

課題番号 : 23指111

研究課題名 : 環境因子による膵島細胞の機能変化における、長鎖noncoding RNAの意義の網羅的検討

主任研究者名 : 南茂 隆生

分担研究者名 : 南茂 隆生

キーワード : 環境因子、糖尿病、noncoding RNA、転写調節、インスリン分泌

研究成果 :

【背景】2型糖尿病の発症には環境因子の関与が重要であるが、そのメカニズムには不明な点が多い。エピジェネティクスとは塩基配列の変化を伴わない染色体の変化による遺伝子発現調節機序であり、環境因子によって動的に変化することから、2型糖尿病病態の背景としても注目されつつある。

【目的】ゲノムからは多様な noncoding RNA (ncRNA) が転写されている。特に長鎖 noncoding RNA (lncRNA) はクロマチン状態の制御に関与しており、このエピジェネティクス機序によって糖尿病の病態に関与する可能性がある。ところで、次世代シーケンサーが数年前に出現したことによって、既知ゲノムアノテーションに制約されることのないゲノム網羅的な転写産物同定と発現レベル定量に突破口が開かれることになった。本研究は、マウス膵島において環境負荷に起因し、遺伝子発現変化を起こす lncRNA を含む転写産物を網羅的に明らかにし、2型糖尿病発症機序に対する新しい知見を得ることによって、治療標的の同定に役立てることを目的とする。

【方法】本研究は以下の事項を中心として行った。

- (1) マウスモデル表現型の評価: 「高脂肪食 (60kcal% Fat) 負荷 C57B1/6J」 および 「KK マウス」
- (2) クロマチンに結合している RNA (Genome Res. 20:899-907, 2010) の精製
- (3) 次世代シーケンサーを用いた RNA シーケンシング (RNA-Seq)
- (4) RNA-Seq ショートリードデータの解析

【研究成果】

(1) 肥満は2型糖尿病の環境因子の一つとして重要である。雄性 C57B1/6J マウスに10週齢より高脂肪食 (HFD) を摂取させて、肥満マウスモデルを作製した。なお、年齢および性をマッチさせた通常食摂取群を対照とした。HFD マウスは経過とともに肥満が促進されるが、随時血糖の上昇は対照と比較して軽度にとどまった。HFD 開始4週間後に腹腔内ブドウ糖負荷試験 (1g/kg, IPGTT) を行ったところ、HFD マウスは耐糖能異常を示していたが、早期インスリン分泌反応は対照と比較して亢進していた。HFD 開始18週間後においては、HFD マウスの体重増加は大きく、IPGTT の結果、早期のインスリン分泌反応の亢進は認められず、耐糖能もより増悪していた。すなわち、長期間の HFD によってグルコース刺激に対する膵島からのインスリン分泌低下と耐糖能異常低下が認められるものの、随時血糖の上昇は回避されるといった表現型は既報と一致しており、代償モデルとみなしてよいものと考えられた。

KK マウスは遺伝的に均一な近交系2型糖尿病モデルであるが、発症は食事内容や飼育環境の影響を大きく受けることが報告されている (Diabetes Res Clin Pract. 1994)。9週齢で購入した雄性マウスを無作為に2群 (ケージ内、単独飼育群と群飼育群) に分けて飼育を行ったところ、前者は後者と比較して運動量が少ないためか体重増加がより大きかった。11週齢では両者の随時血糖に有意差は認められなかったが、IPGTT を行うと単独飼育群は群飼育群と比較して耐糖能の低下が認められた。興味深いことに、以降の週齢では単独飼育群の随時血糖が上昇を始め、16週齢では単独飼育群で随時血糖は250mg/dl を超えるようになった。すなわち、単独飼育群では11週齢から16週齢の間に代償機序の破綻が起こっていることから、糖尿病の発症が環境因子の違いによってのみ規定されるモデルを実現できたと考えられた。

(2) 近年、lncRNA の細胞内局在や機能性は多様であることが明らかとなってきたが、中でもエピジェネティクス制御に関する lncRNA はクロマチンに結合しているとされる。クロマチンを精製して、RNA 抽出を行うことができれば、目的とする lncRNA 同定の近道となる可能性がある。予備検討として、ラット膵β細胞株の INS-1 細胞を用い、既報 (Genome Res. 20:899-907, 2010) の方法に従って chromatin-associated RNAs (CARs) の抽出を試みた。約  $1 \times 10^7$  個の細胞から開始し、得られた CAR からは Actb、Tbp、Insulin1 といった free RNA は検出されなかったが、CAR として知られる Rn7sk snRNA

および U1 snRNA が高レベルに検出された。プロトコールに問題なしと考え、以後は 2,000~5,000 個のマウス臍島を集めて CAR の抽出を試みたが、最終的には Rn7sk snRNA や U1 snRNA を安定して検出することはできなかった。微量ではあっても外分泌組織に由来する RNase の混入が避けられず、RNA 分解が起こってしまったものと判断し、それ以上の実験の継続は不適切と考えざるを得なかった。

