003, Pisa, Italy)

6. Toyokuni S. Target genes in free radical-induced carcinogenesis. The International Meeting of the Society for Free Radical Research (SFRR)-Asia: Free Radicals in Health and Disease. (November 5-8, 2003, Seoul, Korea, invited speaker)

7. Toyokuni S, Akatsuka S, Shirase T, and Hiai H. Target genes in free radical-induced carcinogenesis. International Joint Meeting on Food Factors and Free Radicals in Health and Diseases. (December 4-7, 2003, Kyoto, Japan, invited speaker)

8. 豊國伸哉 教育講演：酸化ストレスの病理学 第91回日本病理学会総会（平成14年3月26-28日、横浜）

9. 廣安 誠、尾関宗孝、日合 弘、豊國伸哉 p16(INK4A)がん抑制遺伝子のアレル欠失を指標とした抗酸化剤評価系の確立 第91回日本病理学会総会（平成14年3月26-28日、横浜）

10. 豊國伸哉、廣安 誠、尾関宗孝、日合 弘 酸化ストレス発がんの標的遺伝子とそのがん化学予防剤評価への応用 第24回日本フリーラジカル学会（平成14年5月18-19日、大阪）

11. 竹村茂一、南山幸子、佐藤英介、西野佳浩、田中肖吾、豊國伸哉、亀川美佳、吉田和世、岡田 茂、井上正康、木下博明 敗血症病態におけるチトクローム p450 3A2 の活性酸素産生と肝障害 第24回日本フリーラジカル学会（平成14年5月18-19日、大阪）

12. 豊國伸哉、廣安 誠、南山幸子、森光康次郎、内田浩二、猪谷富雄、大澤俊彦、田代 亨、日合 弘 AOBおよび有色米の抗酸化機能について 第2回AOB研究会（平成14年6月21日、京都）

13. 豊國伸哉 ラジカルによるがん抑制遺伝子の損傷 シンポジウム1「フリーラジカルによるDNA損傷」第9回日本がん予防研究会（平成14年7月15-16日、熊本、招待演者）

14. 豊國伸哉、廣安 誠、赤塚慎也、日合 弘 フェントン反応による発がんメカニズムの解析 第17回発癌病理研究会 (平成14年8月26-28日、大津)
15. 豊國伸哉、猪谷富雄、森光康次郎、内田浩二、大澤俊彦、日合 弘、田代 亨 有色米は白色米よりフェントン反応によるラット腎脂質過酸化を抑制する 第61回日本癌学会総会 (平成14年10月1-3日、東京)
16. 権 容源、近藤則彦、一條秀憲、豊國伸哉、淀井淳司、増谷 弘 ASK1 and thioredoxin regulate p53-dependent apoptosis induced by 3-methyl-cholanthrene 第61回日本癌学会総会 (平成14年10月1-3日、東京)
17. 豊國伸哉、廣安 誠、赤塚慎也、日合 弘 Target genes in Fenton reaction-induced carcinogenesis: a novel concept 第25回日本分子生物学会年会 (平成14年12月11日~14日、横浜)
18. 坂田真一、酒巻和弘、渡辺幸造、中村典子、豊國伸哉、西宗義武、森 千里、米原 伸 Kit 欠損 Wv/Wv 変異マウスの生殖細胞消失における Fas の関与 第25回日本分子生物学会年会 (平成14年12月11日~14日、横浜)
19. 豊國伸哉 活性酸素による発がんの標的遺伝子の解析 文部科学省特定領域研究「発がん」と防御」蓼科「個体レベル」若手ワークショップ (平成15年1月27日~29日、蓼科)
20. 横尾英明、田中 学、新井桃子、神谷 誠、松田葉月、中里陽一、豊國伸哉 シュワン細胞に出現する好酸性硝子滴の性状と意義 第92回日本病理学会総会 (平成15年4月23日~25日、福岡)
21. 廣安 誠、赤塚慎也、北川幸一郎、日合 弘、豊國伸哉 古いパラフィン標本を使用した PNA-In situ hybridization 法による mRNA 保存度の検討 第92回日本病理学会総会 (平成15年4月23日~25日、福岡)
22. 豊國伸哉、廣安 誠、赤塚慎也、日合 弘 酸化ストレス発がんにおいてアネキシン2の果たす意義 第92回日本病理学会総会 (平成15年4月23日~25日、福岡)
23. 赤塚慎也、廣安 誠、南山幸子、森光康次郎、内田浩二、猪谷富雄、大澤俊彦、田代 亨、日合 弘、豊國 伸哉 発がんモデルにおける AOB および有色米の抗酸化機能について 第3回 AOB 研究会 (平成15年6月6日、名古屋)

