

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5580544号
(P5580544)

(45) 発行日 平成26年8月27日(2014.8.27)

(24) 登録日 平成26年7月18日(2014.7.18)

(51) Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 31/18	(2006.01)	A 6 1 K 31/18	
A 6 1 P 35/04	(2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5

請求項の数 1 (全 25 頁)

(21) 出願番号	特願2009-74991 (P2009-74991)	(73) 特許権者	504145364 国立大学法人群馬大学 群馬県前橋市荒牧町四丁目2番地
(22) 出願日	平成21年3月25日(2009.3.25)	(74) 代理人	100093230 弁理士 西澤 利夫
(65) 公開番号	特開2010-229037 (P2010-229037A)	(72) 発明者	石内 勝吾 群馬県前橋市昭和町三丁目39番15号 国立大学法人群馬大学内
(43) 公開日	平成22年10月14日(2010.10.14)	(72) 発明者	都筑 馨介 群馬県前橋市昭和町三丁目39番22号 国立大学法人群馬大学内
審査請求日	平成24年3月23日(2012.3.23)	審査官	田中 耕一郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん治療用の遊走阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

N-ヒドロキシ-2(R)-{(4-メトキシフェニル)スルフォニル}-[ベンジルアミノ]
]-4-メチルペンタンアミド(N-Hydroxy-2(R)-{[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]-[benzylamino]}
-4-methylpentanamide)を有効成分として含有することを特徴とする放射線がん治療用の放射線増感性遊走阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、放射線等を用いてのがん治療における腫瘍細胞の遊走性の亢進を抑制、阻害する遊走阻害剤に関するものである。

10

【背景技術】

【0002】

従来より、がん治療を目的として臨床の現場で放射線の照射が行われてきており、近年では、X線だけでなく線(陽子線)、炭素線、ネオン線など、多様な重粒子線の照射の有効性が注目されてきている。

【0003】

ただ、放射線治療についての臨床的な検討が進むにつれて、改めてその有効性をより確実なものとし、また、より高めるための方策が求められてきている。実際、本発明者によって行われた実験的検討によれば、X線や多種類の重粒子線(炭素線、ネオン線、アルゴ

20

ン線)を用いて腫瘍細胞に対して照射を行うと、放射線の照射が、逆に、腫瘍細胞の遊走性を亢進させるという現象が確認されてもいるからである。

【0004】

また、これまでも、臨床においては、難治性のがんはX線抵抗性であることが知られている。たとえば、文献的に低線量の放射線(X線で1~3Gy)がラットの腫瘍細胞の遊走と浸潤を亢進することが知られている(非特許文献1)。

【0005】

また、マウスLM8 osteosarcoma細胞では、X線を照射した細胞では腹腔内接種した腫瘍細胞の肺転移が促進されるとともに、重粒子線の一種である炭素線を照射した細胞では肺転移が減じると報告されている(非特許文献2)。

10

【0006】

しかしながら、ヒトのがん細胞においてX線や複数の重粒子線が細胞の走行性にどのような生物学的効果をもたらすか詳細に解析した報告は見当たらないのが実情である。本発明者の確認したところでは、従来よりX線抵抗性とされている難治性の神経膠芽腫細胞にX線と多種類の重粒子線(炭素線、ネオン線、アルゴン線)を低線量および高線量(10Gy)照射しても、細胞の遊走性が返って亢進することを、腫瘍細胞の走行性を解析する複数の実験系を用いて見出しているが、特に照射後3日まではX線10Gy照射により通常の2倍、重粒子線(炭素線、ネオン線、アルゴン線ともに10Gy)照射では3倍の速度で腫瘍細胞の遊走性が促進される現象が見られる。また、照射後の長期解析では高線量(10Gy)の重粒子線照射後10日目においても遊走する紡錘形腫瘍細胞を確認できる。

20

【0007】

このことは、照射野内に存在する細胞が照射野外に移動しそこで腫瘍形成する可能性を示唆している。してみると、高い生物学的効果を持つとされる重粒子線を用いても単独では腫瘍細胞の根治は難しく、逆に髄腔内播種や浸潤性増殖を促進する可能性がある。このことは大きな問題であって、21世紀のがん治療を担うと期待される重粒子線がその高い生物学的効果から逆に腫瘍を強力に照射外に追い立て、その結果、治療を行うと返って播種や転移が従来のX線治療よりも出現し易くなることになる。このため、放射線治療における放射線増感や遊走阻害を可能とする方策が強く求められている。

【0008】

従来、がんの治療や研究はもっぱら細胞増殖を抑制するという観点から推進されてきており、抗がん剤や放射線は現在でもがん治療の主要な治療手段であり、DNAに障害をもたらす細胞増殖を抑制するという観点からの研究開発がなされてきている。このような従来の観点では、放射線治療に反応せず照射野外に浸潤あるいは転移した腫瘍に関しては放射線抵抗性細胞として片付けられてきている。たとえば、悪性脳腫瘍の代表であるグリオーマにしても、放射線抵抗性である理由としてDNA合成を活発に行う細胞と遊走する細胞とは別物であるという、Go(遊走)or Grow(増殖)hypothesisまたはproliferation(増殖)とmigration(遊走)のDichotomy(二元論)が主張されている(非特許文献3、4)。すなわち、神経膠芽腫細胞のうちの分裂し増殖している細胞は放射線感受性が比較的高く、一方、遊走している細胞は別物で放射線抵抗性でありアポトーシスに陥りづらいので照射野外に浸潤し増殖すると考えられている。

30

40

【0009】

しかし、これは現状での認識の限界を示しているに過ぎないと言える。放射線照射に伴う「遊走」による転移、浸潤の機序や、これを抑止し阻害するための方策の手掛かりが解明されていないからである。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Cancer Res. 65, 113-120, 2005

【非特許文献2】Cancer Res. 61, 2744-2750, 2001

【非特許文献3】J. Clin. Oncol. 21, 1624-1636, 2003

50

【非特許文献4】Int. J. Cancer 67, 275-282, 1996

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

本発明は、以上の通りの事情に鑑みてなされたものであり、固形がんで解決しなければならない転移、浸潤、播種に対する、放射線増感剤、遊走阻害を兼ねるがん治療剤、がん転移予防剤を提供することを課題としている。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明は、上記の課題を解決するために、以下のことを特徴としている。

10

【0013】

第1：マトリックスメタロプロテアーゼの産生抑制活性を有する化合物を有効成分として含有することを特徴とする放射線がん治療用の放射線増感性遊走阻害剤。

【0014】

第2：前記化合物は、少なくともマトリックスメタロプロテアーゼ-3の産生抑制活性を有することを特徴とする上記第1の放射線がん治療用の放射線増感性遊走阻害剤。

【0015】

第3：前記化合物は、Marimastat、AG3340、CGS27023A、Bay 12-9566、Neovastat、BMS 275-291、テトラサイクリン類、Matristatin、およびカテキンから選ばれるいずれかの化合物であることを特徴とする上記第1または第2の放射線がん治療用の放射線増感性遊走阻害剤。

20

【0016】

第4：前記化合物は、Ac-RCGVDP-NH₂、N-isobutyl-N-(4-methoxyphenylsulfonyl)-glycylhydroxamic Acid;NNGH、N-[[[(4,5-dihydro-5-thioxo-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]carbonyl]-L-phenylalanine、-[[[(4,5-dihydro-5-thioxo-1,3,4,-thiadiazol-2-yl)amino]carbonyl]amino]-N-(cyclohexylmethyl)-(S)-benzenepropanamide、4-dibenzofuran-2-yl-4-hydroximino-butyric acid、4-(4-biphenyl)-4-hydroxyimino-butyric acid、3-[4-(4-cyanophenyl)phenoxy]propanohydroxamic acid、および{N-hydroxy-2(R)-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]-[benzylamino]}-4-methylpentanamideから選ばれるいずれかの化合物であることを特徴とする上記第1または第2の放射線がん治療用の放射線増感性遊走阻害剤。

30

【0017】

第5：マトリックスメタロプロテアーゼの産生抑制活性を有する化合物を有効成分として含有することを特徴とするがん治療用の遊走阻害剤。

【0018】

第6：前記化合物は、少なくともマトリックスメタロプロテアーゼ-3の産生抑制活性を有することを特徴とする上記第3のがん治療用の遊走阻害剤。

【0019】

第7：前記化合物は、Marimastat、AG3340、CGS27023A、Bay 12-9566、Neovastat、BMS 275-291、テトラサイクリン類、Matristatin、およびカテキンから選ばれるいずれかの化合物であることを特徴とする上記第5または第6のがん治療用の遊走阻害剤。

40

【0020】

第8：前記化合物は、Ac-RCGVDP-NH₂、N-isobutyl-N-(4-methoxyphenylsulfonyl)-glycylhydroxamic Acid;NNGH、N-[[[(4,5-dihydro-5-thioxo-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]carbonyl]-L-phenylalanine、-[[[(4,5-dihydro-5-thioxo-1,3,4,-thiadiazol-2-yl)amino]carbonyl]amino]-N-(cyclohexylmethyl)-(S)-benzenepropanamide、4-dibenzofuran-2-yl-4-hydroximino-butyric acid、4-(4-biphenyl)-4-hydroxyimino-butyric acid、3-[4-(4-cyanophenyl)phenoxy]propanohydroxamic acid、および{N-hydroxy-2(R)-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]-[benzylamino]}-4-methylpentanamideから選ばれるいずれかの化合物であることを特徴とする上記第5または第6のがん治療用の遊走阻害剤。

50

【発明の効果】

【0021】

本発明によれば、重粒子線をはじめとする放射線の照射によるがん治療において、放射線照射にともなう腫瘍細胞の遊走性の亢進を抑制、阻害することのできる、放射線増感性の遊走阻害剤が提供され、さらには、薬剤等によるがん治療一般においても腫瘍細胞の遊走性の亢進を抑制、阻害することも可能となる。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】実施例1の臨床検体を用いた遊走能評価の結果を示した図である。

【図2】実施例1の臨床検体を用いた遊走能評価の結果を示した図である。

10

【図3】実施例1の臨床検体を用いた遊走能評価の結果を示した図である。

【図4】実施例1の臨床検体を用いた遊走能評価の結果を示した図である。

【図5】実施例1の臨床検体を用いた遊走能評価の結果を示した図である。

【図6】実施例2において、選択したプローブを、正のLog₂値を持つ増加遺伝子と負のLog₂値を持つ減少遺伝子とに区分けしLog₂値の絶対値に従ってランク付けした結果を示した図である。

【発明を実施するための形態】

【0023】

以下、本発明について詳細に説明する。

【0024】

20

¹²C、²⁰Ne、⁴⁰Arイオンビーム等の高線エネルギー付与(LET)荷電粒子線は、低LET X線と比べて相対的に高い生物学的活性を持つ。従ってグリア芽腫細胞などの最も未分化であり侵襲的であるヒト癌は従来のX線療法に通常は抵抗性を有することから、それらの癌の治療に対して高LET放射線療法という新手法が有望である。さらに高LET荷電粒子線はBraggピークが鋭いために空間分布が一層正確になり、定位がよく定まることから、周辺の生体構造に及ぼす有害作用を最小限にしながらかん部の変部の治療を行うことが可能となる。

【0025】

¹²Cイオンビーム、²⁰Neイオンビーム、⁴⁰Arイオンビームなどの高線エネルギー付与(LET)荷電粒子線は、X線抵抗性癌の治療に用いる新しい療法となる可能性を有しているが、本発明では、腫瘍の放射線反応性が、腫瘍細胞増殖と転移の両者に対する放射線感受性により決定されることが確認されている。高LET放射線はヒトグリア芽腫細胞株であるCGN H-89に対して顕著な細胞毒性作用を示す。¹²C、²⁰Neならびに⁴⁰ArイオンビームのX線に対する相対的な生物学的作用を、D₁₀、すなわちクローン化可能細胞の10%生存率を示す線量としてそれぞれ計算したところ、3.4、4.5ならびに6.2Gyになった。高LETならびに低LET放射線の単回大量10Gy線量により腫瘍細胞の転移が促進される。

30

【0026】

本発明において有効成分として用いられるマトリックスメタロプロテアーゼの産生抑制活性を有する化合物(以下、「MMP阻害剤」という。)の具体例としては、マリマスタット(Marimastat(BB-2516))、AG3340、CGS27023A、Bay 12-9566、Neovastat、BMS 275-291、テトラサイクリン類、Matristatin(三共)、カテキン等が挙げられる。これらの物質は、公知文献に記載された合成方法を参照し、あるいは通常の合成法を用いることにより製造することができ、また、これらの物質の製造、販売、開発会社等から入手することもできる。

40

【0027】

また、選択的MMP-3阻害剤として以下のものを挙げることができ、メルク株式会社より購入できる。

Ac-RCGVPD-NH₂; Stromelysin-1 阻害剤

N-isobutyl-N-(4-methoxyphenylsulfonyl)-glycylhydroxamic Acid;NNGH

N-[[[(4,5-dihydro-5-thioxo-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]carbonyl]-L-phenylalanine
-[[[(4,5-dihydro-5-thioxo-1,3,4,-thiadiazol-2-yl)amino]carbonyl]amino]-N-(cycl

50

ohexylmethyl)-(S)-benzenepropanamide
 4-dibenzofuran-2-yl-4-hydroximino-butyric acid
 4-(4-biphenyl)-4-hydroxyimino-butyric acid
 3-[4-(4-cyanophenyl)phenoxy]propanohydroxamic acid
 {N-hydroxy-2(R)-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]-[benzylamino]}-4-methylpentanamide

これらの物質に対する1時間曝露後に放射線に曝露した細胞では、細胞増殖と細胞運動の障害が顕著に促進されることが示された。これらの結果から、新しい放射線療法は細胞移動障害剤の投与と組み合わせるべきであることが確認されている。

【0028】

本発明においては、以上のような放射線がん治療用の放射線増感性遊走障害剤が提供されるとともに、薬剤等による他のがん治療用の遊走障害剤も提供される。

10

【0029】

MMP障害剤を照射誘発遊走障害剤として用いる場合は、照射によるMMP-3遺伝子への選択的高発現から考えてもMMP障害剤の役割は非常に高いと考えられる。

【0030】

MMP障害剤による治療は照射前後の限定された短期間の内服で良く、MMP-3に的を絞り（マリマスタットはMMP-1,2,3,9を阻害する）より副作用の少ない薬剤の選択も可能である。

【0031】

本発明に係る遊走障害剤の製剤は、通常製剤化に用いられる担体や賦形剤、その他の添加剤を用いて調製される。製剤用の担体や賦形剤としては、固体または液体のいずれであってもよく、たとえば、乳糖、ステアリン酸マグネシウム、スターチ、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、オリーブ油、ゴマ油、カカオバター、エチレングリコール、その他常用のものが挙げられる。

20

【0032】

投与は、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、液剤などによる経口投与、あるいは静注、筋注などの注射剤、坐剤、経皮などによる非経口投与のいずれの形態であってもよい。

【0033】

放射線がん治療においては、たとえば、MMP障害剤の使用方法は分割照射の場合は連日照射直前に内服または注射を行い、単回照射の場合は照射直前および照射後も最低2週間は連日投与することが好ましい。特に重粒子線照射を病巣部に限局して照射する場合は激しく腫瘍細胞が遊走することを考慮し十分な照射前後のMMP障害剤の投与が必要である。

30

【0034】

また、X線と重粒子線照射を併用する場合は、従来技術により安全な線量が開示されているX線をMMP障害剤と併用して腫瘍塊中心部と浸潤領域を含む範囲に比較的広く分割照射したのち、重粒子線照射はX線照射後に腫瘍塊中心部に限局してやはりMMP障害剤と併用して照射を行い、照射後も2週間以上投与するのが効果的である。

【0035】

高線量の重粒子線は脳壊死を引き起こし、また低線量でも広範囲に重粒子線照射を行うと顕著な脳萎縮、水頭症の発現など重篤な副作用が出現する可能性があるため、安全性が確立されているX線照射をまず広範囲に行った後に、腫瘍塊限局重粒子線照射を行うのが安全性が高く効果的な治療法であると考えられる。