(3) トータル RNA を開始サンプルとする RNA-Seq は lncRNA の同定にも有用である。冒頭に述べたマウスモデルからトータル RNA を抽出して、次世代シーケンサーを用いた RNA-Seq を行った。ショートリード解析のライブラリー作製法は日進月歩であるが、本研究で主に用いた方法は、トータル RNA からリボソーム RNA の除去を行った RiboZero RNA に対する、dUTP 法と呼ばれるものである。解析にはイルミナ社 HiSeq 2000 を使い、両端 101bp のペアエンド法にてストランド特異的な RNA-Seq を行った。

(4) RNA-Seq ショートリードデータの解析：

#### ① アラインメント、スプライスジャンクションの同定、転写産物の再構築

ショートリードデータのレファレンスゲノム (NCBI Build 37, mm9) に対するアラインメントには TopHat (Bioinformatics 25: 1105-1111, 2009) を用いた。生成データには、レファレンスゲノムとは独立に同定されたスプライスジャンクションの情報も含まれており、さらに Cufflinks (Nat Biotechnol. 28:511-515, 2010) を用いたデータ処理によって、個々の転写産物の再構築が行われる。また、Cufflinks は、遺伝子発現レベルの定量結果を FPKM (Fragments per kilobase of exon per million mapped sequence reads) 正規化により算出する。

#### ② 発現変動遺伝子 (実験群 vs 対照群) の同定

マウス実験群 (HFD マウスあるいは KK マウス単独飼育群) と対照群 (通常食 C57B1/6J あるいは KK マウス群飼育群) から得られたデータを用い、二群間発現変動の検討を行った。ショートリード解析のみを用いたスプライシングアイソフォームの詳細な同定は未だ困難であるとされており、遺伝子レベルにおける発現変動を検討した。遺伝子ごとに、マッピングされたショートリードのペア (フラグメント) の本数を算出後、R のパッケージである TCC (BMC Bioinformatics. 14:219, 2013) を用いた解析 (iDEGES/edgeR 正規化および edgeR による発現変動遺伝子検出) を行った。個々の遺伝子は発現変動の有意性から順位付けされ、FDR<0.05 を閾値とした場合は、約 2,000~7,000 遺伝子が発現変動遺伝子 (DEGs, differentially expressed genes) として同定された。

#### ③ 共発現遺伝子群同定の試み

様々な環境条件下に飼育されたマウス由来の組織 (例えば臍島) において、類似した挙動を示し共通の発現調節を受けている可能性のある遺伝子群の同定を試みた。この目的のために、上述した以外にも耐糖能異常・肥満・加齢モデルマウス (db/db マウス、KK-A<sup>y</sup> マウス、長期 HFD 負荷 C57B1/6J マウス、HFD 負荷 KK マウス) を準備して臍島を単離し、同様の手順で RNA-Seq 解析を行った。最終的に 23 のマウス臍島 RNA-Seq データセットを得たが、R パッケージ TCC を用いた解析によって、実験群・対照群間の DEG は合計約 13,000 種類となった (これは、レファレンスである RefSeq 全遺伝子の約 54% にあたり、マウス臍島で FPKM>0.5 を満たす遺伝子の約 73% にあたる。)

CummeRbund ([http://compbio.mit.edu/cummeRbund/manual\\_2\\_0.html](http://compbio.mit.edu/cummeRbund/manual_2_0.html)) は、Cufflinks の生成ファイルから出発して、さらに一段階進んだ解析を行うことができる R パッケージである。代謝・加齢変化に応じて発現変動した約 13,000 種類の遺伝子について、23 サンプル分の臍島 RNA-Seq データから CummeRbund によって遺伝子間クラスタリング (K-means 法) を行ったところ、67 種類のモジュールに分類された。それぞれのモジュールを構成する遺伝子の機能性について、DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, Nat Protoc. 4:44-57, 2009) を用いて検討したところ、様々な特異的機能にエンリッチされていることが判明した。すなわち、行ったクラスタリングには生物学的な意義があったと考えられ、以下具体的な検討を行うこととした。

#### ④ HFD 摂取 C57B1/6J に関する検討

まず、10 週齢から HFD を 4 週間負荷した C57B1/6J マウス臍島において、対照サンプルと比較して発現上昇していた遺伝子に着目した。臍β細胞機能に重要である『ER ストレス』関連遺伝子のエンリッチメントが非常に高かったあるモジュール (モジュール#1 と命名) を構成する遺伝子は計 575 種類であったが、その 46% にあたる 266 遺伝子が発現増加遺伝子であった。この割合は全 67 種類のモジュール