24. 豊國伸哉、廣安 誠、赤塚慎也、白瀬智之、日合 弘 酸化ストレス発がんモデルにおいてアネキシン2の果たす意義 第25回日本フリーラジカル学会(平成15年6月27日~28日、八王子)
25. 豊國伸哉、廣安 誠、赤塚慎也、白瀬智之、川口和香、日合 弘 ラット鉄誘発腎発がんモデルにおける標的遺伝子:アネキシン2の果たす意義 第27回日本鉄バイオサイエンス学会(平成15年9月13日~14日、浜松)
26. 豊國伸哉、西中由美子、増谷 弘、赤塚慎也、西澤波子、淀井淳司、日合 弘 Thioredoxin Binding Protein-2/Vitamin D3 Upregulated Protein-1の酸化ストレス発がんにおける意義 第62回日本癌学会総会(平成15年9月25日~27日、名古屋)
27. 矢島伸之、山田秀一、森崎隆幸、豊國伸哉、米原 伸、酒巻和弘 心筋細胞におけるp35の発現はCaspase 8欠損による心臓障害を緩和する 第26回日本分子生物学会年会(平成15年12月10日13日、神戸)
28. 豊國伸哉、赤塚慎也、白瀬智之、日合 弘 酸化ストレス発がんにおいてAnnexin2の果たす役割 第26回日本分子生物学会年会(平成15年12月10日13日、神戸)
29. 豊國伸哉 フリーラジカルによる発癌の標的遺伝子 第3回分子予防環境医学研究会(平成15年12月19~20日、東京)
30. 市場弘恵、亀谷小枝、菊崎泰枝、川口和香、豊國伸哉、中谷延二 ヒハツモドキに含まれる成分の解明 第18回 日本香辛料研究会(平成15年11月14~15日、大阪)
31. Haga H, Sakurai T, Miyagawa A, Shirase T, Yamabe H, Manabe T. Periportal edema and necrosis as diagnostic histological features of early humoral rejection in ABO-incompatible liver transplantation. The 92nd Annual Meeting of the United States and Canadian Academy of Pathology, Washington D.C., USA, March 26, 2003.
32. Haga H, Ogura Y, Kiuchi T, Tanaka K. Histologic Analysis of Failed Allografts in Living-Donor Liver Transplantation. the XIX International Congress of The Transplantation Society, Miami, USA, August 25, 2002.
33. Haga H. Vasculopathy in organ transplantation. Liver. The 3rd Korea-Japan

Transplantation Forum, Seoul, Korea, September 28, 2002.

34. Miyagawa A, Haga H, Egawa H, Shirase T, Sakurai T, Minamiguchi S, Tanaka K, Yamabe H, Manabe T. Histological progression of de novo autoimmune hepatitis in living donor liver transplantation. The 92nd Annual Meeting of the United States and Canadian Academy of Pathology, Washington D.C., USA, 2003.

35. Haga H. Histological analysis of failed allografts due to chronic rejection with or without obliterative arteriopathy. The 4th Japan-Korea Transplantation Forum, Osaka, Japan, October 28, 2003.