40

【0036】

この際MMP障害剤との併用が必要で、照射単独では従来技術の成果しか望めず、したがって照射野内における局所再発や髄空内播種、および浸潤性増殖が起こり得る。重粒子線照射装置は限られた施設のみで使用可能であるが、従来のX線照射装置を用いても1回線量を3.6Gy（1.8Gyを1日2回）程度に上昇しMMP障害剤を併用すると炭素線3.6Gy相当の抗腫瘍効果が期待できる。

【0037】

50

サイバーナイフなど比較的高線量・分割照射可能な装置を用いてMMP阻害剤の併用を行うとさらに治療効果が上がる。具体的には、サイバーナイフ装置にて1回線量5Gyで6~8分割にて照射しMMP阻害剤と併用して行い、さらに照射後も2週間MMP阻害剤を投与する。また、比較的病変が広範で浸潤領域が広い場合には、通常のX線照射を浸潤部位を含む領域に広範囲に40Gy (2Gy / 日 × 20回) 照射し、その後サイバーナイフ装置を用いて腫瘍塊に限局して20Gy (5Gy / 回 × 4) 照射を行う。この際も、照射単独では照射による腫瘍細胞の遊走と浸潤性の亢進を引き起こすので、照射直前より照射後2週間は連日MMP阻害剤を併用するのがよい。

【0038】

臨床的には薬剤の副作用を軽減するためには、ブロードなMMP阻害剤よりMMP-3を標的とした阻害剤がより好ましく、さらに、副作用が懸念される場合は特に分割照射開始から初期10日間に限り薬剤を施行するのも良い。現行の標準治療であるtemozolomide (テモダール(R))、インターフェロン(フェロン(R))、さらにはAMPA型受容体拮抗薬(タランパネル(R))などの遊走阻害剤と併用するのも効果的である。

【0039】

本発明の遊走阻害剤の投与量は、症状、投与対象の年齢、性別などを考慮して、個々の場合に応じて適宜に決定されるが、通常成人1日当たり10~2000mg、好ましくは1日当たり150mg程度である。成人1日当たり10~2000mgを、1回で、あるいは2~4回に分けて投与してもよい。静脈内投与や、持続的静脈内投与の場合には、一日当たり1~24時間で投与してもよい。投与量は、有効成分の種類や遊走阻害剤の形態などに応じて決められるが、有効である場合には上記の範囲よりも少ない投与量を用いることもできる。

【0040】

本発明の遊走阻害剤は、主に非経口投与、具体的には、皮下投与、筋肉内投与、静脈内投与、経皮投与、髄腔内投与、硬膜外、関節内、および局所投与、あるいは可能であれば経口投与など、種々の投与形態で投与可能である。

【0041】

非経口投与のための注射剤としては、無菌の水溶性または非水溶性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤などが挙げられる。水溶性の溶液剤、懸濁剤としては、例えば注射用蒸留水および生理食塩水などが挙げられる。非水溶性の溶液剤、懸濁剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油等の植物油、エタノール等のアルコール類、ポリソルベート80(商品名)などが挙げられる。

【0042】

非経口投与のための組成物はさらに、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤(例えば、ラクトース)、溶解補助剤(例えば、メグルミン酸)などの補助剤を含んでもよい。これらは、たとえばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合、または光照射によって無菌化される。また、非経口投与のための組成物は、無菌の固体組成物を製造しておき使用前に無菌水または無菌の注射用溶媒に溶解して調製することもできる。

【0043】

本発明の遊走阻害剤を経口投与のための固体組成物とする場合、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤などの形態とすることができる。このような固体組成物は、例えば、乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸、アルミン酸マグネシウムなどの不活性な希釈剤を、有効成分としての活性物質と混合して調製することができる。

【0044】

固体組成物には、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えばステアリン酸マグネシウム等の潤滑剤、繊維素グリコール酸カルシウム等の崩壊剤、ラクトース等の安定化剤、グルタミン酸およびアスパラギン酸等の溶解補助剤などを配合することができる。錠剤や丸剤には、必要に応じて、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等の糖衣、あるいは、胃溶性または腸溶性物質のフィルムを被膜してもよい。

10

20

30

40

50

【0045】

本発明の遊走阻害剤を経口投与のための液体組成物とする場合、薬理上許容される乳濁剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エタノールを含む。この組成物は不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有してもよい。

【実施例】

【0046】

以下、実施例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例に何ら限定されるものではない。

【0047】

以下の実施例においては次の手段が採用されている。

1) 外科標本と細胞培養

本実施例で調べた外科標本は、世界保健機関の分類に従って組織学的に多形性グリア芽腫細胞であることが同定された。細胞培養は既報に従い調製した。CGNH-89の垂系統であるCGNH-PMも使用した。細胞培養は10%ウシ胎児血清と2mMグルタミンを添加したイーグル最少必須培地(Life Technologies, Rockville, MD)中で行った。

2) X線照射

細胞に対する放射線照射は、140kV、4.5mAで運転するMBR-1505R X線装置(日立製)に0.5mm Al濾過を用い、焦点源距離30cm、1.11Gy/分の条件で既報(Akimoto, T. et al. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 50, 195-201(2001))に従って実施した。

3) 炭素線照射

炭素線照射は日本原子力研究開発機構 高崎量子応用研究所 AVFサイクロトロンより作られた¹²C イオン線(220 MeV), LET; linear energy transfer, 108KeV/ μ m broad beamを用いて照射した。照射中は培養上清を抜き腫瘍細胞は、このための乾燥を防ぐために8- μ mの厚さのポリイミド・フィルム(Kapton; DuPont-Toray Co., Ltd.)を被せた。

4) 免疫蛍光法

間接蛍光抗体染色は既報に従い実施した(Huang, X. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U SA 102, 1065-1070(2005))。二重免疫蛍光法には、フルオレセインイソチオシアネートならびにローダミン結合二次抗体(Molecular Probes, Inc.)を用いて結合抗体を可視化した。染色細胞はレーザー走査共焦点顕微鏡(Pascal LSM5; Carl Zeiss)を用いて検査した。デオキシリボ核酸対比染色はDAPIを用いて実施した。

5) 遊走アッセイ

遊走アッセイでは、一端をシリコングリスでコーティングしたガラス製クローニングシリンドラ(直径7mm)を培養皿の中央に配置した。このシリンドラ内に 5×10^4 個の細胞を蒔いた。このプレティング後24時間の時点で、細胞に放射線照射を行い、このクローニング環を除去した。細胞をさらに48時間にわたり培養した。続いてこのクローニング環の境界を越えた細胞数を計数した。

6) NO産生細胞の同定および標識

NO産生細胞の同定および標識はdiaminofluorescein-2 diacetate (DAF-2 DA、10 μ Mで使用、第一化学薬品株式会社)を用いて行った(Nakatsubo, Kojima FFBS Letters 427, 273-266, 1998)。NO産生細胞の分布はNO存在下でDAF-2より変換したDAF-2T fluorescenceを共焦点顕微鏡(Pascal LSM5; Carl Zeiss)で可視化することで捉えた。

7) データ分析

データは平均 \pm 標準誤差で示している。統計比較は対応のないt検定、または一元配置分散分析(事後分析のためにはSchaffeの試験)を用いて実施した。

<実施例1>

MMP-3は第一ファインケミカル社の抗ヒトMMP-3抗体を200倍希釈で用いた。一酸化窒素(NO)の蛍光測定はDiaminofluorescein-2 diacetate (DAF-2 DA、第一化学薬品(株)製)を10 μ Mで用いた。

【0048】

10

20

30

40

50

MMP-3阻害剤はカルピオケム社のMMP-3 inhibitor VIIIを用いた。

【0049】

図1の遊走能評価試験では、10Gyの放射線を投与した場合に、NOの発現に一致しMMP-3の発現を認め非照射に比較して遊走亢進した。NO中和剤(C-PTIO)やNOの合成阻害剤L-NAMEを投与するとNO産生の低下と共にMMP-3の発現が低下し遊走が抑制された。

【0050】

このように、MMP-3は照射により増強しNO阻害剤併用にてその発現増強を抑制することができることを確認した。

【0051】

図2(a)に示すように、放射線(X線 10Gy)にて細胞が紡錘型となり、細胞の細胞間結合が離れ遊走が亢進した。しかしMMP-3阻害剤は細胞間結合を高め遊走を阻害した。また図2(b)に示すように、X線10GyはMMP-3の蛋白発現を約3倍高めた。またMMP-3阻害剤はNOの発現に影響を与えなかった。

【0052】

図3(a)、(b)より、X線10Gy照射により細胞の遊走性は2倍に増加した。図4(a)、(b)は、MMP-3阻害剤は、容量依存性に1~100 μMで照射が誘発する遊走亢進を阻害することを示している。

【0053】

図5に示すように、X線46Gy照射後、手術にて摘出した標本について、GFAP(赤)(グリアマーカー)とMMP-3(緑)抗体による2重染色を行った。核はDAPI(青)にて染色した。壊死周囲(N)の浸潤最先端でMMP-3陽性像を認めた。なお、非照射摘出標本では、MMP-3は腫瘍細胞に染色されなかった。

<実施例2>

照射による腫瘍細胞の遊走亢進の分子機構をAffymetrix社のジーンチップにて解析した。X線、炭素線照射細胞の遺伝子解析結果を表1に示す。Venn diagramは偽処理細胞に対するX線照射および炭素線照射CGNH細胞から得られたマイクロアレイデータを纏めたものである。有意に変化したプローブに関する値は、Welch t-test、ミスマッチプローブに対する検出有意性、および倍変化基準を組み合わせた選択により決定された。

【0054】

マイクロアッセイの方法は次のとおりである。CGNH-89細胞の全RNAはIsogen試薬(Nippon Gene, Tokyo, Japan)を用い、X線10Gy処理または炭素線10Gy処理し24時間後に抽出した。X線アレイチャンパー内の未照射のセルセットをコントロールとして採取した。それぞれの条件ごとに6枚の培養ディッシュを用いて照射実験を行い、RNA抽出を行った後、3ディッシュ分のRNAをまとめて、各条件ごとに2つのRNAプールを作製した。

【0055】

これらを以下の手順に従って処理した。RNAの質はAgilent 2100バイオアナライザ(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)を用いて分析した。ターゲットの用意およびハイブリダイゼーションはAffymetrix基準プロトコル(Affymetrix, Santa Clara, CA, GeneChip Eukaryotic Target Preparation & Hybridization Manual)に従って行った。すなわち、各プールからの全RNAの3つのマイクログラムをテンプレートとして用い、GeneChip Expression 3'-Amplification Reagents for IVT Labeling Kit(Affymetrix)を用いてcDNAおよびピオチン化cRNAを合成した。その後、ピオチン化cRNAをGeneChip Hybridization Oven 640(Affymetrix)中にて45℃で16時間、Affymetrix GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 arrayにハイブリダイズした。

【0056】

チップを洗浄しGeneChip Fluidics Station 450(Affymetrix)を用いて染色した。生データはGeneChip Scanner 3000 7Gを経由して取得し、GCOSソフトウェア(GCOS ver. 1.4, Affymetrix)を用いて処理した。生データ(Affymetrix CEL files)は、R関数(R project, <http://www.r-project.org/>)およびBioconductor(<http://www.bioconductor.org/>)によりRMA(Irizarry et al., Biostatistics, 2003)およびAffymetrixのMicro Array

10

20

30

40

50

Suite 5 (MAS 5.0, Hubbell et al., Bioinformatics, 2002) を用いてバックグラウンド調整および標準化を行った。RMA標準化値はハイブリダイゼーションを並行して平均化した。

【 0 0 5 7 】

有意に変化したプローブセットは次の3ステップに従って選択した。第一のステップとして、照射群およびコントロール群の \log_2 スケールのRMAの結果は、低stringency ($P < 0.2$)にてtwo-tail Welch t-test (B.L. Welch, Biometrika 34, 28 (1947))に供された。

【 0 0 5 8 】

第二のステップとして、MASの結果について検出有意性を調べた。照射および未照射試料の両方のプローブのうち有意に検出されなかったものは排除した。

10

【 0 0 5 9 】

第三のステップとして、RMA \log_2 比の絶対値をランク付けした。照射群のRMA平均値はコントロール群のRMA平均値により区分けし、この値のbase-2 logarithm(\log_2)をlog比として構成した。P値、log比の計算値および重みを各々同じ重要性で組み合わせるために、カットオフを設定して第二のステップにおける同じ数のプローブセットを取得した。P値およびlog比の両方についての閾値を満たすプローブセットを有意な変化として選択した (M.J. Friedeman, et al., Nature Neurosci. 10, 1519 (2007))。その結果、443プローブおよび397プローブの発現が、X線および炭素線の各々について有意に変化したことが確認された。

【 0 0 6 0 】

20

最後に、選択したプローブを、正の \log_2 値を持つ増加遺伝子と負の \log_2 値を持つ減少遺伝子とに区分けし \log_2 値の絶対値に従ってランク付けしたところ、X線および炭素線プローブは同方向に有意に変化し(表1および図6参照)、例えばX線について増加し炭素線について増加した。X線により有意に増加し炭素線により有意に減少したプローブは見出されず、X線により有意に減少し炭素線により有意に増加したプローブは1つのみであった。