ルの中で最大であり、肥満マウス腓島における ER ストレスの重要性に矛盾しない所見であると考えられた。

次に 18 週間の HFD 負荷を行った C57Bl/6J マウスについて検討したところ、4 週間の HFD 負荷後のサンプルとは異なった様相を呈していることが判明した。『細胞周期』関連遺伝子を代表とする別のモジュール(モジュール#2 と命名)において、構成する全 60 遺伝子のうち 62%が発現増加遺伝子であり、全モジュール中最大の割合を示した。面白いことに、モジュール#2 については、HFD4 週負荷サンプルにおける発現増加遺伝子の割合は 8.3%とかなり少ないものであった。なお、18 週間の HFD 負荷サンプルでは、モジュール#1 に占める発現増加遺伝子の割合は 48%であり、HFD を 4 週間負荷したものとほぼ同じ割合であった。

以上から、18 週間の HFD 負荷後には細胞周期関連遺伝子の重要性が飛躍的に高まったことを示す可能性があり、またこの病期では体重の増加速度がより大きいという表現型とも関連していた。このモデルでは、随時血糖値の上昇はほとんど認められず、代償期という点では経過を通じて類似していたが、遺伝子発現パターンは異なっており、分子メカニズムにも相違があると考えられた。

#### ⑤ KK マウスに関する検討

KK マウスの単独飼育群は、代償機序が経過中に破綻すると考えられるモデルである。ところで、これらマウスは 11 週齢から 16 週齢にかけて随時血糖の個体差が大きい。16 週齢において、血糖値の平均値が 188mg/dl (M 群、2 匹)・327mg/dl (H 群、2 匹) の単独飼育マウスサンプルを、群飼育した対照サンプル(平均血糖値 105mg/dl、2 匹)と比較した。

M 群の KK マウスでは全 67 モジュールのうち、半数近い 32 のモジュールで発現増加遺伝子数が 11 週齢よりも増加していた。しかし、H 群では、これら 32 モジュールのうち、12 モジュールにおいて、発現増加遺伝子数が M 群よりも少なかった。これらのモジュールには、『細胞周期』『ER ストレス』『転写調節』などに関連したモジュールが含まれていたことから、随時血糖の高値、すなわち代償機序の低下を説明する遺伝子発現調節異常であると考えられた。

【結語】環境因子負荷によるマウス腓島の網羅的な遺伝子発現変動を RNA-Seq を用いて観察した。一定の閾値を決めて発現変動上位にランクされる遺伝子を集めた後に、検討し得たサンプル数のマウス腓島遺伝子発現データからクラスタリング解析を行うことによって共発現遺伝子群(モジュール)の同定を行ったところ、各モジュールは特異的な細胞機能を司る遺伝子群である可能性が示された。代償性の機能亢進状態にある腓島では、必要となるモジュールにおいて遺伝子発現レベルが合目的に変動しており、糖尿病の発症に際してはこの調節機序が機能していない可能性が考えられた。本研究によって、腓島をシステムとして系統的に理解するための枠組みを構築できた可能性がある。

ゲノムレファレンスに依存しない網羅的な解析手法によって、lncRNA をはじめとした新規転写産物の同定もさかんに行われるようになってきた。本研究においても、腓島 lncRNA の存在を確認しているが、既に観察されてきたように、これらの発現レベルはタンパク質をコードする遺伝子と比べてかなり低い。さらに、ショートリード解析のみでは、アイソフォームの網羅的な同定に限界があることも指摘されている。現状では、遺伝子レベルの範囲内で検討を進めることが無難と考えられるが、それにもかかわらず本研究では高い有用性を確認することが可能であった。将来、技術進歩によって転写産物の全貌が明らかとなった際には、アイソフォームレベルの全転写産物や発現レベルの低い lncRNA にも解析範囲を拡張することによって、転写産物間ネットワークおよび疾患のプライマリーな変化をより正確に推定することが可能となり、臨床にも直結したツールに発展して行く可能性があると考えられる。

Subject No. : 23 指 111

Title : Genome-wide identification of chromatin-associated long noncoding RNAs involved in pancreatic islet dysfunction and abnormal glucose metabolism

Researchers : Takao Nammo

Key word : environmental factors, diabetes mellitus, noncoding RNA, transcriptional regulation, insulin secretion

Abstract :

**Background** Although environmental factors play an important role in the aetiology of diabetes, its underlying molecular mechanisms remain largely unknown. Since epigenetic changes, such as DNA methylation and histone modification, can be sensitive to environment, their influence to type 2 diabetes has been one of the topics these days.

**Aims** Among various classes of noncoding RNAs, especially long noncoding RNAs (lncRNAs) could be involved in the pathophysiology of diabetes because of its function as epigenetic modulators. The emergence of next generation sequencing technology has enabled transcript identification and quantification regardless of any existing genome annotations. The aim of this study is to investigate the effectiveness of genome-wide identification of transcripts including lncRNAs, which are of potential interest in the aetiology of diabetes due to the environment-dependent transcriptional regulation.