【 0 0 6 1 】

【表 1】

X-ray increased		080316 version			
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value	
1	205626_at	MMP7	*	0.774778	0.059611
2	1559501_s_at	ZNF533	*	0.518025	0.193179
3	208172_at	IL13RA2	*	0.511648	0.039765
4	210732_s_at	LGALS8	*	0.346608	0.051439
5	208561_at	ABCC9	*	0.321231	0.045828
6	227614_at	HKDC1	*	0.276635	0.092353
7	1559433_at	LOC149773	*	0.271118	0.161795
8	228933_e_at	ID4	*	0.262948	0.025491
9	1567224_at	HMG2	*	0.262065	0.095171
10	153431_s_at	SUPT6H	*	0.256598	0.032280
11	203031_at	CA2	**	0.244555	0.148147
12	1568765_at	SERPINE1	*	0.242309	0.058433
13	240395_at	CDNA FLJ42406 fis, clone ASTRG3000452	*	0.242708	0.125662
14	238748_at	CDNA FLJ41972 fis, clone SKNMC2003987	*	0.242591	0.020623
15	206371_at	FOLR3	*	0.241833	0.159400
16	218895_s_at	GALNT12	*	0.240355	0.144400
17	219995_at	HS3ST3A1	*	0.233758	0.068456
18	223011_at	ZNF672	*	0.231699	0.157168
19	233361_at	KIAA1833	*	0.231310	0.135944
20	238495_at	CDNA FLJ41444 fis, clone BRSTN2001801	*	0.230438	0.120996
21	239812_s_at	IQCH	*	0.229319	0.090412
22	65438_at	KIAA1609	*	0.227936	0.127404
23	241252_at	ESCO2	*	0.225974	0.101318
24	1553750_s_at	FAM75B	*	0.226122	0.125499
25	1569469_e_at	LHX8	*	0.223642	0.053410
26	228570_at	BTBD11	*	0.223300	0.075462
27	244091_at	ZNF441	*	0.221982	0.188375
28	223333_s_at	ANGPTL4	*	0.217395	0.032400
29	211089_s_at	NEK3	*	0.214822	0.158255
30	223995_at	FSD1L	*	0.214500	0.126729
31	225207_at	PKD4	*	0.207827	0.064538
32	230556_at	IMMP1L	*	0.207333	0.027933
33	230695_at	HMOX1	*	0.203556	0.150291
34	208562_s_at	ABCC9	*	0.202000	0.100985
35	222509_at	ZNF672	*	0.199412	0.118512
36	213231_at	PRKAG2	*	0.198256	0.081559
37	221009_s_at	ANGPTL4	*	0.197421	0.101697
38	235292_at	FLJ32255	*	0.195870	0.140637
39	1564686_at	STAU2	*	0.194247	0.050748
40	214091_s_at	GPX3	*	0.188461	0.113310
41	227486_at	NT5E	*	0.188233	0.158005
42	205990_at	PKD4	*	0.185952	0.119272
43	213418_at	HSPA6	*	0.185323	0.153166
44	1533192_at	ZNF441	*	0.183802	0.028729
45	1557609_s_at	TBC1D12	*	0.183756	0.186133
46	1559672_s_at	C9orf93	*	0.182909	0.180822
47	232027_at	SYNE1	*	0.180564	0.147148
48	235868_at	MGEA5	*	0.179785	0.171479
49	1555292_at	FAM40B	*	0.179103	0.002304
50	1553142_at	C13orf31	*	0.178637	0.073812
51	210410_s_at	MSH5	*	0.176426	0.103116
52	215520_at	CLIC3	*	0.171826	0.196173
53	217080_s_at	HOMER2	*	0.171415	0.108125
54	1554018_at	GPNMB	*	0.171314	0.055981
55	1556911_at	Homo sapiens, clone IMAGE5483056, mRNA	*	0.166555	0.100193
56	236911_at	FAM80B	*	0.166433	0.109293
57	218864_s_at	DSCR1L2	*	0.168943	0.045976
58	230769_at	DENN2C	*	0.168943	0.101442
59	1554037_s_at	ZBTB24	*	0.168529	0.188532
60	210706_s_at	STK3	*	0.167959	0.035294
61	240259_at	STK3	*	0.167547	0.040237
62	219257_s_at	SPHK1	*	0.167505	0.090273
63	214443_at	PVR	*	0.167261	0.048827
64	213805_at	ABHD5	*	0.167035	0.050084
65	239846_at	MTHFD1	*	0.166367	0.185017
66	1556907_at	MRNA: cDNA DKFZp686A11113 (from clone DKFZp886A11113)	*	0.165225	0.141574
67	228579_at	CDNA FLJ37386 fis, clone BRAMY2026538	*	0.165171	0.046666
68	207387_s_at	GK	*	0.164771	0.064447
69	228359_at	STS-1	*	0.162232	0.172956
70	207676_at	SOX30	*	0.161974	0.149184
71	242037_at	SRY	*	0.160651	0.135722
72	210932_s_at	RNF6	*	0.160238	0.101262
73	206243_at	TIMP4	*	0.156208	0.148328
74	239835_at	KBTBD8	*	0.159066	0.122694
75	204560_at	MMP12	*	0.158361	0.083070
76	210305_at	PDE4DIP	*	0.158156	0.113395
77	204210_s_at	POY1A	*	0.156590	0.042241
78	232152_at	C6orf182	*	0.156726	0.168817
79	220740_s_at	SLC12A6	*	0.156315	0.157741
80	236794_at	C10orf78	*	0.155753	0.048844
81	239793_at	CDNA FLJ38800 fis, clone SPLEN2006875	*	0.155543	0.086114
82	205945_at	IL8R	*	0.155009	0.143403
83	212977_at	CXCR7	*	0.154089	0.147153
84	201349_at	GPX3	*	0.154342	0.161544
85	1559307_s_at	RBL1	*	0.152449	0.082795
86	223123_s_at	C1orf128	*	0.152299	0.128779
87	223315_at	NTN4	*	0.151696	0.173082
88	206943_at	TGFBRI	*	0.151000	0.121980
89	233989_x_at	ZBTB10	*	0.150904	0.133870
90	237790_at	ZBTB10	*	0.150501	0.141418
91	209292_at	ID4	*	0.149738	0.158028
92	207069_s_at	SMAD6	*	0.149014	0.109202
93	204796_at	EML1	*	0.148873	0.104648
94	235315_at	TSC22D1	*	0.147978	0.192542
95	1556429_s_at	WDR67	*	0.147898	0.147736
96	241725_at	E2F7	*	0.146791	0.050691
97	212465_at	SPRED2	*	0.146279	0.006436
98	224453_s_at	ETNK1	*	0.145571	0.045064
99	210286_s_at	SLC4A7	*	0.145550	0.027652
100	216549_s_at	TBC1D22B	*	0.145382	0.083581
101	235780_at	PRKACB	*	0.144596	0.088785
102	218739_at	ABHD5	*	0.144342	0.063363
103	242206_at	ABHD5	*	0.144249	0.073212
104	230748_at	SLC16A6	*	0.143598	0.055883
105	216699_s_at	SKAP2	*	0.143527	0.101958
106	227403_at	FIGX	*	0.143396	0.031760
107	204361_s_at	SKAP2	*	0.143385	0.038299
108	230427_s_at	BAG5	*	0.143190	0.133814
109	208534_s_at	FLJ21767	///	0.140893	0.111151
110	235295_at	CDNA FLJ31436 fis, clone NT2NE200636	*	0.139104	0.134911
111	202438_s_at	IDS	*	0.138270	0.048164
112	1566603_s_at	RPUSD3	*	0.138231	0.096306

10

20

30

40

X-ray increased		080316 version			
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value	
113	236514_at	ACOT8	*	0.137463	0.140844
114	205885_s_at	ITGA4		0.137412	0.019282
115	222776_at	FLJ0292		0.136420	0.181664
116	242596_at	FSD1L		0.136257	0.122993
117	235559_at	NHLRC2		0.136139	0.132101
118	214245_at	RPS14		0.135576	0.189742
119	236672_at			0.135505	0.140847
120	239642_at	CDNA FLJ38546 fis, clone HCHON2001646		0.134787	0.177051
121	1554295_x_at	TTBK2	*	0.134521	0.097883
122	1554607_at	CNKSR2	*	0.134351	0.100262
123	204859_s_at	RDX		0.134301	0.155800
124	210436_at	CCT8		0.134239	0.137986
125	228432_at	RAB3IP		0.133518	0.130403
126	213935_at	ABHD5		0.133915	0.116045
127	240269_at			0.133524	0.175347
128	242336_at	MRNA; cDNA DKFp686L15210 (from clone DKFp686L15210)	*	0.133309	0.042689
129	241666_at	C3orf23		0.132986	0.117844
130	205411_at	STK4	*	0.132924	0.170761
131	231791_at	ASAH2		0.132806	0.164840
132	240870_at	DAB2		0.131485	0.103961
133	231962_at	AP4B1	*	0.131170	0.167896
134	220484_at	MCOLN3		0.130153	0.133165
135	239464_at	ANKRD36	/// KIAA1641 /// ankyrin repeat domain 36 /// similar to ankyrin repeat domain 36 /// similar to protein immuno-reacti	0.129934	0.068609
136	205884_at	ITGA4		0.129798	0.139131
137	241745_at			0.129241	0.103362
138	1553284_s_at	LMLN		0.129071	0.113957
139	1554053_at	NPL1	*	0.128960	0.076546
140	223634_at	RASD2	*	0.128174	0.110131
141	231102_at	CROT		0.128092	0.160652
142	217655_at	FXYS5		0.127750	0.127868
143	207501_s_at	FGF12		0.127687	0.068189
144	235548_at	APODD1L		0.127614	0.110073
145	218928_s_at	KIAA0892	*	0.127310	0.162914
146	227216_at	RLTFR		0.126756	0.139789
147	223143_s_at	C1orf166		0.126689	0.062443
148	214581_x_at	TNFRSF21	*	0.126576	0.178581
149	1569241_e_at	ZNF93		0.126333	0.037610
150	219901_at	FGD6		0.125173	0.197560
151	232056_s_at	C15orf41		0.124751	0.069880
152	209189_at	FOS	*	0.124727	0.081476
153	211431_at	TYRO3	*	0.124376	0.008736
154	220550_at	FBXO4	*	0.123917	0.069170
155	232958_at			0.123929	0.125762
156	204151_x_at	AKR1C1		0.122253	0.047407
157	1568801_at	C15orf44		0.121828	0.199715
158	230275_at	ARSI	*	0.121809	0.124611
159	227719_at			0.121778	0.040937
160	220380_at	AGEL2		0.121520	0.129161
161	207058_at	SLC16A6	*	0.121436	0.137127
162	244069_at			0.120952	0.054572
163	233964_at			0.120941	0.106911
164	228415_at			0.120588	0.088273
165	242639_at			0.120414	0.160501
166	244025_at		*	0.119899	0.186396
167	214409_at	RFPL35		0.119030	0.156297
168	218353_at	RG55		0.118970	0.078081
169	242626_at			0.118830	0.148089
170	208677_at	PRKCI		0.118321	0.053551
171	219499_at	SEC61A2		0.117870	0.042480
172	222951_s_at	ANKRD5		0.117843	0.116602
173	1554649_at			0.117779	0.161323
174	209765_at	ADAM19		0.117630	0.160393
175	215286_s_at	PHTF2		0.116992	0.077398
176	257400_at	ATP5C5		0.116436	0.030339
177	210455_at	C10orf28		0.116351	0.107891
178	220698_at	PROO478		0.115684	0.023908
179	224495_at	TMEM107	*	0.115476	0.168551
180	228643_at			0.115413	0.191327
181	1556588_at	C15orf37		0.114259	0.157978
182	47553_s_at	DFNB31		0.113706	0.191376
183	234409_at	ZNF354C		0.113574	0.118146
184	221943_s_at	KIAA1609		0.113390	0.180331
185	214786_at	NAP3K1		0.113079	0.118001
186	213030_s_at	PLXNA2	*	0.113031	0.061539
187	210021_s_at	CCNU	*	0.112882	0.058685
188	220122_at	MCTP1		0.112499	0.112244
189	1553991_s_at	FLJ20674		0.112487	0.124490
190	201044_x_at	DUSP1		0.111576	0.182147
191	229332_at	IL6R		0.111458	0.107310
192	1559222_at			0.111328	0.050672
193	209010_s_at	TRIO		0.111101	0.067202
194	223881_at	NIN		0.110855	0.080810
195	215966_x_at	GK9P		0.110831	0.053322
196	244096_at			0.110624	0.190334
197	211823_s_at	PXN		0.110401	0.055001
198	205132_at	ACTC1	*	0.110391	0.178922
199	229084_s_at			0.110023	0.125656
200	227163_at	GSTO2	*	0.109857	0.135648
201	1550009_at	PEX13		0.109299	0.190488
202	232200_at	HSPA9		0.109267	0.192982
203	238662_at	ATPBD4		0.108958	0.082759
204	1555446_s_at	TMEM1		0.108719	0.077622
205	219736_at	TRIM36		0.108574	0.037292
206	1567066_at	LUC7L		0.108524	0.150527
207	1553155_x_at	ATP6V0D2		0.108421	0.144785
208	214270_s_at	MAPRE3	*	0.108387	0.168948
209	238803_at	HECTD2		0.108324	0.050404
210	210910_s_at	POMZP3		0.108228	0.064188
211	1557701_s_at	POLH	*	0.108103	0.043395
212	216283_s_at	PVR		0.107573	0.023131
213	223640_at	CRYGS		0.107519	0.158191
214	223789_s_at	GTPBP2	*	0.107323	0.158282
215	236375_at			0.106871	0.073896
216	236517_at			0.106281	0.114127
217	243225_at	LOC283481	*	0.106275	0.182290
218	1554757_e_at	INPP5A	*	0.106232	0.120281
219	208180_s_at	HIST1H4H	*	0.106021	0.111895
220	236262_at		*	0.105660	0.028210
221	205106_at	MTOP1		0.105650	0.195549
222	205607_s_at	SKP2		0.105216	0.075374

10

20

30

40

X-ray decreased		080316 version			
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value	
1	221898.at	DENN2A	*	-0.490858	0.037300
2	222717.at	SDPR	*	-0.470996	0.139860
3	236284.at	LPHN3	*	-0.468902	0.010908
4	209885.s.at	LPHN3	*	-0.467563	0.125233
5	1558049_x.at			-0.423152	0.124582
6	219919.at	DIRAS2	*	-0.388342	0.181482
7	206385.s.at	ANKK3	*	-0.378875	0.125169
8	211728.s.at	FMO2	*	-0.375495	0.033049
9	235503.at		*	-0.366843	0.046750
10	209031.at	CADM1	*	-0.363756	0.170910
11	210073.at	ST8SIA1	*	-0.353723	0.039379
12	218399.s.at	CCL2	*	-0.325265	0.132190
13	238906.s.at	RHOJ	*	-0.315998	0.157366
14	155223.at	RHOJ	*	-0.309130	0.166552
15	212558.at	SPRY1	*	-0.300284	0.045514
16	235385.at		*	-0.293768	0.055386
17	225016.at	APCDD1	*	-0.285674	0.071339
18	155926.s.at	FLJ45187	///	-0.284430	0.028898
19	212098.s.at	MTUS1	*	-0.281638	0.154457
20	223629.at	PCDH5	*	-0.281370	0.126772
21	235489.at	RHOJ	*	-0.276180	0.078119
22	229357.at	ADAMTS5	*	-0.269458	0.093876
23	209032.s.at	CADM1	*	-0.265182	0.146559
24	232523.at	NEGF1D	*	-0.265291	0.110573
25	212030.s.at	ARHGAP24	*	-0.263558	0.087711
26	225975.at	PCDH18	*	-0.259847	0.119127
27	230708.at	PRICKLE1	*	-0.256834	0.104318
28	228218.at		*	-0.255914	0.056353
29	1554788.at	C20orf32	*	-0.255674	0.070959
30	236859.at	RUNX2	*	-0.252386	0.158920
31	209583.s.at	CD200	*	-0.249070	0.155649
32	226814.at	ADAMTS9	*	-0.246481	0.194544
33	206022.at	NDP	*	-0.245872	0.151434
34	1561816_s.at	SLOCBA1	*	-0.245641	0.024293
35	236442.at	DPF3	*	-0.244723	0.098328
36	235763.at	SLC44A5	*	-0.244676	0.037547
37	220482.at	ST6GALNAC5T8	*	-0.243539	0.065366
38	207558.s.at	PITX2	*	-0.241486	0.027990
39	210587.at	INHBE	*	-0.241397	0.141459
40	221885.at	DENN2A	*	-0.238424	0.168923
41	220979.s.at	ST6GALNAC5T8	*	-0.239090	0.164619
42	219700.at	PLXDC1	*	-0.235683	0.057682
43	213125.at	OLFM12B	*	-0.234711	0.191598
44	215092.s.at	NFAT5	*	-0.232171	0.088123
45	204802.at	RRAD	*	-0.230781	0.174817
46	244849.at	SEMA3A	*	-0.229970	0.151214
47	219935.s.at	ADAMTS5	*	-0.229002	0.168645
48	1554447.at	LOC554203	*	-0.227384	0.103993
49	236386.at	SUZ12P	*	-0.225867	0.059257
50	242236.at		*	-0.224947	0.164542
51	204917.s.at	MLLT3	*	-0.222217	0.184554
52	228268.at	FMO2	*	-0.221207	0.128742
53	222556.at	ALG5	*	-0.220429	0.104469
54	209030.s.at	CADM1	*	-0.220420	0.131392
55	229326.s.at		*	-0.219365	0.068701
56	212965.s.at	COL14A1	**	-0.212708	0.097613
57	237865_x.at		*	-0.211635	0.064528
58	229912.at	SDK1	*	-0.211342	0.045436
59	235518.at	SLOCBA1	*	-0.208349	0.100889
60	240725.at		*	-0.207853	0.051676
61	225992.at	ZNRF1	*	-0.203829	0.143377
62	211488.s.at	ITGB8	*	-0.203629	0.141118
63	242362.at		*	-0.203529	0.067951
64	223557_s.at	TMEFF2	*	-0.201591	0.198050
65	229975.at		*	-0.199219	0.125496
66	242258.at		*	-0.199068	0.139973
67	239592.at	PML	*	-0.197163	0.115226
68	231138.at	PCDH7	*	-0.195191	0.173713
69	210282.at	ZMYM2	*	-0.194850	0.177582
70	1554522.at	CNNM2	*	-0.194437	0.139587
71	225801.at		*	-0.193138	0.146717
72	229706.at	TCERG1	*	-0.192744	0.131077
73	53931.at	DENN2A	*	-0.190670	0.103214
74	211103.s.at	HTR2A	*	-0.189439	0.031292
75	205893.at	NLGN1	*	-0.188684	0.038891
76	209470_s.at	GPM6A	*	-0.188675	0.150167
77	218711.s.at	SDPR	*	-0.187483	0.126928
78	207135.at	HTR2A	*	-0.186141	0.153622
79	223422.s.at	ARHGAP24	*	-0.185952	0.059074
80	204455.at	DST	*	-0.184669	0.140552
81	212093.s.at	MTUS1	*	-0.182868	0.126750
82	207012.at	MMP16	*	-0.178928	0.164304
83	211296.s.at	ALB	*	-0.177880	0.195063
84	235050.at	SLC2A12	*	-0.177708	0.096046
85	235581.at		*	-0.176711	0.112592
86	230130.at	SLIT2	*	-0.176332	0.084876
87	236330.at		*	-0.175306	0.187914
88	206237_s.at	NRG1	*	-0.172074	0.189189
89	228850.s.at		*	-0.171879	0.181186
90	240637.at	WDR41	*	-0.171765	0.088209
91	235977.at	LONRF2	*	-0.171392	0.064237
92	230212.at	LOC728345	///	-0.168049	0.189230
93	210357_s.at		*	-0.166888	0.190325
94	235009.at	FAM44A	*	-0.166496	0.026541
95	230996.at		*	-0.166020	0.124087
96	1569338_a.at	LMO3	*	-0.165784	0.103939
97	232921.at	LOC286025	*	-0.165287	0.174242
98	235761.at		*	-0.164824	0.148222
99	209592_s.at	CD200	*	-0.164176	0.072477
100	235213.at	ITPKB	*	-0.161636	0.017990
101	226438.at	PAPLN	*	-0.161088	0.077407
102	243233.at		*	-0.160735	0.035239
103	233204.at	FLJ11903	*	-0.158439	0.210264
104	242442_x.at	R99MTD2	*	-0.158282	0.064004
105	213411.at		*	-0.158102	0.158294
106	238718.at		*	-0.157860	0.077029
107	228108.at		*	-0.156617	0.192829
108	206026_s.at	TNFAIP6	*	-0.156390	0.148782
109	244163.at	SEMA3A	*	-0.155186	0.159870
110	1565579.at		*	-0.154076	0.174461
111	209747.at	TGFβ3	*	-0.154016	0.068198
112	226065.at	PRICKLE1	*	-0.152899	0.082702