#### **Outline for Results Section**

I. Mice.

a. Male C57BL/6J mice fed a high-fat diet (60% energy by fat)    b. KK mice

II. Experiments on Chromatin-associated RNAs (CARs)

III. RNA sequencing (RNA-Seq) by Next-Generation Sequencer

IV. Short-Read Sequence Analysis

#### **Results**

I. Mice

a. Male C57BL/6J mice fed a high-fat diet (HFD, 60 kcal% fat) were used. HFD was started at 10 weeks of age, and pancreatic islets were isolated 4 and 18 weeks later. Relatively short-term (4 weeks) HFD resulted in a slight but significant increase in body weight in comparison with age- and sex- matched controls fed a chow diet. HFD mice also exhibited mild glucose intolerance with enhanced glucose-dependent insulin secretion by intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT, 1 g/kg BW). However, long-term (18 weeks) HFD caused an excessive increase in body weight. It also resulted in severer glucose intolerance and blunted glucose-dependent insulin secretion in the experimental group.

b. The KK spontaneously diabetic mouse was established by inbreeding of the local strains of Japanese mice. Changing its diet or environmental conditions strongly influence its course of diabetes (Diabetes Res Clin Pract. 24:Suppl:S313-S316,1994). Male KK mice at the age of 9 weeks were divided into 2 groups: singly housed and group housed (control). Probably because the former were more sluggish than the latter, they became heavier with age. At the age of 11 weeks, fasting glucose levels were similar between both groups, although singly housed mice exhibited relative

Researchers には、分担研究者を記載する。

glucose intolerance by IPGTT. Interestingly, a significant increase in fasting blood glucose levels was observed in singly housed mice afterwards, and their blood glucose levels exceeded 250 mg/dl at the age of 16 weeks.

## II. Experiments on Chromatin-associated RNAs (CARs)

Chromatin-associated long noncoding RNAs (CARs) are of special interest since they could be directly involved in the epigenetic mechanisms (Genome Res. 20:899-907,2010). At the beginning, we optimized the protocol for purifying CARs by using INS-1 cells, a rat insulinoma cell line. After verifying that selective isolation of CAR was successful, mice were examined to purify CAR from pancreatic islets. However, probably due to exocrine contamination, it was not possible to obtain constant results. Thus, we could not help concluding that the initial plan had to be changed.

## III. RNA sequencing (RNA-Seq) by Next-Generation Sequencer

RNA-seq has been used to identify thousands of lincRNAs in various organisms. To investigate the transcripts including lincRNAs expressed in mouse pancreatic islets, we generated RNA-seq data after constructing libraries using the strand specific dUTP method.

## IV. Short-Read Sequence Analysis:

a. 101-bp paired-end RNA-Seq reads were aligned using TopHat (Bioinformatics 25:1105-1111,2009) in order to identify exon-exon splice junctions. Then, aligned RNA-Seq reads were assembled using Cufflinks (Nat Biotechnol. 28:511-515,2010). It also calculates transcript abundances in Fragments Per Kilobase of exon per Million fragments mapped (FPKM).

b. Identification of differentially expressed genes for two-group RNA-seq data were done using an R package named TCC (BMC Bioinformatics. 14:219,2013), which can rank genes according to the significance of their differential expression. When compared to controls at a threshold of FDR < 0.05, approximately 2,000 ~ 7,000 genes were shown to be differentially expressed in islets isolated from HFD mice and singly-housed KK mice.

c. Next, we tried to detect differentially coexpressed genes, because they could not only share cis-regulatory elements but also be functionally related (Genome Res. 9:1106-1115,1999). To this end, we also isolated pancreatic islets from mice other than those mentioned above, which included four inbred strains at various ages and were fed either with chow diet or with HFD. In total, we obtained twenty-three RNA-Seq datasets and found that ~13,000 expressed genes were judged as differentially expressed at least in one of the comparisons between an experimental group and a control group. Finally, we could group these genes into 68 gene modules by K-means clustering. Although preliminary, it seemed highly likely that the result was appropriate in that the modules were well enriched for specific functions and pathways by DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) analysis.

d. We were interested in how the above analysis could be useful for understanding the observed differences in gene expression between an experimental sample and a control sample. First of all, we looked into the upregulated genes in the islets isolated from C57Bl/6J mice fed a HFD for 4 weeks. Module 1 was a module containing a highly significant number of genes associated with ER stress. Remarkably, 46% of genes in module 1 were those upregulated in the islets of HFD mice,

which was the highest proportion among all modules identified. This finding was in agreement with the consensus about the physiological requirement of ER stress in the islets of obese mice.