10

20

30

40

【 0 0 6 4 】

ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value
113	226189.at	ITGB8 integrin, beta 8	-0.149530	0.192865
114	228964.at	PRDM1 PR domain containing 1, with ZNF domain	-0.149075	0.090111
115	235371.at	GLTBD4 glycosyltransferase 8 domain containing 4	-0.149080	0.178987
116	1559985.at	CDNA clone IMAGE4811567	*	0.034661
117	204803.s.at	Ras-related associated with diabetes	-0.147744	0.124011
118	243898.at	RRAD MRNA: cDNA DKFZp686E1944 (from clone DKFZp686E1944)	-0.147126	0.138158
119	203723.at	ITPKB inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B	-0.147062	0.182896
120	208241.at	NRG1 neuregulin 1	-0.146344	0.199270
121	220301.at	CGCIC102B coiled-coil domain containing 102B	-0.145343	0.184777
122	219230.at	TMEM100 transmembrane protein 100	-0.145257	0.086486
123	228540.at	MAP2 microtubule-associated protein 2	-0.144431	0.109062
124	238873.at	Clone TEC.AC1131882-001 REV mRNA sequence	-0.142296	0.033677
125	226791.at	CDNA clone IMAGE5273964	-0.141025	0.193598
126	238545.at	ESCO1 establishment of cohesion 1 homolog 1 (S. cerevisiae)	-0.140577	0.056282
127	204010.s.at	KRAS v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog	-0.140536	0.175508
128	222313.at	Transcribed locus	-0.140462	0.155883
129	212831.at	MEGF9 multiple EGF-like-domains 9	-0.139995	0.139130
130	208451.s.at	C4A /// C4i complement component 4A (Rodgers blood group) /// complement component 4B (Chido blood group)	-0.139263	0.071805
131	226775.at	ENY2 Enhancer of yellow 2 homolog (Drosophila)	-0.139202	0.010216
132	1585234.a.at	RHOJ ras homolog gene family, member J	-0.138969	0.081944
133	209466.at	LOC344595 hypothetical LOC344595	-0.138960	0.033877
134	241100.at	Transcribed locus	-0.138874	0.198420
135	231136.at	Transcribed locus	-0.138748	0.032914
136	231240.at	DIO2 deiodinase, iodothyronine, type II	-0.138425	0.023748
137	236692.at	LOC729839 similar to DTW domain containing 2	-0.137095	0.124768
138	201505.at	LAMB1 laminin, beta 1	-0.137079	0.122292
139	211621.at	AR androgen receptor (dihydrotestosterone receptor; testicular feminization; spinal and bulbar muscular atrophy; Kennedy	-0.136810	0.190830
140	229180.at	MUM1L1 melanoma associated antigen (mutated) 1-like 1	-0.136369	0.170477
141	232720.at	LING2 Leucine rich repeat and Ig domain containing 2	-0.135929	0.171086
142	223098.s.at	MYLP1 myosin regulatory light chain interacting protein	-0.135584	0.029538
143	232655.at	CDNA FLJ1399 fs, clone DOL03627	-0.135430	0.045310
144	1589512.at	Homo sapiens, clone IMAGE4294265, mRNA	-0.135345	0.052979
145	214428.x.at	C4A /// C4i complement component 4A (Rodgers blood group) /// complement component 4B (Chido blood group)	-0.135159	0.172177
146	213075.at	OLFML2A orfamide-like 2A	-0.135022	0.062827
147	1557478.at	CDNA FLJ25058 fs, clone CBL04608	-0.134509	0.076887
148	239099.at	CMTM8 CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 8	-0.134502	0.151771
149	229030.at	RBM5 RNA binding motif protein 5	-0.134459	0.051179
150	227839.at	MBD5 methyl-CpG binding domain protein 5	-0.134363	0.144413
151	229413.at	Transcribed locus	-0.133933	0.062824
152	221234.s.at	BACH2 BTB and CNC homology 1, basic leucine zipper transcription factor 2	-0.133837	0.140943
153	1556896.s.at	FLJ42709 Hypothetical gene supported by AK124699	-0.133369	0.186766
154	206693.at	IL7 interleukin 7	-0.132802	0.132829
155	232729.at	Transcribed locus	-0.132706	0.155981
156	203905.at	RHOJ ras homolog gene family, member J	-0.131719	0.098953
157	206557.at	ZNF702 zinc finger protein 702	-0.131567	0.093209
158	213574.at	ZNF702 zinc finger protein 702	*	0.064957
159	217394.at	TRA9F 1-Membrane-associated ring finger (C3HC4) 1	-0.129890	0.075299
160	205481.at	ADORA1 adenosine A1 receptor	-0.128788	0.133090
161	158184.s.at	ZNF17 zinc finger protein 17	-0.128234	0.122681
162	202815.s.at	HEXIM1 hexamethylene bis-acetamide inducible 1	-0.128200	0.068981
163	211388.s.at	CASP1 caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1, beta, convertase)	-0.127334	0.070218
164	210454.s.at	KCNJ6 potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 6	-0.126824	0.127494
165	247134.at	Transcribed locus	-0.126589	0.189460
166	235388.at	CHD9 chromodomain helicase DNA binding protein 9	-0.126400	0.063697
167	233730.at	Transcribed locus	-0.126353	0.111533
168	241620.at	SMCHD1 structural maintenance of chromosomes flexible hinge domain containing 1	-0.126314	0.050270
169	235616.at	TSZH2 Teashirt family zinc finger 2	-0.125986	0.158792
170	203973.s.at	CEBPD CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta	-0.125176	0.179478
171	227775.at	BRUNOL6 bruno-like 6, RNA binding protein (Drosophila)	-0.123439	0.082159
172	238852.at	Transcribed locus	-0.123185	0.066205
173	228400.at	SHROOM3 shroom family member 3	-0.121850	0.162019
174	228436.at	RASSF4 Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 4	-0.121936	0.100231
175	218976.at	DNAJC12 DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 12	-0.120477	0.171029
176	242979.at	Transcribed locus	-0.120253	0.087350
177	235352.at	LOC729970 Hypothetical protein LOC729970	-0.120083	0.024483
178	208543.s.at	CD34 CD34 molecule	-0.118905	0.071815
179	202510.s.at	TNFAIP2 tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2	-0.119619	0.097283
180	230803.s.at	ARHGAP24 Rho GTPase activating protein 24	-0.119485	0.132589
181	228329.at	Transcribed locus	-0.119079	0.066051
182	202350.s.at	MATN2 matrilin 2	-0.118868	0.189538
183	239613.at	PLEKHA2 pleckstrin homology domain containing, family A (phosphoinositide binding specific) member 2	-0.118011	0.181849
184	212890.at	Clone 24571 mRNA sequence	-0.117196	0.121672
185	232826.at	CDNA FLJ11400 fs, clone HEMBA1000673	-0.117142	0.070382
186	1588946.a.at	Full length insert cDNA clone ZD90B10	-0.116632	0.194976
187	211586.s.at	LRIG1 leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 1	-0.116115	0.140008
188	235299.at	Transcribed locus	-0.115647	0.185936
189	240190.at	Transcribed locus	-0.115477	0.100196
190	230741.at	Full length insert cDNA clone YX74D05	-0.115389	0.067085
191	218691.s.at	PDLIM4 PDZ and LIM domain 4	-0.115229	0.150221
192	202708.s.at	HIST2H2BE histone cluster 2, H2be	-0.115208	0.104786
193	229872.s.at	LOC642441 hypothetical LOC642441 /// hypothetical protein LOC730256 /// hypothetical protein LOC730257	-0.115074	0.184930
194	235131.at	RHOJ ras homolog gene family, member J	-0.115045	0.061164
195	204069.at	MEIS1 Meis homeobox 1	-0.114920	0.089217
196	227454.at	TAK1 TAO kinase 1	-0.114666	0.187943
197	1559986.a.at	CDNA clone IMAGE4811567	-0.113775	0.124593
198	240479.at	HS3ST5 heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5	-0.113846	0.124688
199	205433.at	BOHE butyrylcholinesterase	-0.113588	0.026025
200	223044.at	SLC40A1 solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-0.113525	0.186672
201	230958.s.at	Transcribed locus	-0.113524	0.185979
202	1589293.x.at	C9orf14 Chromosome 9 open reading frame 14	-0.113339	0.140727
203	218502.s.at	TRPS1 trichorhinophalangeal syndrome 1	-0.113044	0.117773
204	218759.at	LRAP leukocyte-derived arginine aminopeptidase	-0.113009	0.021474
205	229334.at	Transcribed locus	-0.112820	0.151280
206	241489.at	Transcribed locus	-0.112592	0.004452
207	218589.at	P2RY5 purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 5	-0.112490	0.128444
208	230305.at	Transcribed locus	-0.112432	0.195550
209	1559369.at	FLJ13611 hypothetical protein FLJ13611	-0.111930	0.088413
210	243548.at	Transcribed locus	-0.111779	0.057461
211	49308.at	RASSF4 Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 4	-0.110682	0.144333
212	219077.s.at	WWOX WW domain containing oxidoreductase	-0.110484	0.071627
213	219370.at	RPRM repressin, TP53 dependent G2 arrest mediator candidate	-0.109773	0.148833
214	229449.at	CDNA FLJ36553 fs, clone TRACH2008478	-0.109533	0.153788
215	225548.at	SHROOM3 shroom family member 3	-0.109122	0.144056
216	239742.at	TULP4 Tubby like protein 4	-0.107906	0.058214
217	212650.at	EHPB1 EH domain binding protein 1	-0.106679	0.156326
218	1582058.at	CDNA FLJ35061 fs, clone PLACE6005786	-0.106435	0.055319
219	233548.at	Clone IMAGE35115, mRNA sequence	-0.106425	0.044529
220	240044.x.at	TNRC6B Trinucleotide repeat containing 6B	-0.106328	0.129634
221	229396.at	Transcribed locus	-0.106113	0.161848
			-0.105376	0.070292

Carbon increased			080316 version		
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value	
1	205826_at	MMP3	*	0.7163	0.104285517
2	1555601_s_at	ZNF533	*	0.3965	0.080724068
3	206172_at	IL13RA2	*	0.3814	0.105503269
4	226228_at	AQP4	*	0.3519	0.043513231
5	226933_s_at	ID4	*	0.3441	0.02858474
6	210732_s_at	LGALS8	*	0.3124	0.05074257
7	228143_at		*	0.2898	0.155140913
8	1555800_at	ZNF533	*	0.2893	0.054501608
9	206969_at	KRT34	*	0.2891	0.193525734
10	238495_at	LOC283481	*	0.2834	0.068841428
11	223821_s_at	SUSD4	*	0.2833	0.178717715
12	226956_at	AFAP1L1	*	0.2803	0.108769927
13	205081_at	CRIP1	*	0.2782	0.130745469
14	218885_s_at	GALNT12	*	0.2715	0.085352391
15	39248_at	AQP3	*	0.2695	0.107486782
16	210166_at	TLR5	*	0.2629	0.044910108
17	243225_at	LOC283481	*	0.2617	0.026771443
18	204546_at	CP	*	0.2557	0.149721238
19	1558034_s_at	CP	*	0.2536	0.190971909
20	222482_at	LOC401002	*	0.2410	0.127627345
21	219232_s_at	EGLN3	*	0.2393	0.19494152
22	230425_at	EPHB1	*	0.2378	0.186130154
23	202291_s_at	MGP	*	0.2356	0.122681753
24	219529_at	CLIC3	*	0.2353	0.021679184
25	210305_at	PDE4DIP	*	0.2349	0.064045268
26	209189_at	FOS	*	0.2281	0.017347551
27	209180_s_at	HIST1H4H	*	0.2254	0.000814225
28	230556_at	IMMP1L	*	0.2246	0.115489645
29	1553750_s_at	FAM76B	*	0.2211	0.076341312
30	201744_s_at	LUM	*	0.2210	0.160144385
31	1554311_s_at	SUP18H	*	0.2207	0.141538914
32	1554195_s_at	MGC23965	*	0.2191	0.087207658
33	223333_s_at	ANGPTL4	*	0.2184	0.045583721
34	220415_at	TNNI3K	*	0.2156	0.119463259
35	202376_at	SERPINA3	*	0.2122	0.150375227
36	1569603_s_at	RPUSD3	*	0.2117	0.137881579
37	1557636_s_at	LOC136288	*	0.2107	0.191933253
38	205960_at	PDK4	*	0.2102	0.037241446
39	236428_at		*	0.2091	0.144675646
40	223655_at	SSBP3	*	0.2093	0.093003521
41	211959_at	IGFBP5	*	0.2076	0.160894654
42	242112_at	LSM11	*	0.2087	0.109820753
43	225207_at	PDK4	*	0.2053	0.051515663
44	1554165_at	LOC554206	*	0.2042	0.120795903
45	238646_at		*	0.2032	0.04283387
46	235916_at	YPEL4	*	0.2002	0.184057637
47	221009_s_at	ANGPTL4	*	0.1985	0.108848688
48	212971_at	CXCR7	*	0.1979	0.14834318
49	227614_at	HKDC1	*	0.1958	0.116801401
50	229346_at	CRSP3	*	0.1954	0.140252489
51	1556414_at	C21orf71	*	0.1940	0.03437548
52	211165_s_at	EPHB2	*	0.1929	0.141300081
53	242517_at	KISS1R	*	0.1922	0.06481371
54	240509_s_at	GREM2	*	0.1910	0.111915283
55	235874_s_at	SRS25	*	0.1909	0.199034659
56	211919_s_at	CXCR4	*	0.1801	0.12282097
57	224495_at	TMEM107	*	0.1800	0.04901075
58	243551_at		*	0.1888	0.018434544
59	238623_at		*	0.1868	0.065229801
60	242206_at		*	0.1853	0.01015899
61	239812_s_at	IQGJ	*	0.1831	0.097155127
62	214091_s_at	GEPX3	*	0.1847	0.123184767
63	1554739_at	IPP	*	0.1845	0.052578925
64	204380_s_at	FGFR3	*	0.1830	0.177112479
65	207361_at	HBP1	*	0.1823	0.169238208
66	222847_s_at	EGLN3	*	0.1822	0.168117353
67	201860_s_at	PLAT	*	0.1818	0.11753759
68	217028_at	CXCR4	*	0.1811	0.111015283
69	1553375_s_at	C1orf125	*	0.1799	0.08718485
70	203304_at	EMIP	*	0.1788	0.122274612
71	227183_at	GSTO2	*	0.1782	0.104183746
72	208534_s_at	FLJ21767	*	0.1772	0.112328086
73	203683_at	MAF	*	0.1762	0.087662862
74	200986_at	SERPING1	*	0.1753	0.12286669
75	212353_at	SULF1	*	0.1752	0.060212924
76	202898_at	TNFSF10	*	0.1739	0.115863303
77	236529_at		*	0.1737	0.071404272
78	203495_at	RTN1	*	0.1732	0.015401646
79	227403_at	PIGX	*	0.1725	0.043215544
80	202552_at	SERPINI1	*	0.1714	0.136038518
81	220740_s_at	SLOC12A6	*	0.1712	0.115871732
82	217891_s_at	SSBP3	*	0.1710	0.044534844
83	235228_at	CCDC85A	*	0.1708	0.027091713
84	203292_at	ID4	*	0.1704	0.119495808
85	242625_at	RSAD2	*	0.1701	0.113818033
86	230598_at		*	0.1690	0.154368657
87	230088_at		*	0.1678	0.074886172
88	218549_s_at	TBC1D22B	*	0.1676	0.025438598
89	207056_s_at	SLC4A8	*	0.1671	0.124051512
90	230498_at	MCHR1	*	0.1669	0.043794171
91	239846_at	MTHFD1	*	0.1658	0.134958477
92	229839_at	EIF4E3	*	0.1641	0.110309568
93	211078_s_at	STK3	*	0.1636	0.128235336
94	201508_at	IGFBP4	*	0.1635	0.054404528
95	205159_at	CA9	*	0.1620	0.189678393
96	230898_at		*	0.1619	0.128055701
97	204751_s_at	DSC2	*	0.1615	0.154216958
98	204966_at	BAI2	*	0.1610	0.131919731
99	256209_s_at	CA4	*	0.1610	0.108202339
100	238474_at	NUP43	*	0.1600	0.18931267
101	240603_s_at	EXOD1	*	0.1599	0.014380245
102	236514_at	ACOT8	*	0.1586	0.085373981
103	1556487_s_at	C3orf15	*	0.1580	0.165052327
104	219864_s_at	DSGR1L2	*	0.1578	0.117049987
105	228750_at		*	0.1575	0.142284743
106	212466_at	SPRED2	*	0.1571	0.004573027
107	217060_s_at	HOMER2	*	0.1569	0.125193912
108	238658_at		*	0.1566	0.187824592
109	204654_s_at	TFAP2A	*	0.1557	0.170271354
110	224495_s_at	TMEM107	*	0.1551	0.027044062
111	204379_s_at	FGFR3	*	0.1545	0.073531301
112	230577_at		*	0.1540	0.125034865

10

20

30

40

【 0 0 6 6 】

Carbon increased			080316 version		
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value	
113	204210_s_at	PCYT1A	*	0.1536	0.073933112
114	1564240_at	CDNA FLJ38408 fis, clone FEBRA2009029		0.1531	0.13555481
115	219395_at	FLJ14213		0.1528	0.149388888
116	210030_s_at	ERBB2		0.1528	0.119311109
117	231962_at	AP4B1		0.1526	0.091190856
118	228501_at	GALNTL2		0.1517	0.086900158
119	210045_at	IDH2		0.1514	0.041559205
120	223143_s_at	C6orf166	*	0.1511	0.065250054
121	214270_s_at	MAPRE3		0.1510	0.102412622
122	218634_at	CHST11		0.1509	0.112471576
123	216926_s_at	KIAA0892	*	0.1497	0.178396771
124	205158_at	RNASE4		0.1498	0.106478784
125	208201_x_at	CXCR4		0.1496	0.126783182
126	229279_at			0.1474	0.135174921
127	207819_s_at	FDXR		0.1465	0.186329051
128	229018_at	ZNF533		0.1455	0.038727446
129	206084_at	PTPRR		0.1453	0.077111818
130	213208_at	TAF6L		0.1451	0.147399208
131	207069_s_at	SMAD6	*	0.1447	0.098676398
132	1560284_at	CDNA clone IMAGE5271145		0.1443	0.083557503
133	212182_at	NUD14 /// nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 4 /// nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type		0.1443	0.170582457
134	235282_at	FLJ32355	*	0.1443	0.120957492
135	241934_at	XDH		0.1440	0.103788271
136	209991_s_at	FKBP1B		0.1439	0.060358892
137	1556488_s_at	C3orf15		0.1433	0.11504361
138	212865_s_at	COL14A1	**	0.1430	0.063849138
139	230275_at	ARSI	*	0.1428	0.130905064
140	1559045_at	CDNA FLJ37541 fis, clone BRCAN2026340		0.1428	0.132953652
141	1568765_at	SERPINE1	*	0.1419	0.136114543
142	209589_s_at	EPHB2		0.1414	0.028859717
143	202718_at	IGFBP2		0.1410	0.078840317
144	1557701_s_at	POLH	*	0.1402	0.034687515
145	231082_at			0.1402	0.117955422
146	217885_at	SLC18A3		0.1399	0.108338321
147	213555_at			0.1399	0.165338437
148	210222_s_at	RTN1		0.1388	0.115745785
149	216322_at	CD58		0.1388	0.172943276
150	238794_at	C10orf78	*	0.1387	0.082921496
151	241986_at	BMPER	*	0.1386	0.156895127
152	1564653_at	SPPLC1		0.1385	0.097355184
153	1556834_at	CDNA clone IMAGE5295106		0.1382	0.118511749
154	232152_at	C6orf182		0.1371	0.084697326
155	227216_at	RLTPR	*	0.1366	0.061728789
156	234996_at			0.1363	0.143151885
157	1555292_at	FAM40B	*	0.1358	0.170424989
158	200632_s_at	NRDGI		0.1351	0.072972771
159	223765_s_at	NRFB4		0.1349	0.068798058
160	238327_at	LOC440838		0.1348	0.014778925
161	224916_at	TMEM173		0.1346	0.156872554
162	238748_at	ZBED1	*	0.1340	0.100481508
163	1554821_s_at	TAF13		0.1339	0.151953764
164	205966_at	TAF13		0.1339	0.145716212
165	223790_at	KAINAL1		0.1335	0.099012088
166	207824_s_at	MAZ		0.1328	0.075014129
167	204452_s_at	FZD1		0.1328	0.185101747
168	228296_at	YPEL1		0.1321	0.192101948
169	823_at	CX3CL1		0.1319	0.172098865
170	225941_at	EIF4E3		0.1314	0.028147746
171	1554830_s_at	STEAP3	*	0.1313	0.154233379
172	204280_at	CHGB		0.1299	0.170398931
173	236282_at		*	0.1285	0.14030004
174	1552665_at	MGC14425		0.1294	0.066028295
175	223371_s_at	DNAJC4		0.1290	0.186296126
176	235378_at			0.1289	0.102382661
177	244025_at		*	0.1283	0.148579237
178	215059_at			0.1274	0.159674177
179	227352_at	C19orf39		0.1272	0.169245611
180	1552631_s_at	MAP3K6		0.1270	0.119058213
181	228550_at	RTN4R		0.1255	0.165123356
182	1556301_at			0.1254	0.149898004
183	205945_at	IL6R	*	0.1254	0.179073975
184	1560407_at	MARK1		0.1250	0.185610656
185	235548_at	AFCD1L		0.1249	0.155591333
186	220457_at	ZNF214	*	0.1240	0.127308035
187	207387_s_at	GK	*	0.1237	0.049714685
188	231098_at			0.1235	0.066632645
189	218279_s_at	HIST2HZAA		0.1235	0.067980855
190	227486_at	NT5E		0.1234	0.136022202
191	229678_at	LOC728431		0.1234	0.104922482
192	205141_at	ANG		0.1233	0.136883417
193	202438_x_at	IDS	*	0.1233	0.11688023
194	206782_s_at	DNAJC4		0.1232	0.164326729
195	203920_at	NRIH3		0.1229	0.083557959
196	210675_s_at	PTPRR		0.1226	0.10979006
197	219257_s_at	SPHK1	*	0.1225	0.122376784
198	235277_at	AMOTL1		0.1224	0.049183242
199	210021_s_at	CENLU		0.1222	0.030725055
200	1562048_at	LOC152225		0.1221	0.188070186
201	223634_at	RASD2		0.1221	0.189181149
202	215723_s_at	PLD1		0.1220	0.038825616
203	201107_s_at	THBS1		0.1214	0.128942838
204	225342_x_at	CABC1		0.1211	0.085559947
205	222830_at	GRHL1		0.1211	0.03081573
206	227571_at			0.1210	0.028499511
207	1559307_s_at	RELI	*	0.1208	0.132958339
208	228037_at			0.1206	0.01518293
209	213030_s_at	PLXNA2	*	0.1205	0.10378815
210	212344_at	SULF1		0.1197	0.179727352
211	208978_at	CRIP2		0.1195	0.012486725
212	205132_at	ACTC1	*	0.1189	0.016538154
213	1554757_s_at	INPP5A	*	0.1188	0.065756679
214	218899_s_at	SKAP2	*	0.1177	0.179938351
215	227209_at	CNTN1	*	0.1175	0.04471423
216	211431_s_at	TYRO3	*	0.1174	0.082176995
217	242338_at		*	0.1173	0.070806428
218	213397_s_at	RNASE4		0.1172	0.180403185
219	224973_at	FAM48A		0.1170	0.073234826
220	222108_at	AMIGO2		0.1168	0.186286693
221	214286_s_at	PDLIM7		0.1166	0.020331893
222	227975_at	GPRIN1		0.1166	0.079194033
223	213529_at	ZNF689		0.1162	0.139483588
224	202091_at	ARL2BP		0.1158	0.128236383

10

20

30

40

Carbon increased			DB0316 version			
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value		
225	210410_s.at	MSH5	musS homolog 5 (E. coli)	0.1156	0.120720373	
226	202448_s.at	MEF1	MEF-1 homolog (C. elegans)	0.1155	0.074274975	
227	1553962_s.at	RHOB	ras homolog gene family, member B	0.1155	0.172964267	
228	223700.at	MND1	meiotic nuclear divisions 1 homolog (S. cerevisiae)	0.1154	0.061822809	
229	238553.at	CTGLF2	hypothetical protein LOC399761 /// hypothetical protein LOC643564 /// centsurin, gamma-like family, member 9 psi	0.1154	0.138881467	
230	1561760_s.at	LOC645513	Similar to septin 7	0.1151	0.105394831	
231	1552927.at	MAP3K7IP3	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 3	0.1150	0.158412541	
232	244069.at		Transcribed locus	*	0.1143	0.105393295
233	241599.at	LSM11	LSM11, U7 small nuclear RNA associated	0.1140	0.032521329	
234	228010.at	PPP2R2C	protein phosphatase 2 (formerly 2A), regulatory subunit B, gamma isoform	0.1137	0.144614308	
235	1554478_s.at	HEATR3	HEAT repeat containing 3	0.1134	0.033856309	
236	213241.at	PLXNC1	plexin C1	0.1129	0.144029648	
237	222856.at	APLN	apelin, AGTRL1 ligand	0.1126	0.115560449	
238	226071.at	ADAMTSL4	ADAMTS-like 4	0.1123	0.027499103	
239	1568267.at		Full length insert cDNA YR25G06	0.1120	0.152709308	
240	219360_s.at	TRPM4	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 4	0.1120	0.01725504	
241	225330.at	CCDC117	coiled-coil domain containing 117	0.1117	0.184638847	
242	229388.at		CDNA clone IMAGE:5295564	0.1116	0.057156627	
243	222857_s.at	KCNMB4	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M, beta member 4	0.1115	0.071822448	
244	205328.at	CLDN10	claudin 10	0.1113	0.172392991	
245	206724.at	CBX4	chromobox homolog 4 (Pc class homolog, Drosophila)	0.1113	0.055492573	
246	201427_s.at	SEPP1	selenoprotein P, plasma, 1	0.1109	0.166432793	
247	204041.at	MAOB	monoamine oxidase B	0.1109	0.040874297	
248	210239.at	FXR5	transmembrane protein 5	0.1109	0.115109	
249	219750.at	TMEM144	transmembrane protein 144	0.1108	0.094700662	
250	227306.at		CDNA: FLJ21245 fis. clone COL01184	0.1105	0.155168234	
251	1553402_s.at	HFE	hemochromatosis	0.1105	0.133962721	
252	236550_s.at	ZNF311	zinc finger protein 311	0.1104	0.17294239	
253	203940_s.at	VASH1	vasohibin 1	0.1102	0.023709779	
254	223548_s.at	FGFR4L1	fibroblast growth factor receptor-like 1	0.1100	0.063493363	
255	156932.at	SAMD5	alpha motif domain containing 5	0.1097	0.1158576	
256	201149_s.at	TIMP3	TIMP metalloproteinase inhibitor 3 (Sorsby fundus dystrophy, pseudoinflammatory)	0.1084	0.00945255	
257	230748.at	SLC16A6	solute carrier family 16, member 6 (monocarboxylic acid transporter 7)	* 0.1083	0.167879302	
258	1553768_s.at	DCBLD1	discoidin, CUB and LCCOL domain containing 1	0.1082	0.152204999	
259	213885_s.at	EMP1	epithelial membrane protein 1	0.1091	0.165285762	
260	1560225.at		CDNA FLJ37325 fis. clone BRAMY2018295	0.1091	0.057781286	
261	216250_s.at	LPXN	leupaxin	0.1090	0.0172529	
262	217012.at	TIMM50	translocase of inner mitochondrial membrane 50 homolog (S. cerevisiae)	0.1087	0.039876767	
263	244242.at			0.1086	0.057170867	
264	65438.at	KIAA1609	KIAA1609	* 0.1085	0.176784487	
265	230807.at	MGC20963	hypothetical protein MGC20963	0.1081	0.021802424	
266	1554295_s.at	TUBK2	tau tubulin kinase 2	* 0.1076	0.148496434	
267	209629_s.at	NXT2	nuclear transport factor 2-like export factor 2	0.1076	0.025225779	
268	215891_s.at	GM2A	GM2 ganglioside activator	0.1074	0.17722432	
269	1556706_s.at	ATOH9	Atonal homolog 9 (Drosophila)	0.1073	0.042788863	
270	205411.at	STK4	serine/threonine kinase 4	* 0.1071	0.105292908	
271	225940.at	EIF4E3	eukaryotic translation initiation factor 4E family member 3	0.1071	0.048251728	
272	226926.at	DMKN	dermokine	0.1071	0.096506767	
273	204361_s.at	SKAP2	sro kinase associated phosphoprotein 2	* 0.1070	0.029888995	
274	210077_s.at	SFRS5	splicing factor, arginine/serine-rich 5	0.1069	0.150441986	
275	243093.at	C2orf49	Chromosome 2 open reading frame 49	0.1066	0.195029272	
276	206943.at	TGFR1	transforming growth factor, beta receptor 1 (activin A receptor type II-like kinase, 53kDa)	* 0.1063	0.107181074	
277	223719_s.at	RTBDN	retbindin	0.1060	0.120593341	
278	238085.at		Transcribed locus	0.1058	0.186236133	
279	212026_s.at	EXOC7	exocyst complex component 7	0.1058	0.143721047	
280	1564607.at	CNKSR2	connector enhancer of kinase suppressor of Ras 2	* 0.1056	0.152234829	
281	214088.at	BEAN	brain expressed, associated with Nedd4	0.1056	0.036590729	
282	235534.at		CDNA clone IMAGE:5723825	0.1056	0.174222629	
283	231260.at	BCO36928	hypothetical protein BCO36928	0.1051	0.11693972	
284	211302_s.at	PDE4B	phosphodiesterase 4B, cAMP-specific (phosphodiesterase E4 dunce homolog, Drosophila)	0.1047	0.095571478	
285	203968_s.at	ODC6	cell division cycle 6 homolog (S. cerevisiae)	0.1041	0.189580598	
286	203749_s.at	RARA	retinoic acid receptor, alpha	0.1040	0.098376951	
287	37590.g.at		MRNA full length insert cDNA clone EUROIMAGE 375854 /// MRNA full length insert cDNA clone EUROIMAGE 82803	0.1035	0.093163125	
288	218739.at	ABHD5	abhydrolase domain containing 5	* 0.1035	0.139809609	
289	1554500_s.at	RGS7	regulator of G-protein signaling 7	0.1033	0.178203393	
290	235291_s.at	AHNK	AHNK nucleosprotein	0.1033	0.199087045	
291	207354.at	KDELR3	KDEL (Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 3	0.1033	0.111742132	
292	213527_s.at	ZNF658	zinc finger protein 658	0.1033	0.06605402	
293	201710.at	MYBL2	v-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)-like 2	0.1032	0.065472138	
294	227032.at	PLXNA2	plexin A2	0.1031	0.087130398	
295	1553030_s.at	SUOX	sulfite oxidase	0.1030	0.085810222	
296	209832_s.at	ODT1	chromatin licensing and DNA replication factor 1	0.1028	0.193012731	
297	1556545.at		CDNA FLJ32379 fis. clone SKMUS100030	0.1026	0.124059719	
298	212135.at	C16orf45	chromosome 16 open reading frame 45	0.1024	0.179130265	
299	235833.at	PPAT	Phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase	0.1023	0.029010755	
300	223789_s.at	GTPBP2	GTP binding protein 2	* 0.1021	0.162808461	
301	212707_s.at	FLJ21767	/// RAS p21 protein activator 4 /// hypothetical protein FLJ21767	0.1020	0.050024176	