We also investigated the proportion of genes in various modules that were upregulated in the islets of mice fed a HFD for 18 weeks. In this case, we found that module 2, which was highly enriched for genes associated with cell cycle, contained the highest proportion (62%) of upregulated genes among all modules, whereas the proportion of upregulated genes in the same module was 8.3%. Thus, these data suggest that upregulation of cell cycle genes in module 2 may not only become more important in the islets after prolonged HFD feeding but also be able to explain the rapid weight gain seen at a later stage.

e. Deterioration of glucose tolerance in singly-housed KK mice was more progressive than that in their group-housed counterparts. Thus, by using this model, it would be interesting to profile changes in islet gene expression during development of diabetes. Since we also observed significant variation in blood glucose levels of singly-housed KK mice after 11 weeks of age, we empirically separate 16-week old mice into three groups of two animals each: singly-housed mice with high blood glucose levels (group H, 327 mg/dl, mean), group-housed mice with normal blood glucose levels (control, 105 mg/dl, mean), and singly-housed mice with medium blood glucose levels for those with blood glucose levels in between (group M, 188 mg/dl, mean). In 32 out of 67 modules, both group M and group H revealed that there were more upregulated genes at the age of 16 weeks than those at the age of 11 weeks. However, of the 32 modules, 12 revealed that the number of upregulated genes was smaller in group H than in group M. Since these 12 modules were associated with cell cycle, ER stress, transcriptional regulation and so on, hyperglycemia of group H could be due to insufficient dosage of these genes.

### ***Conclusions***

We have investigated how islet genes were differentially expressed in response to environmental factors by RNA-Seq. Then, higher-ranked genes with FDR below a certain threshold were selected in order to identify differentially coexpressed gene modules. Because of the enrichment for specific functional annotations, each module could consist of genes that can modulate specific cellular functions as a group. Actually, the transcriptome of islets under environmental stimuli revealed the enrichment of differentially expressed genes in modules that were associated with important functions for adaptive response of beta-cells, whereas such compensatory gene expression changes seemed to be insufficient after the onset of diabetes.

This study also showed the effectiveness of gene level quantification of expression. However, when advances in sequencing technologies may further increase the efficiency of obtaining more detailed information, such as splicing isoforms and lncRNAs, transcript level analysis will bring us more accurate and novel results in the future.

C57Bl/6J  
(雄性)



代償モデル

10週齢

14週齢

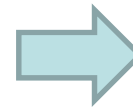
28週齢

高脂肪食  
60kcal%Fat

通常食摂取

耐糖能異常  
空腹時血糖正常  
体重増加は軽度  
グルコースに対する  
早期インスリン分泌亢進

表現型の変化



より強い耐糖能異常  
空腹時血糖は上昇しない  
体重増加速度が速い  
グルコースに対する  
早期インスリン分泌低下

膵島採取

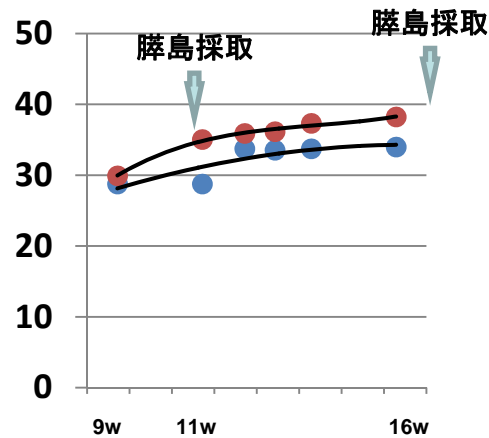
膵島採取

KKマウス  
(雄性)

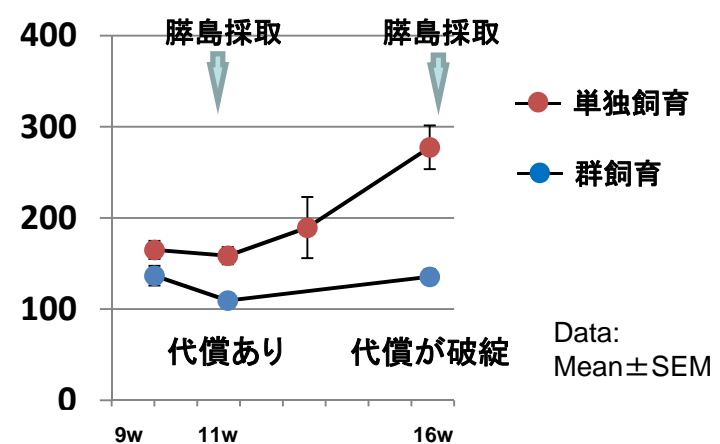


自然発症  
2型糖尿病  
モデル

KK 体重の変化 (g)



随時血糖 (mg/dl)