10

20

30

【 0 0 6 8 】

Carbon decreased			080316 version	
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value
1	214664.at	PAICS phosphoribosylaminoimidazole carboxylase, phosphoribosylaminoimidazole succinocarboxamide synthetase	-0.1017	0.19566502
2	243443.at	Transcribed locus	-0.1017	0.192985674
3	228487.s.at	RREB1 Ras responsive element binding protein 1	-0.1018	0.17108901
4	217878.s.at	CDC27 cell division cycle 27 homolog (S. cerevisiae)	-0.1018	0.069453262
5	241100.at	Transcribed locus *	-0.1023	0.053274407
6	230036.at	SAMD9L sterile alpha motif domain containing 9-like	-0.1026	0.162149262
7	1560263.at	Homo sapiens, clone IMAGE4106369, mRNA	-0.1026	0.144736504
8	238070.at	CHD1L Chromodomain helicase DNA binding protein 1-like	-0.1029	0.072660024
9	224851.at	CDK6 cyclin-dependent kinase 6	-0.1033	0.10090317
10	230892.at	Transcribed locus	-0.1034	0.1776261
11	230849.at	SLOC23A3 solute carrier family 23 (nucleoside transporters), member 3	-0.1035	0.123044887
12	1557073.s.at	TTBK2 Tau tubulin kinase 2	-0.1036	0.087611932
13	242531.at	RRAGC Ras-related GTP binding C	-0.1038	0.063061699
14	228400.at	SHROOM3 shroom family member 3 *	-0.1040	0.062136126
15	236760.at	AMMECR1 Alport syndrome, mental retardation, midface hypoplasia and elliptocytosis chromosomal region, gene 1	-0.1041	0.134311322
16	201022.at	EIF5B eukaryotic translation initiation factor 5B	-0.1042	0.03184699
17	204422.s.at	FGF2 fibroblast growth factor 2 (basic)	-0.1042	0.012787674
18	220719.at	FLJ13769 hypothetical protein FLJ13769	-0.1043	0.141507263
19	1552736.s.at	NETO1 neuropilin (NRP) and tolloid (TLL)-like 1	-0.1051	0.160171347
20	210962.s.at	AKAP9 A kinase (PRKA) anchor protein (ytotao) 9	-0.1052	0.120232161
21	222252.at	CDNA FLJ34585 fis. clone KIDNE208758	-0.1055	0.191912392
22	208305.at	SEMA3A sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted. (semaphorin) 3A	-0.1059	0.148209795
23	230130.at	SLIT2 Slit homolog 2 (Drosophila) *	-0.1059	0.031114792
24	242385.at	Transcribed locus	-0.1072	0.184625226
25	242450.at	RGMB RGM domain family, member B	-0.1072	0.04328135
26	221885.at	DENND2A DENN/MADD domain containing 2A *	-0.1074	0.129259828
27	228999.at	Transcribed locus	-0.1076	0.160509456
28	233214.at	CDNA FLJ11900 fis. clone HEMBA1007341	-0.1077	0.120991339
29	243846.x.at	Transcribed locus	-0.1077	0.152022145
30	213070.at	COBL cordon-bleu homolog (mouse)	-0.1079	0.1390233
31	159311.at	SOX13 SOX (sex-determining region Y)-box 13	-0.1084	0.114624288
32	230733.at	Transcribed locus	-0.1084	0.18596222
33	228243.at	Transcribed locus	-0.1086	0.128626105
34	242812.at	TRIM26 Tripartite motif-containing 25	-0.1088	0.014766621
35	206364.at	KIF14 kinesin family member 14	-0.1089	0.160659551
36	243514.at	Transcribed locus	-0.1091	0.039087908
37	239374.at	LRRFIP1 Leucine rich repeat (in FLII) interacting protein 1	-0.1093	0.101553253
38	238984.at	Transcribed locus	-0.1095	0.190659701
39	216108.at	THRAP2 Thyroid hormone receptor associated protein 2	-0.1100	0.093709868
40	242290.x.at	CPEB4 cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4	-0.1102	0.089782607
41	1563841.at	MRNA; cDNA DKFZp547I2317 (from clone DKFZp547I2317)	-0.1107	0.091270765
42	1569293.x.at	C9orf14 Chromosome 9 open reading frame 14 *	-0.1114	0.050062965
43	230207.s.at	DOCK5 Dedicator of cytokinesis 5	-0.1124	0.191485554
44	240165.at	Transcribed locus	-0.1126	0.060795201
45	230618.s.at	BAT2D1 BAT2 domain containing 1	-0.1127	0.010749027
46	236733.at	Transcribed locus	-0.1128	0.194842122
47	233366.at	FBXO4 F-box protein 4	-0.1129	0.072483634
48	229912.at	SDK1 sidekick homolog 1, cell adhesion molecule (chicken)	-0.1129	0.057869512
49	239651.at	ANAPC5 anaphase promoting complex subunit 5	-0.1130	0.161654505
50	232156.at	Transcribed locus *	-0.1130	0.152578036
51	231240.at	DIO2 deiodinase, iodothyronine, type II	-0.1131	0.023839151
52	238585.at	CDNA clone IMAGE:5267398	-0.1133	0.108126311
53	240139.at	Transcribed locus	-0.1133	0.178627165
54	227121.at	MRNA; cDNA DKFZp586K1922 (from clone DKFZp586K1922)	-0.1134	0.199453128
55	1569112.at	SLOC44A5 solute carrier family 44, member 5	-0.1135	0.142388083
56	236010.at	Transcribed locus	-0.1141	0.085063917
57	242279.at	Transcribed locus	-0.1142	0.067424395
58	222738.at	WWC2 WW and C2 domain containing 2	-0.1143	0.182425979
59	242652.at	Transcribed locus	-0.1143	0.128152966
60	240557.at	CDNA FLJ41867 fis. clone OCBBF2005546	-0.1146	0.026163992
61	1569053.at	AP3M2 adaptor-related protein complex 3, mu 2 subunit	-0.1151	0.068762722
62	238907.at	CDNA FLJ25706 fis. clone TSTC4817	-0.1151	0.170425345
63	205383.s.at	ZBTB20 zinc finger and BTB domain containing 20	-0.1153	0.094946565
64	241913.at	Transcribed locus	-0.1154	0.183397601
65	206669.at	FLJ14082 hypothetical protein FLJ14082	-0.1155	0.155206227
66	213267.at	DOPEY1 dopey family member 1	-0.1156	0.049315076
67	232573.at	MRNA full length insert cDNA clone EUROIMAGE 2004482	-0.1159	0.135212439
68	235834.at	CALD1 Caldesmon 1	-0.1161	0.073437332
69	232489.at	CCDC76 coiled-coil domain containing 76	-0.1169	0.010050345
70	209543.s.at	CD34 CD34 molecule *	-0.1171	0.124456442
71	235696.at	SR140 U2-associated SR140 protein	-0.1172	0.170499794
72	80615.at	POLR2J4 polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J, 13.3kDa pseudogene	-0.1175	0.043643351
73	235819.at	ZNF347 zinc finger protein 347	-0.1176	0.139077646
74	155184.s.at	ZNF17 zinc finger protein 17	-0.1176	0.021107235
75	240479.at	HS3ST5 heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5	-0.1177	0.044386349
76	238957.at	Transcribed locus	-0.1191	0.08586804
77	232805.at	CDNA FLJ11973 fis. clone HEMBB1001221	-0.1210	0.08500191
78	229586.at	CHD9 chromodomain helicase DNA binding protein 9	-0.1212	0.098510854
79	1559966.a.at	CDNA clone IMAGE4811557	-0.1214	0.034604592
80	236215.at	Transcribed locus	-0.1215	0.005457044
81	222651.at	CD44 CD44 molecule (Indian blood group)	-0.1216	0.042015206
82	217523.at	CD44 CD44 molecule (Indian blood group)	-0.1216	0.152603706
83	228655.at	Unknown mRNA sequence	-0.1216	0.10530675
84	219387.at	CDC88A coiled-coil domain containing 88A	-0.1220	0.150133649
85	232471.at	CDNA FLJ11954 fis. clone HEMBB1000888	-0.1222	0.014989719
86	1558019.at	Homo sapiens, clone IMAGE4732650, mRNA	-0.1222	0.162965304
87	236511.at	Transcribed locus	-0.1224	0.167604428
88	222311.s.at	SFRS15 splicing factor, arginine/serine-rich 15	-0.1228	0.014557397
89	236697.at	Transcribed locus	-0.1231	0.184147476
90	228357.at	ADAMTS5 ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 5 (aggrecanase-2)	-0.1233	0.061763944
91	232000.at	C9orf52 Chromosome 9 open reading frame 52	-0.1236	0.133328667
92	238848.at	OTUD4 OTU domain containing 4	-0.1240	0.15048146
93	242555.at	LOC388272 similar to RIKEN cDNA 4921524J17	-0.1240	0.093962138
94	215052.at	MRNA; cDNA DKFZp547N074 (from clone DKFZp547N074)	-0.1242	0.191424179
95	219230.at	BRWD1 bromodomain and WD repeat domain containing 1	-0.1242	0.178712332
96	233031.at	CDNA FLJ12305 fis. clone MAMMA1001890	-0.1256	0.150193636
97	228271.at	CDNA FLJ41736 fis. clone H Lung2019058	-0.1264	0.002543971
98	1566742.at	LOC728411 Similar to Beta-glucuronidase precursor	-0.1267	0.134787577
99	238185.at	Transcribed locus	-0.1267	0.187287979
100	228274.at	GNAS GNAS complex locus	-0.1272	0.119416564
101	1562691.at	Homo sapiens, clone IMAGE5185119, mRNA	-0.1276	0.141359751
102	242932.at	Transcribed locus	-0.1277	0.066266883
103	219857.s.at	CEP350 centrosomal protein 350kDa	-0.1277	0.062491177
104	237719.x.at	RGS7BP regulator of G-protein signalling 7 binding protein	-0.1285	0.080445664
105	239742.at	TULP4 Tubby like protein 4 *	-0.1289	0.117002089
106	231403.at	TRIO Triple functional domain (TPPRF interacting)	-0.1289	0.140942677
107	233985.x.at	PPP1R8A protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 9A	-0.1293	0.158611579
108	236910.at	MRF139 Mitochondrial ribosomal protein L39	-0.1295	0.141036417
109	213486.at	DKFZP761H hypothetical protein DKFZp761H06121	-0.1299	0.019667991
110	206808.at	HNRPA3P1 heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 pseudogene 1	-0.1308	0.018469552
111	1559528.at	PCGF3 Polycomb group ring finger 3	-0.1308	0.089935046
112	229393.at	L3MBTL3 (3)mbt-like 3 (Drosophila)	-0.1309	

10

20

30

40

【 0 0 6 9 】

Carbon decreased

080316 version

ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test P value
113	203479_s.at	OTUD4		0.02743405
114	234988.at	valosin containing protein (p97)/p47 complex interacting protein 1		0.08265415
115	212650.at	EHBP1	*	0.056588638
116	239587.at	Transcribed locus		0.18608757
117	229383.at	CDNA FLJ34016 fis. clone FCBBF2002541		0.101872065
118	1570173.at	INTS7		0.17022604
119	203112.at	CDNA FLJ10263 fis. clone HEMBB1000991		0.126496378
120	210454_s.at	KCNJ6	*	0.04502596
121	155598_s.at	CDNA FLJ00424 fis. clone BRACE2008881, weakly similar to ZINC FINGER PROTEIN 195		0.11393467
122	235299.at	Transcribed locus	*	0.080286385
123	244878.at			0.179218867
124	242979.at	Transcribed locus	*	0.15453429
125	233819_s.at	ZNF294		0.142393905
126	214374_s.at	PPFIBP1		0.08708974
127	235705.at	PTPRF interacting protein, binding protein 1 (lprin beta 1)		0.09150696
128	207057.at	MRNA; cDNA DKFZp584O2423 (from clone DKFZp584O2423)		0.08221573
129	1558021.at	SLC16A7		0.1327
130	242710.at	RABEPK		0.03513191
131	1562442_s.at	Transcribed locus		0.122264504
132	238933.at	SSBP1		0.173746308
133	203899.at	single-stranded DNA binding protein 1		0.140326953
134	242352.at	SYT1		0.190585151
135	237376.at	NIPBL		0.19827946
136	230903_s.at	synaptotagmin I		0.135811273
137	211057.at	ROR1		0.165526559
138	228030.at	RBM6	*	0.182270043
139	242326.at	RNA binding motif protein 6		0.04769771
140	227454.at	Transcribed locus	*	0.05482842
141	215128.at	TAOK1		0.022148861
142	235201.at	TAO kinase 1		0.192732276
143	218156_s.at	CDNA FLJ11502 fis. clone HEMBA1004880		0.116988871
144	215748.at	Transcribed locus		0.191031033
145	208035.at	RSF1		0.18603513
146	1537586_s.at	remodeling and spacing factor 1		0.156798241
147	240910.at	PYHIN1		0.061406159
148	213818.at	GRM6		0.047556517
149	220949_s.at	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 50/57kDa, V1 subunit H		0.046657578
150	1557478.at	Transcribed locus		0.117854286
151	228334.at	CENTD1	*	0.002415544
152	208744_s.at	SET domain containing 2	*	0.189559966
153	1561884.at	SETD2	*	0.086458899
154	212098_s.at	CDNA FLJ25058 fis. clone CBL04608	*	0.167513033
155	1559266_s.at	Transcribed locus	*	0.09217437
156	209867_s.at	ZMYM5		0.10365918
157	210001.at	choline/ethanolamine phosphotransferase 1		0.01652792
158	230457.at	MTUS1	*	0.165033918
159	215700.at	hypothetical protein LOC387840 /// hypothetical protein LOC730417		0.140189241
160	242091.at	LPHN3		0.093327671
161	209030_s.at	TNC		0.171808315
162	239873.at	transcription factor 3		0.185948916
163	243993.at	latrophilin 3		0.142971406
164	243589.at	Tensin C (hexabrachion)		0.110050655
165	239557.at	chromosome 6 open reading frame 35		0.143712784
166	237725_x.at	SMC5		0.133386426
167	230057.at	LOC285178		0.17440686
168	240105.at	C21orf66		0.030613109
169	215199.at	Chromosome 21 open reading frame 66		0.155845014
170	236437.at	CALD1		0.033847962
171	236957.at	Transcribed locus		0.18149908
172	236237.at	NRG1	*	0.092727927
173	1562282.at	neuregulin 1		0.03251175
174	220446_s.at	ZNF568	*	0.026831512
175	227082.at	CHST4		0.11978622
176	208172_s.at	MRNA; cDNA DKFZp586K1922 (from clone DKFZp586K1922)		0.001619402
177	232565.at	CENPF	*	0.006917112
178	242251.at	centromere protein F, 350/400kDa (mitosin)		0.102875558
179	238619_s.at	ODNA: FLJ21399 fis. clone COL03827	*	0.1529
180	1556202.at	SLIT-ROBO Rho GTPase activating protein 2		0.105687683
181	238763.at	SRGAP2		0.103990363
182	207012.at	SLC44A5	*	0.076753916
183	240234.at	MMP16	*	0.158258133
184	205883.at	NLGN1	*	0.095589306
185	202901_x.at	CTSS	*	0.05455559
186	232110.at	CDNA FLJ12136 fis. clone MAMMA1000312		0.101558378
187	1583012_x.at	CDNA clone IMAGE502718		0.140574579
188	215791.at	Chromosome 21q22.1 anonymous mRNA sequence		0.187198776
189	228218.at	CDNA clone IMAGE5294125	*	0.197687916
190	238299.at			0.118707375
191	215528.at	MRNA; cDNA DKFZp586O1318 (from clone DKFZp586O1318)		0.198839659
192	242134.at	Transcribed locus	*	0.14449306
193	1556352.at	CDNA FLJ30440 fis. clone BRACE2009185		0.121139282
194	233027.at	CDNA FLJ12302 fis. clone MAMMA1001864		0.066222629
195	239451.at	FAM133A	*	0.187458266
196	1557895.at	FLJ35934	*	0.111966500
197	236379.at	FLJ35934 protein	*	0.052539844
198	206652.at	ZMYM5	*	0.093792278
199	1558082.at	C9orf93	*	0.13486707
200	204525.at	PHF14	*	0.026103699
201	243648.at	PHD finger protein 14	*	0.069221028
202	223629.at	PCDH5	*	0.116645947
203	240637.at	WDR41	*	0.015645689
204	232237.at	CDNA FLJ11313 fis. clone PLACE1010106, highly similar to Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp586M1418	*	0.05623652
205	239385.at	TRK-fused gene	*	0.109112304
206	244241_s.at	Transcribed locus	*	0.183764136
207	220979_s.at	ST6GALNAC ST6 (alpha-N-acetyl-neuraminy-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase*	*	0.189218025
208	241164.at	Transcribed locus	*	0.175360959
209	223430.at	C8orf48	*	0.10609981
210	155578_s.at	CDNA FLJ33153 fis. clone LUTERU2000332		0.145179778
211	219574.at	1-Mar membrane-associated ring finger (C3HC4) 1	*	0.190784671
212	208470_s.at	GPM6A	*	0.165744002
213	240895.at	glycoprotein M6A	*	0.187817219
214	219905.at	Transcribed locus	*	0.14975732
215	244183.at	ADAMTS5	*	0.11650395
216	1559805.at	SEMA3A	*	0.022730811
217	230851.at	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted, (semphorin) 3A	*	0.07727686
218	228159.at	CDNA clone IMAGE4811567	*	0.188314109
219	242918.at	Transcribed locus	*	0.191144346
220	215767.at	THSD7A	*	0.140817343
221	235645.at	NASP	*	0.138611907
222	230742.at	ZNF804A	*	0.079714145
223	226329.at	ESCO1	*	0.131911927
224	233204.at	establishment of cohesion 1 homolog 1 (S. cerevisiae)	*	0.063808779
		FLJ11903	*	0.1859
		similar to hypothetical protein MGC40405	*	0.032268831

10

20

30

40

【 0 0 7 0 】

Carbon decreased				D80316 version		
ID_REF	Gene Symbol	Gene Title	Log ₂ Ratio	Welch t-test	P value	
225	210587_at	INHBE	inhibin, beta E	*	-0.1882	0.184530348
226	235392_at		CDNA FLJ35210 fis, clone THYMU2000155		-0.1885	0.14991725
227	241345_at	ZRANB2	zinc finger, RAN-binding domain containing 2		-0.1902	0.18927475
228	1562056_at		CDNA FLJ35091 fis, clone PLACE005786	*	-0.1912	0.006899589
229	209031_at	CADM1	Cell adhesion molecule 1	*	-0.1927	0.154732339
230	236133_x_at	ZNF254	zinc finger protein 254		-0.1931	0.082335463
231	205046_at	CENPE	centromere protein E, 312kDa		-0.1982	0.13728067
232	244181_at				-0.2003	0.157830389
233	223494_at	PPP1R9A	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 9A		-0.2015	0.183403922
234	240180_at		Transcribed locus	*	-0.2019	0.19274129
235	210282_at	ZMYM2	zinc finger, MYM-type 2	*	-0.2025	0.180652168
236	211488_s_at	ITGB8	integrin, beta 8	*	-0.2042	0.130362035
237	235008_at		CDNA FLJ25241 fis, clone STM02689		-0.2052	0.199450162
238	1552803_s_at	SRGAP2	SLIT-ROBO Rho GTPase activating protein 2		-0.2053	0.187693774
239	205525_at	CALD1	caldesmon 1		-0.2079	0.135200559
240	235442_at	DPP3	D4, zinc and double PHD fingers, family 3	*	-0.2098	0.001286535
241	204940_s_at	EEA1	early endosome antigen 1		-0.2139	0.116743019
242	222313_at		Transcribed locus	*	-0.2115	0.016210099
243	206557_at	ZNF702	zinc finger protein 702	*	-0.2129	0.093915253
244	219619_at	DIRAS2	DIRAS family, GTP-binding RAS-like 2	*	-0.2132	0.104899964
245	237865_x_at			*	-0.2146	0.062516366
246	1563869_at	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)		-0.2175	0.126303886
247	210807_s_at	SLC16A7	solute carrier family 16, member 7 (monocarboxylic acid transporter 2)		-0.2175	0.123958654
248	221886_at	DENND2A	DENN/MADD domain containing 2A	*	-0.2179	0.116743019
249	1552867_at			*	-0.2181	0.041371876
250	240146_at				-0.2206	0.100633654
251	1561815_s_at	SLC8A1	solute carrier family 8 (sodium/calcium exchanger), member 1	*	-0.2218	0.181478711
252	233419_at		CDNA FLJ11851 fis, clone HEMBA1006744		-0.2219	0.153078080
253	211022_s_at	ATRX	alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked (RAD54 homolog, S. cerevisiae)		-0.2226	0.174504682
254	230492_at	ST6GALNAC5	ST6 (alpha-N-acetylneuraminyl-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N-acetylglucosaminide alpha-2,6-sialyltransferase	*	-0.2251	0.007020737
255	229309_at	ALPK2	alpha-kinase 2		-0.2252	0.106154014
256	240450_at		Transcribed locus		-0.2256	0.188923311
257	242310_at		Transcribed locus		-0.2257	0.17559293
258	235388_at	CHD9	chromodomain helicase DNA binding protein 9	*	-0.2290	0.066060945
259	209032_s_at	GADMI1	cell adhesion molecule 1		-0.2322	0.148251146
260	231235_at	NKTR	natural killer-tumor recognition sequence		-0.2333	0.141166589
261	244822_at	GART	Phosphoribosylglycinamide formyltransferase, phosphoribosylglycinamide synthetase, phosphoribosylaminoimidazole sy		-0.2337	0.090170281
262	235039_at	FAM44A	family with sequence similarity 44, member A		-0.2348	0.061154014
263	244026_at		Transcribed locus		-0.2387	0.17353843
264	242236_at			*	-0.2387	0.184615199
265	1554786_at	C20orf32	chromosome 20 open reading frame 32	*	-0.2372	0.146599032
266	208241_at	NRG1	neuregulin 1	*	-0.2380	0.086572988
267	1560342_at		CDNA clone IMAGE5275043		-0.2393	0.180580588
268	240061_at	LOC54103	Hypothetical protein LOC54103		-0.2430	0.022036851
269	235495_at		Transcribed locus		-0.2436	0.145036819
270	221030_s_at	ARHGAP24	Rho GTPase activating protein 24	*	-0.2445	0.052386655
271	208003_s_at	NFAT5	nuclear factor of activated T-cells 5, tonicity-responsive		-0.2456	0.113956433
272	243759_at	SFRS15	Splicing factor, arginine/serine-rich 15		-0.2480	0.104137651
273	236659_x_at		Transcribed locus		-0.2494	0.184528793
274	220518_at	AB3BP	ABI gene family, member 3 (NESH) binding protein		-0.2517	0.148941354
275	1569941_at		CDNA clone IMAGE5450590, with apparent retained intron		-0.2529	0.110747527
276	233401_at		CDNA FLJ11892 fis, clone HEMBA1007281	*	-0.2536	0.059919019
277	229349_at	LIN28B	lin-28 homolog B (C. elegans)		-0.2568	0.195793414
278	221088_s_at	PPP1R9A	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 9A		-0.2597	0.144052259
279	1553894_at				-0.2617	0.197594413
280	244849_at	SEMA3A	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted, (semaphorin) 3A	*	-0.2634	0.060609086
281	236386_at	SUZ12P	Suppressor of zeste 12 homolog pseudogene	*	-0.2650	0.044680186
282	244551_at		CDNA FLJ41146 fis, clone BRACE2038900		-0.2669	0.087930428
283	240725_at		CDNA FLJ42381 fis, clone UTERU2036512	*	-0.2632	0.05373689
284	221136_at			*	-0.2793	0.029578292
285	1554447_at	LOC554203	hypothetical LOC554203	*	-0.2813	0.079972788
286	227152_at	C12orf35	chromosome 12 open reading frame 35		-0.2828	0.182344784
287	232125_at		CDNA FLJ34585 fis, clone KIDNE2008758		-0.2839	0.07371329
288	243233_at		Transcribed locus	*	-0.2854	0.101014669
289	235385_at		CDNA FLJ34018 fis, clone FCBBF2002541	*	-0.3040	0.356891374
290	239503_at		CDNA clone IMAGE5301910	*	-0.3101	0.119330791
291	232664_at	LPHN3	leptophilin 3	*	-0.3195	0.015598411
292	215082_s_at	NFAT5	nuclear factor of activated T-cells 5, tonicity-responsive	*	-0.3381	0.102030371
293	204455_at	DST	dystonin	*	-0.3391	0.119344439
294	232411_at		EST from clone 24355, full insert		-0.3496	0.143680518
295	240141_at				-0.3590	0.064749655
296	229706_at	TCERG1	transcription elongation regulator 1	*	-0.3963	0.126304848
297	208686_s_at	LPHN3	leptophilin 3	*	-0.4475	0.070406805

10

20

30

【 0 0 7 1 】

このように、照射による腫瘍細胞の遊走亢進機構をAffymetrix社のジーンチップにて解析したところ、遺伝子の変化はX線照射群、炭素照射群共に同じ動きをした。双方共に有意に増幅した遺伝子の上位にMatrix Metallo Proteinases 3 (M.D. Sternlicht, et al., Cell 98, 137 (1999)、IL-13R 2 (J.S. Jarboe, K.R. Johnson, Y. Choi, R.R. Lonser, J.K. Park, Cancer Res. 67, 7983 (2007))、ID4 (Y. Liang, A.W. Bollen, M.K. Nicholas, N. Gupta, BMC Clinical Pathology 5, 6 (2005))、galectine-8 (I. Camby, et al., Brain Pathology 11, 12 (2001))を認めた。

【 0 0 7 2 】

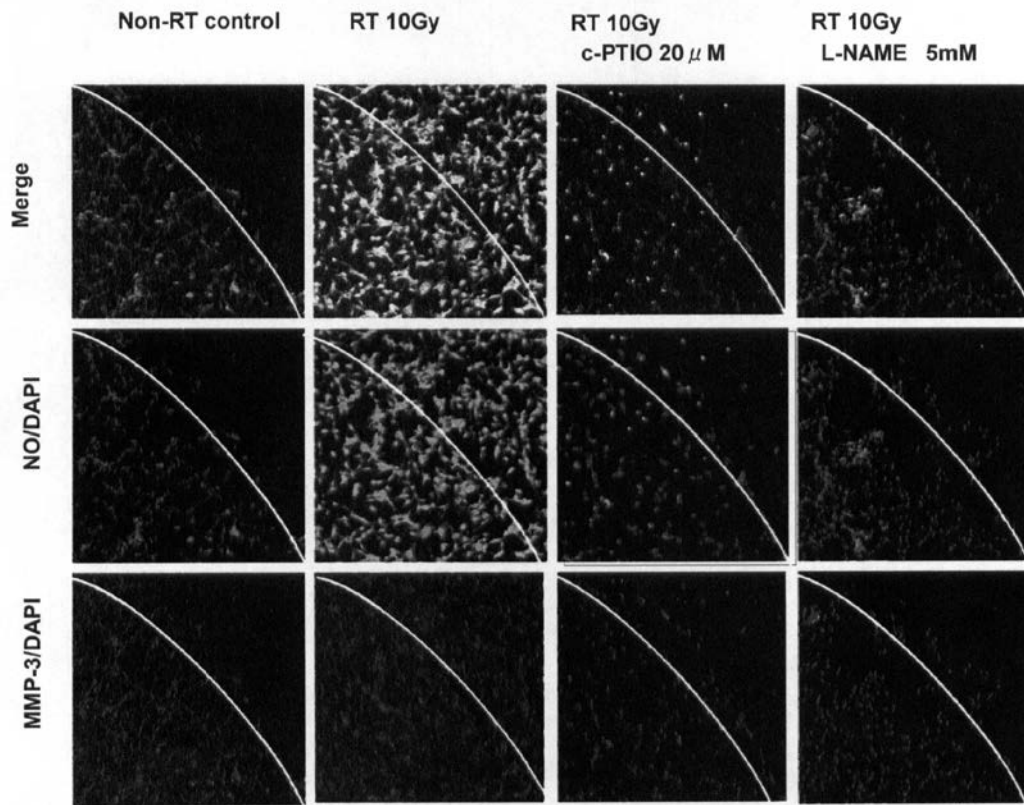
これらの新たに同定された4遺伝子は腫瘍細胞の湿潤性に関連し治療の標的遺伝子として重要である。特にMMP-3はmRNA発現量の変化をGeneChipデータのRMA正規化を行って調べたところX線照射で1.71倍、炭素線照射で1.64倍増強しているので(表1)、この遺伝子を抑制することは遊走性の制御に繋がる。