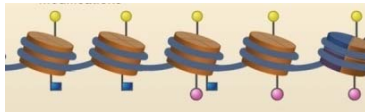


● 飼育環境の違いによって耐糖能が大きく変化する

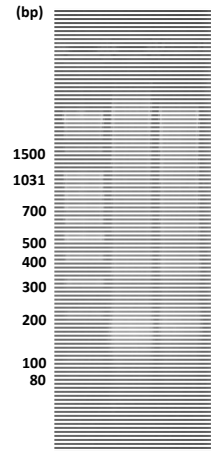
# クロマチンに結合するRNA (CAR) の精製

Genome Res. 20: 899-907, 2010

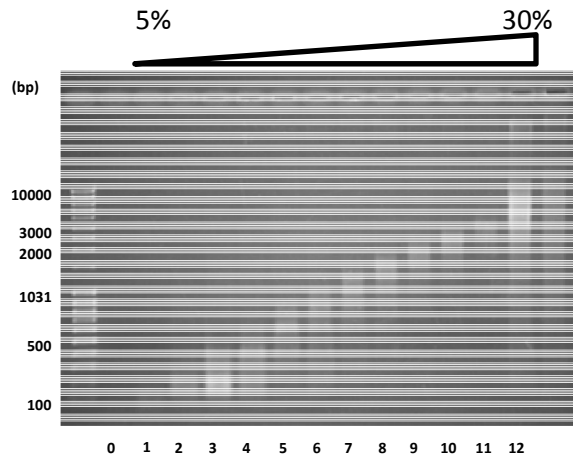
1. 細胞より核を分離し、マイクロコッカスヌクレアーゼで処理。



ヌクレオソーム1個に含まれるDNAは146bp



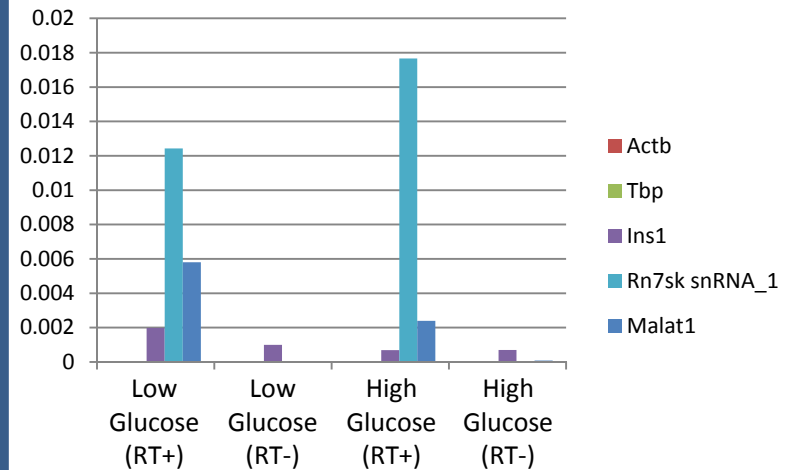
2. 可溶化されたクロマチンをシヨ糖密度勾配で超遠心処理。



2. クロマチン分画を集めてRNAを精製し、次世代シーケンサーで解析。

## Ins-1細胞による検討

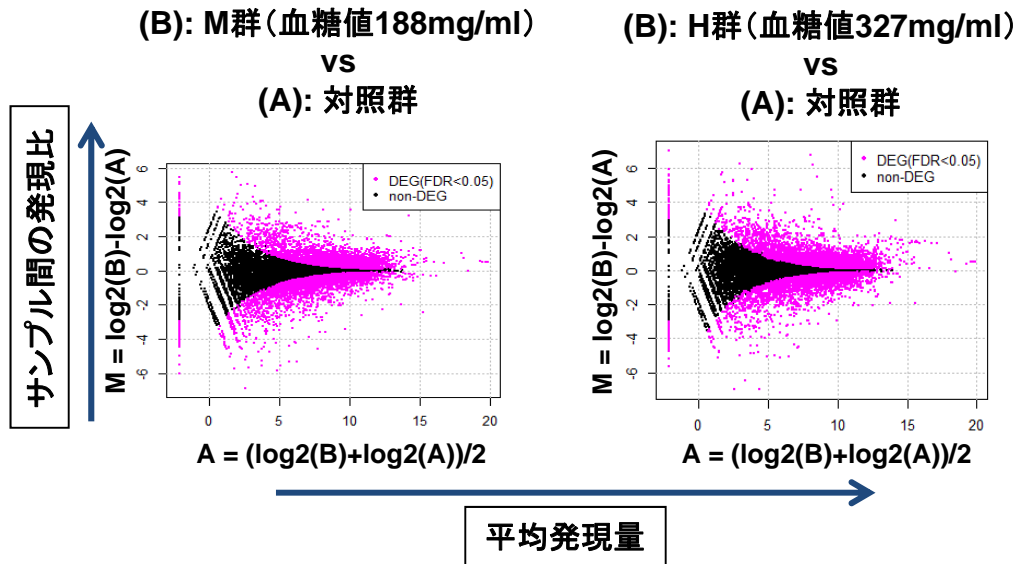
### RT-PCR (INS-1細胞)