40

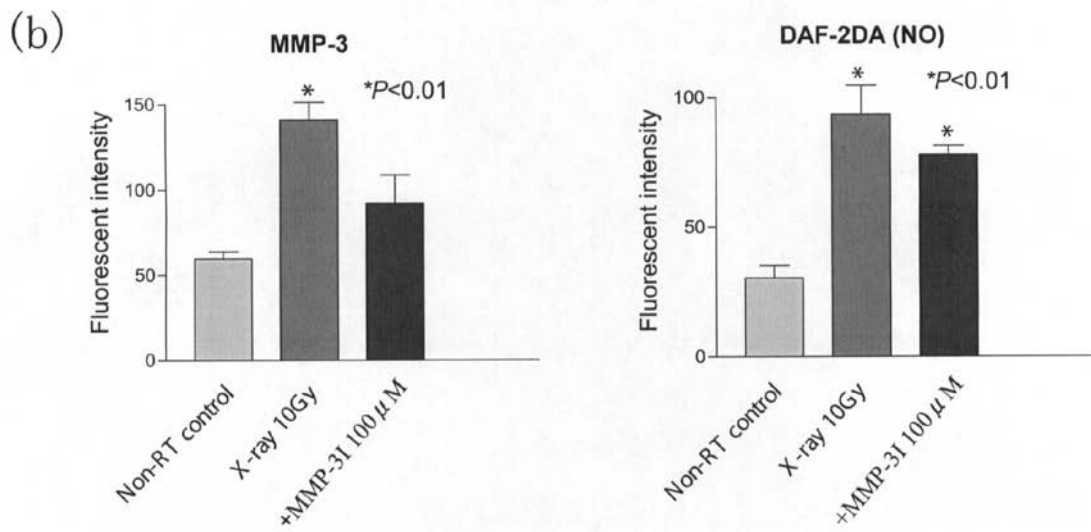
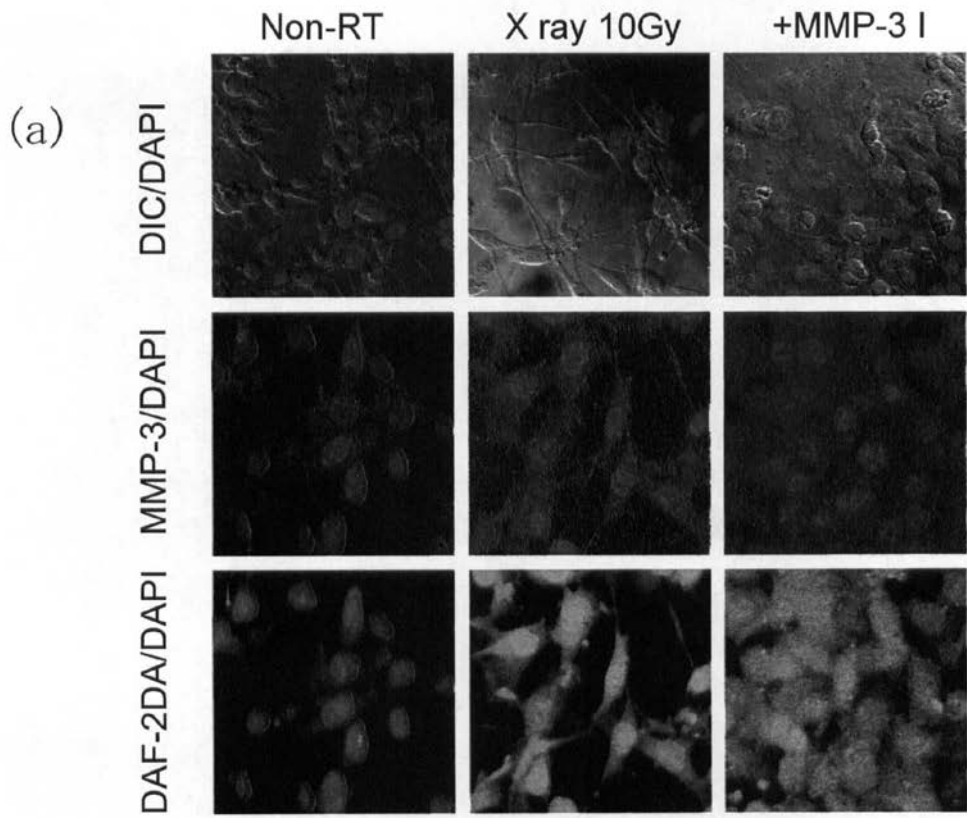
【 0 0 7 3 】

以上の実施例1、2の結果より、MMP阻害剤は照射による遊走亢進の抑制剤となることが明らかになった。

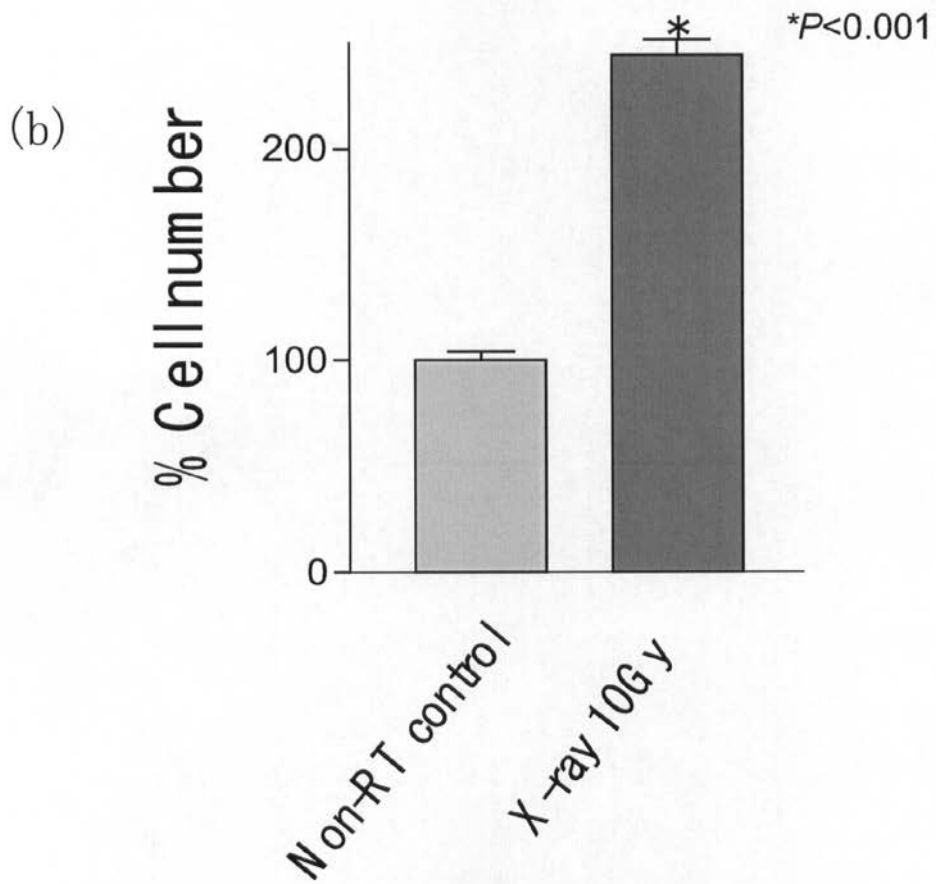
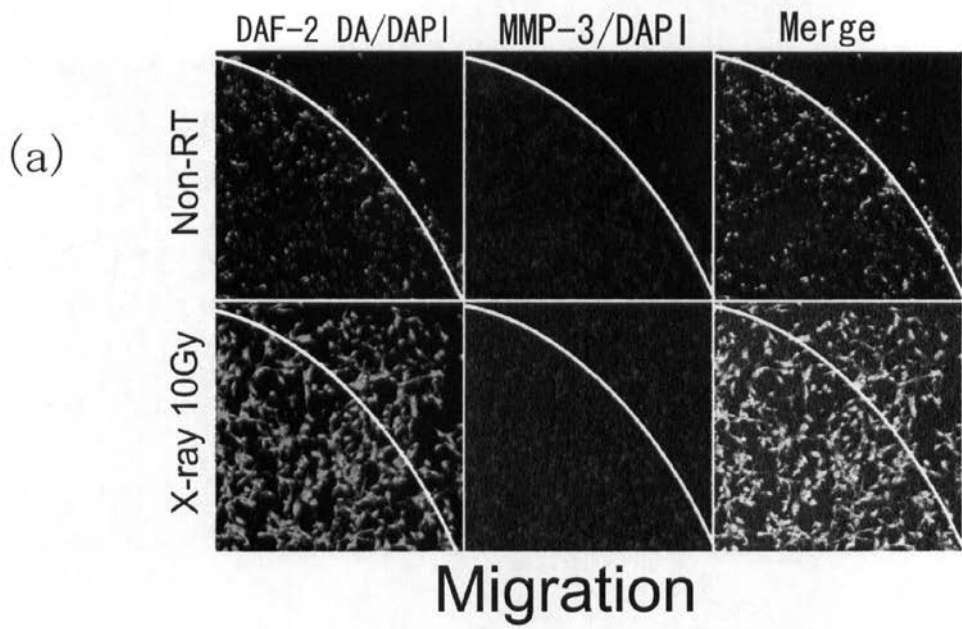
【 図 1 】



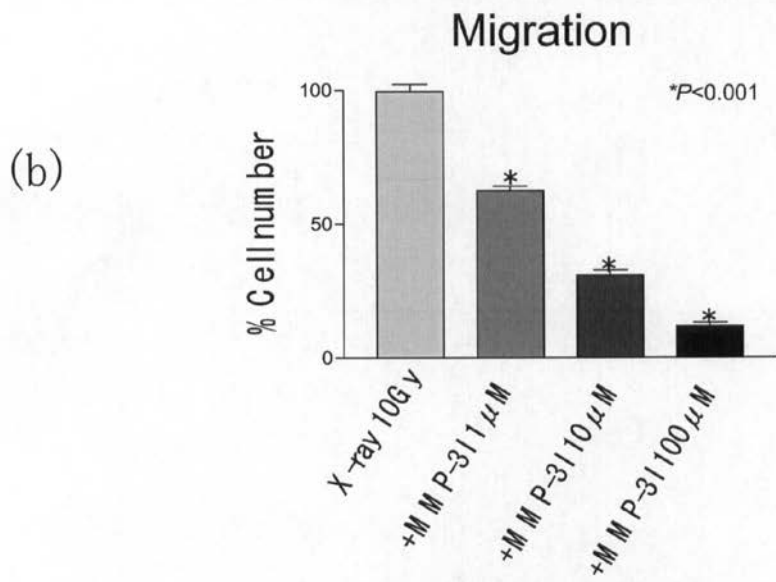
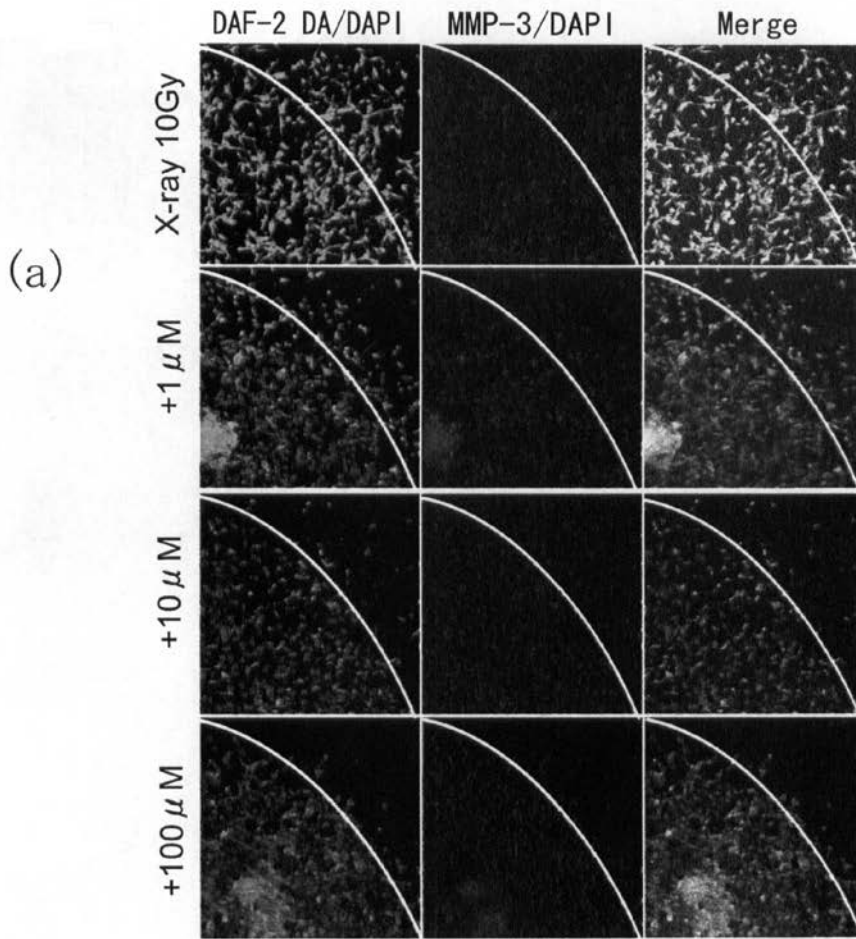
【 図 2 】



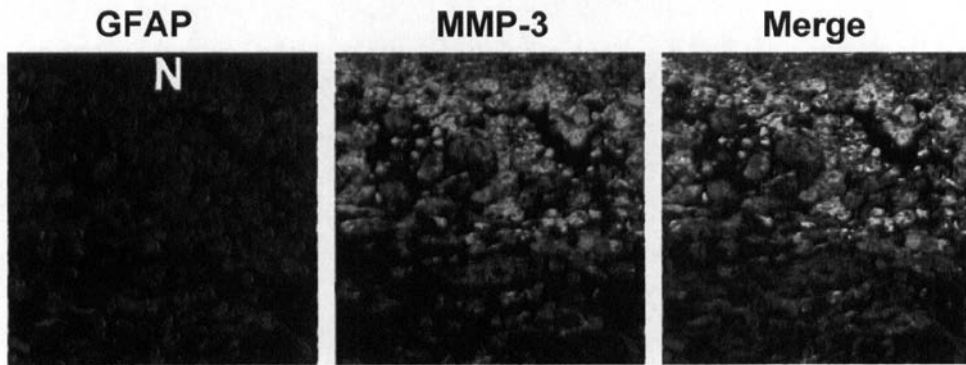
【 図 3 】



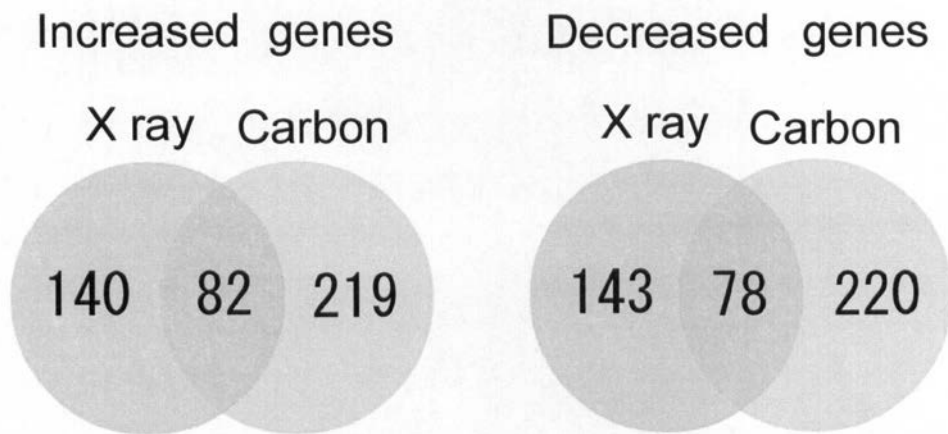
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



フロントページの続き

(56)参考文献 特表2000-509039(JP,A)

特表平10-509146(JP,A)

K.R.Hande, et al., Clinical Cancer Research, 2004, 10, pp909-915

小野真弓他、癌と化学療法、1997年、24巻11号、1585-1593頁

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00 - A61K 38/58

A61K 41/00 - A61K 45/08

A61K 48/00

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS
(STN)