CARサンプルから、ActbおよびTbpは検出されなかった。  
Rn7sk snRNAはクロマチンに結合している



# 耐糖能の悪化と膵島の遺伝子発現変動 (M-Aプロット) 代償破綻の前後における変化を検討する

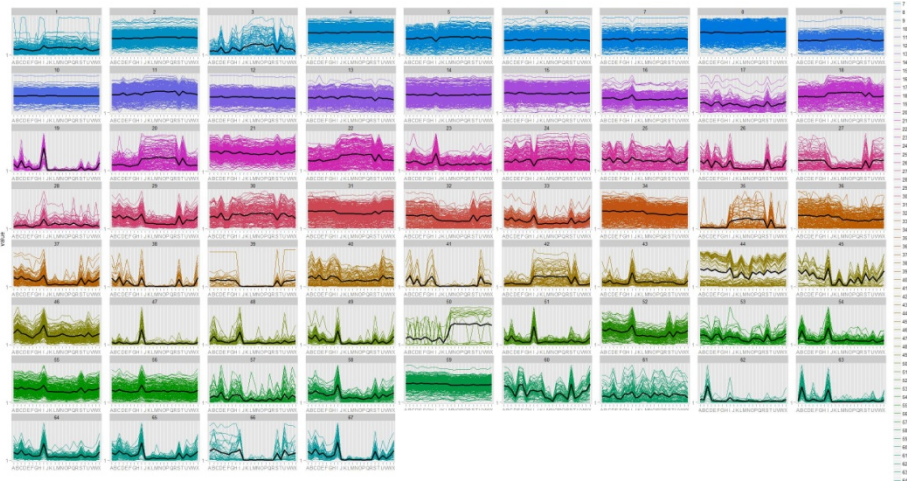


iDEGES/edgeR正規化  
edgeRによるDEG検出  
BMC Bioinformatics. 14:219, 2013

マゼンタ色のプロットが  
発現変動遺伝子  
(DEG)

発現変動遺伝子 (DEG) の  
内容に関する詳細な検討

任意の比較 (実験群 vs 対照群) から耐糖能・肥満・加齢に  
関連する膵島DEG (12,760種類) を選択し  
遺伝子間クラスタリングを行う



発現パターンの類似した67種類  
のモジュールに分類される。

モジュールを構成する遺伝子の  
機能は類似する傾向がある。  
(ex. ERストレス、細胞周期など)

## 病態(代償機序)に応じた遺伝子発現変動と遺伝子モジュールの機能変化(例)

モジュール	代表的な機能	4週間 HFD負荷 C57Bl/6J	18週間 HFD負荷 C57Bl/6J	モジュール	代表的な機能	11週齢KK	16週齢M群 血糖値 188mg/dl	16週齢H群 血糖値 327mg/dl
#1	ERストレス	46%	48%	#1	ERストレス	11.5%	88.3%	88%
#3	細胞周期	8.1%	26%	#3	細胞周期	26%	76%	67%
#4	細胞周期	4.8%	38%	#4	細胞周期	44%	83%	75%
#2	細胞周期	8.3%	62%	#2	細胞周期	55%	92%	93%

➡ 耐糖能異常の悪化は遺伝子モジュール機能低下を伴う。

## 目 標

- Non-coding RNAを含めた  
遺伝子ネットワーク解明
- 疾患発症に関与する  
プライマリーな  
遺伝子経路の同定

ヒトデータとの比較

ヒト疾患研究への応用

研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 23指111

研究課題名： 環境因子による膵島細胞の機能変化における、長鎖noncoding RNAの意義の網羅的検討

主任研究者名： 南茂 隆生

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Pancreatic islet enhancer clusters enriched in type 2 diabetes risk-associated variants.	Pasquali L, Gaulton KJ, Rodríguez-Seguí SA, Mularoni L, Miguel-Escalada I, Akerman I, Tena JJ, Morán I, Gómez-Marín C, van de Bunt M, Ponsa-Cobas J, Castro N, Nammo T, Cebola I, García-Hurtado J, Maestro MA, Pattou F, Piemonti L, Berney T, Gloyn AL, Ravassard P, Gómez-Skarmeta JL, Müller F, McCarthy MI, Ferrer J	Nat Genet.	Vol.46 No.2	2014
Quantitative assessment of Pdx1 promoter activity in vivo using a secreted luciferase reporter system.	Nishimura W, Eto K, Miki A, Goto M, Kawaguchi M, Nammo T, Udagawa H, Hiramoto M, Shimizu Y, Okamura T, Fujiwara T, Yasuda Y, Yasuda K	Endocrinology	Vol.154 No.11	2013

研究発表及び特許取得報告について

<p>Human <math>\beta</math> cell transcriptome analysis uncovers lncRNAs that are tissue-specific, dynamically regulated, and abnormally expressed in type 2 diabetes.</p>	<p>Morán I, Akerman I, van de Bunt M, Xie R, Benazra M, Nammo T, Arnes L, Nakić N, García-Hurtado J, Rodríguez-Seguí S, Pasquali L, Sauty-Colace C, Beucher A, Scharfmann R, van Arensbergen J, Johnson PR, Berry A, Lee C, Harkins T, Gmyr V, Pattou F, Kerr-Conte J, Piemonti L, Berney T, Hanley N, Gloyn AL, Sussel L, Langman L, Brayman KL, Sander M, McCarthy MI, Ravassard P, Ferrer J</p>	<p>Cell Metab</p>	<p>Vol. 16 No. 4</p>	<p>2012</p>
<p>KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma.</p>	<p>Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, Sakamoto H, Tsuta K, Furuta K, Shimada Y, Iwakawa R, Ogiwara H, Oike T, Enari M, Schetter AJ, Okayama H, Haugen A, Skaug V, Chiku S, Yamanaka I, Arai Y, Watanabe S, Sekine I, Ogawa S, Harris CC, Tsuda H, Yoshida T, Yokota J, Shibata T</p>	<p>Nat Med.</p>	<p>Vol. 18 No. 3</p>	<p>2012</p>
<p>Mapping open chromatin with formaldehyde-assisted isolation of regulatory elements.</p>	<p>Nammo T, Rodríguez-Seguí SA, Ferrer J</p>	<p>Methods Mol Biol.</p>	<p>Vol. 791</p>	<p>2011</p>

研究発表及び特許取得報告について

膵β細胞分化過程におけるエピゲノム変化	南茂 隆生、安田 和基	内分泌・糖尿病・代謝内科	Vol. 38 No. 4	2014
膵内分泌「糖尿病の体質と環境：膵β細胞のエピジェネティクス」	南茂 隆生、安田 和基	日本体質医学会雑誌	Vol. 75 No. 2	2013
膵β細胞におけるエピゲノム制御	南茂 隆生、安田 和基	週刊 医学のあゆみ	Vol. 244 No. 12	2013
特集 病態と遺伝子多型 糖尿病	南茂 隆生、安田 和基	SURGERY FRONTIER	Vol. 19 No. 1	2012
FAIRE-seqを用いたヒト膵島における開放型クロマチンの網羅的同定	南茂 隆生、Jorge Ferrer	糖尿病学2011		2011
non-coding RNAによる代謝調節	南茂 隆生、安田 和基	糖尿病学イラストレイテッド		2012
ヒト膵島を使った研究.	南茂 隆生、安田 和基	別冊プラクティス糖尿病とヒトゲノムQ&A		2011

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
ゲノム網羅的解析を用いた、高脂肪食摂取による膵島の代償機序の解明	南茂 隆生、宇田川陽秀、川口美穂、衛藤 弘城、上番増 喬、平本 正樹、西村 渉、安田 和基	NGS現場の会・第三回研究会	神戸	平成25年9月
A genome-wide investigation into the mechanisms of islet compensation induced by a high-fat diet	南茂 隆生、宇田川陽秀、川口美穂、衛藤 弘城、上番増 喬、平本 正樹、西村 渉、安田 和基	第56回日本糖尿病学会年次学術集会	熊本	平成25年5月
膵内分泌「糖尿病の体質と環境：膵β細胞のエピジェネティクス」シンポジウム「Common disease の体質と環境」	南茂 隆生	第62回日本体質医学会総会	大阪	平成24年11月
膵島組織のエピゲノム解析と糖尿病	南茂 隆生	第9回東北糖尿病トータルケア研究会	仙台	平成24年10月

研究発表及び特許取得報告について

膵β細胞株を用いた、分泌刺激による遺伝子発現変化とFAIREによるクロマチン状態の評価	南茂 隆生、上 番増 喬、宇田 川 陽秀、衛藤 弘城、川口 美 穂、西村 渉、 平本 正樹、安 田 和基	第55回日本糖尿病学会年次学術集会	横浜	平成24年5月
シンポジウム8：糖尿病の遺伝子関連 高頻度病態から稀少疾患まで 膵β細胞のエピジェネティクス	南茂 隆生、安 田 和基	第55回日本糖尿病学会年次学術集会	横浜	平成24年5月
次世代シーケンサーを用いたヒト膵島のエピゲノム解析と糖尿病	南茂 隆生	第10回山口糖尿病フォーラム	山口	平成24年1月
FAIRE-seqを用いたヒト膵島のゲノム網羅的解析と2型糖尿病	南茂 隆生	第11回Islet Biology研究会	東京	平成23年7月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし

特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし
該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし
該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと