

内分泌かく乱化学物質による抗原提示細胞分化、機能への影響の解析

分担研究者 松島 綱治 東京大学大学院医学系研究科社会医学専攻衛生学教授

研究要旨

内分泌攪乱化学物質が免疫系におよぼす影響、特に樹状細胞を標的とした考察を加えるに当たり、その前段階として、生理的状态でのヒト単球由来樹状細胞、マウス骨髓造血前駆細胞由来樹状細胞の生物学的及び免疫学的特徴を検討した。ヒト単球由来樹状細胞では SAGE 法により MHC クラス II 関連の遺伝子が発現の上位を占めた。また樹状細胞への分化に伴って発現上昇する遺伝子に TARC があり、この細胞がアレルギー性疾患のような、Th2 優位の免疫学的疾患発症に大きく関与する可能性が示唆された。マウス骨髓造血前駆細胞由来樹状細胞は分化誘導後 6 日目に異なる表現型を持つ CD11b⁻/dullCD11c⁺及び CD11b^{+/high}CD11c⁺の未熟樹状細胞に分化し、ヒト造血前駆細胞からの分化パターンと類似していた。しかし、TGF-βの存在下では先述の2つの細胞群への分化は抑制され、マクロファージ様細胞へ選択的に分化した。この細胞は GM-CSF と TNF-α との再培養下 5 日目でランゲルハンス様細胞へ分化し、骨髓前駆細胞から樹状細胞へ分化する第三の経路であると想定された。また未熟、成熟樹状細胞両者とも CCR7 が発現し、SLC による走化遊走活性を有する機能的受容体であると思われた。

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質が人体に及ぼす影響が昨今問題となっているが、これまで疫学的考察が問題提起した段階に留まり、その障害メカニズムの詳細な解明はこれから課題である。今後は神経系、内分泌系、免疫系という相互のシステム統合体との観点からの考察が殊に重要である。そこで我々は免疫学的手法を用い、免疫系、特に免疫応答を調節する担い手として最近注目されている樹状細胞に焦点を絞り、内分泌攪乱化学物質が及ぼす影響を検討する。樹状細胞とは抗原提示能を司るプロフェッショナルな細胞集団で、この細胞に取り込まれた各種抗原を B 細胞、T 細胞へ抗原提示して免疫寛容、

免疫応答を誘導する。樹状細胞は免疫系の要となる細胞集団に他ならない。我々は現在までにヒト及びマウスの樹状細胞の培養系を樹立し、樹状細胞の生物学的特性、免疫学的特性を分析するためのツールとして多用している。即ち、ヒトでは末梢血単球から granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)、interleukin-4 (IL-4)、及び tumor necrosis factor-α (TNF-α) 添加し、樹状細胞に分化させた。また、マウスではマウス骨髓由来 Lin 陰性 c-kit 陽性の造血前駆細胞から GM-CSF、stem cell factor (SCF) 及び TNF-α 添加培養下 10-14 日に成熟樹状細胞へ分化誘導した。そこで

我々はこの確立された系を用い、内分泌攪乱化学物質が樹状細胞へ及ぼす影響を評価することを課題とした。樹状細胞の機能評価するためには、先ず1) 生理的な状態での機能評価、具体的に云えば、樹状細胞の遺伝子発現パターン、MHC クラス II 発現状態、ケモカイン受容体の発現状況、抗原提示能、貪食能を掌握した上で、2) 各種内分泌攪乱化学物質存在下で、前述の樹状細胞機能を示唆する各種パラメーターを指標にどのような変化を示すか、と段階的にプロジェクト完遂を計画しており、本年度は特に1)の項で述べた、生理的状态下での樹状細胞に焦点を絞り、研究を遂行した。内分泌攪乱化学物質が免疫系に及ぼす影響を詳細なメカニズムにまで溯った研究は希少であり、この成果が自己免疫疾患を筆頭とした、成因不明の免疫学的疾患との相関性を推論し、疫学的考察に新たなパラダイムを提唱する可能性を秘めている。

B. 研究方法

日本血液センターへ献血提供の意志表示をした健常者から採取したヒト末梢血単核細胞から密度勾配法により単核球のみを分離し、MACS (Miltenyi Biotec, Beergisch, Germany) を用いて CD14 (LeuM3; Becton Dickinson, San Jose, CA) 陽性細胞をプラスチックプレートへ撒き、付着能を以って単球とみなし、樹状細胞分化への前駆細胞とした。GM-CSF (Kirin Brewery Co, Ltd, Tokyo, Japan)、IL-4 (Ono Pharmaceutical Co, Ltd, Osaka, Japan)、及び TNF- α 刺激により分化した樹状細胞の mRNA を抽出し、SAGE 法

を用いて同細胞に発現する遺伝子群を探索した。また表面マーカーの解析は CD1a (HI149, Pharmingen, San Diego, CA)、HLA-DR (4C3; Pharmingen)、CD33 (B8.12.2; Immunotech, Marseille Cedex, France)、CD40 (Pharmingen)、CD80 (MAB104; Beckman-Coulter, Fullerton, CA)、CD83 (HB13a; Coulter)、CD86 (2331; Pharmingen) を対象とした。

C57/B6 マウス (日本クレア、8~10 週齢、♀) の骨髄から密度勾配法で単核球を分け、セルソーター ELITE (Beckman-Coulter, Fullerton, CA) により Lin 陰性 c-kit 陽性骨髄前駆細胞を分離、GM-CSF (Basic Research Institute of Toray, Kanagawa, Japan)、stem cell factor (SCF) (Basic Research Institute of Toray, Kanagawa, Japan) 及び TNF- α 存在下で14日まで培養した。細胞表面解析には CD11b、CD11c、Ia (全て Pharmingen) を用いた。また RT-PCR 法によりケモカイン受容体発現を検討し、機能的受容体と想定される場合は、そのリガンドによる遊走能試験をマイクロチャンバーにて実施した。また抗原提示能を評価する目的で、MLR 試験は以下のように実施した。Allogenic なマウス脾臓由来単核球から T 細胞のみを分離し、樹状細胞と混合培養し、数日後 MTT 法にて細胞増殖活性を評価した。貪食能に関しては FITC-デキストラン (Sigma Chemical Co, Ltd, St. Louis, MO) を取り込ませフローサイトメーター

で評価した。またランゲルハンス細胞誘導目的に TGF- β (R&D System, Minneapolis, MN) をこの培養系に加え、分化経路への影響を調べた。

C. 研究結果

ヒト単球由来樹状細胞での mRNA は発現頻度順に、HLA-DR invariant chain、Ferritin L-chain、HLA-DR α chain であり、以下は別表に記す。このプロファイル中、樹状細胞への分化により転写促進された mRNA は gelsolin、TARC、lysosomal acid lipase 等であり、また逆に転写抑制された mRNA は MRP-14、MRP-8、Ficolin-1 等であった。

マウスの系では、分化誘導刺激後 6 日目に CD11b⁻/dull¹CD11c⁺ 及び CD11b^{+/high}CD11c⁺ の異なる表現系を示す未熟樹状細胞群へ分かれ、14 日目には成熟樹状細胞へと分化した。分化に伴い CCR7 の発現が増強し、SLC による遊走活性が評価できた点から CCR7 は樹状細胞の遊走能に関与する機能的受容体であると推測された。また、TGF- β 添加により造血前駆細胞から先程の CD11b⁻/dull¹CD11c⁺ 及び CD11b^{+/high}CD11c⁺ の未熟樹状細胞への分化が抑制され、培養後 10 日目にマクロファージ様の細胞に分化した。この細胞は GM-CSF と TNF- α との再培養にてランゲルハンス様細胞へ分化したことから、マウス骨髄由来造血前駆細胞から樹状細胞へ分化する第三の経路と想定された。

D. 考察

樹状細胞は様々な臓器に分布し、その異質性が樹状細胞への細胞生物学的及び免疫学的理解を困難にしている。我々が

施行した SAGE 法は以下の理由により各種樹状細胞を特徴化する点において有用な解析方法となり得る。従来の遺伝子検索の方法はノザンプロット、RT-PCR、ディファレンシャル・ディスプレイ法等のように限定した遺伝子のみしか解析できず、細胞が発現する遺伝子相互間の量的関係を把握するのは極めて困難であった。しかし SAGE 法により同時に多くの遺伝子の発現をモニターでき、遺伝子相互の発現量の差を的確に評価できる点で他方の追従を許さない。

単球由来樹状細胞では当初の予想通り MHC クラス II 関連の遺伝子が上位を占めた。分化により発現量が上昇した遺伝子としてケモカインに属する TARC がある。Th2 タイプのリンパ球に発現する CCR4 陽性細胞に対する走化遊走活性があり、この単球由来樹状細胞がアレルギー疾患のような Th2 タイプの優位な病態で大きな役割を演じることが示唆された。アレルギー性疾患と環境との接点は新たな予防法及び治療への応用を考慮する上で極めて重要と思われ、内分泌攪乱化学物質がアレルギー疾患に及ぼす影響が樹状細胞を通して観察できるかも知れない。

ヒトでは CD34 陽性造血前駆細胞からの樹状細胞分化経路は確立されているが、マウスでは実験操作技術の困難さが理由となり、研究進展が滞っていた。けれどもノックアウトマウス等の生体工学マウスを多用する免疫学の分野ではマウスは必須のツールであるため、樹状細胞への分化経路を早急に解明することが望まれていた。マウス造血前駆細胞は途中で 2 系統へ分化する点で、ヒトと類似する分

化経路を維持している。またヒトで単球由来樹状細胞からランゲルハンス細胞に分化する必須のファクターは TGF- β であるという認識のもとで、マウスの系で検討した結果、ヒト同様にE-カドヘリン強陽性のランゲルハンス様細胞へ分化した。またケモカイン受容体 CCR7 の発現も大枠でヒトと共通している。ヒトでは未熟樹状細胞では CCR6、漸次成熟するに伴い、CCR7 の発現量が上がってくるのであるが、マウスでは未熟、成熟を問わず CCR7 が発現しており、CCR6 は両群で発現が観察できない点から種差に基づく相違、或いは我々が培養後6日目以前に未熟樹状細胞と呼ぶに相応しい細胞群の存在が示唆される。この CCR7 はそのリガンドである SLC による走化遊走活性が認められたので、機能的なケモカイン受容体と判断できる。

間質に存在する Interstitial DC は抗原を取りこんだ後、2次リンパ組織であるリンパ節へ遊走し、T細胞領域に存在するナイーブ T細胞と相互作用し、免疫応答を誘導する。リンパ節中の HEV (高内皮細静脈) は SLC が高発現しており、その欠損マウスである plt/plt マウスではリンパ節が欠落する点から DC が2次リンパ組織へ遊走するために SLC/CCR7 は必須のレポーターであると想定できる。樹状細胞にとっては異物の取り込み、T細胞との物理的接触かどちらのプロセスに支障があっても正常な免疫機能を発揮することが困難であり、内分泌攪乱化学物質がこの2点を修飾するか否か評価する必要がある。

E. 結論

ヒト単球由来樹状細胞およびマウス骨髄由来造血前駆細胞から分化する樹状細胞の免疫生物学的な特徴を明らかにした。今後は、様々な内分泌攪乱化学物質の影響下でこれら細胞群がどのような挙動を示すか現在検討中である。

研究発表

1. Inadera, H., Sekiya, T., Yoshimura, T., and Matsushima, K. (2000) *Endocrinology* **141**, 50-59
2. Hashimoto, S., Suzuki, T., Dong, H. Y., Yamazaki, N., and Matsushima, K. (1999) *Blood* **94**(3), 837-44
3. Hashimoto, S., Suzuki, T., Dong, H. Y., Nagai, S., Yamazaki, N., and Matsushima, K. (1999) *Blood* **94**(3), 845-52
4. Zhang, Y., Zhang, Y. Y., Ogata, M., Chen, P., Harada, A., Hashimoto, S., and Matsushima, K. (1999) *Blood* **93**(4), 1208-20
5. Ogata, M., Zhang, Y., Wang, Y., Itakura, M., Zhang, Y. Y., Harada, A., Hashimoto, S., and Matsushima, K. (1999) *Blood* **93**(10), 3225-32
6. Murai, M., Yoneyama, H., Harada, A., Zhang, Y., Vestergaard, C., Guo, B.,

- Suzuki, K., Asakura, H., and Matsushima, K. (1999) *J Clin Invest* **104**: 49-57.
7. Zhang, Y., Zhang, Y., Yong, Y., Ogata, M., Hashimoto, S.-i., Onai, N., and Matsushima, K. (1999) *Blood* (in press)
8. Betsuyaku, T., Liu, F., Senior, R. M., Haug, J. S., Brown, E. J., Jones, S. L., Matsushima, K., and Link, D. C. (1999) *J Clin Invest* **103**(6), 825-32
9. Yamada, T., Hisanaga, M., Nakajima, Y., Kanehiro, H., Aomatsu, Y., Ko, S., Kin, T., Nishio, K., Sho, M., Nagao, M., Harada, A., Matsushima, K., and Nakano, H. (1999) *Surgery* **125**(3), 304-14
10. De Benedetti, F., Pignatti, P., Bernasconi, S., Gerloni, V., Matsushima, K., Caporali, R., Montecucco, C. M., Sozzani, S., Fantini, F., and Martini, A. (1999) *J Rheumatol* **26**(2), 425-31
11. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Shimizu, M., Segawa, C., Kobayashi, K., Mukaida, N., Kasahara, T., Matsushima, K., and Yokoyama, H. (1999) *Nephrol Dial Transplant* **14**(1), 76-80
12. Tsuji, H., Mukaida, N., Harada, A., Kaneko, S., Matsushita, E., Nakanuma, Y., Tsutsui, H., Okamura, H., Nakanishi, K., Tagawa, Y., Iwakura, Y., Kobayashi, K., and Matsushima, K. (1999) *J Immunol* **162**(2), 1049-55
13. Takizawa, H., Ohtoshi, T., Kawasaki, S., Kohyama, T., Desaki, M., Kasama, T., Kobayashi, K., Nakahara, K., Yamamoto, K., Matsushima, K., and Kudoh, S. (1999) *J Immunol* **162**(8), 4705-11
14. Furukawa, Y., Matsumori, A., Ohashi, N., Shioi, T., Ono, K., Harada, A., Matsushima, K., and Sasayama, S. (1999) *Circ Res* **84**(3), 306-14
15. Sansonetti, P. J., Arondel, J., Huerre, M., Harada, A., and Matsushima, K. (1999) *Infect Immun* **67**(3), 1471-80
16. Imai, T., Nagira, M., Takagi, S., Kakizaki, M., Nishimura, M., Wang, J., Gray, P. W., Matsushima,

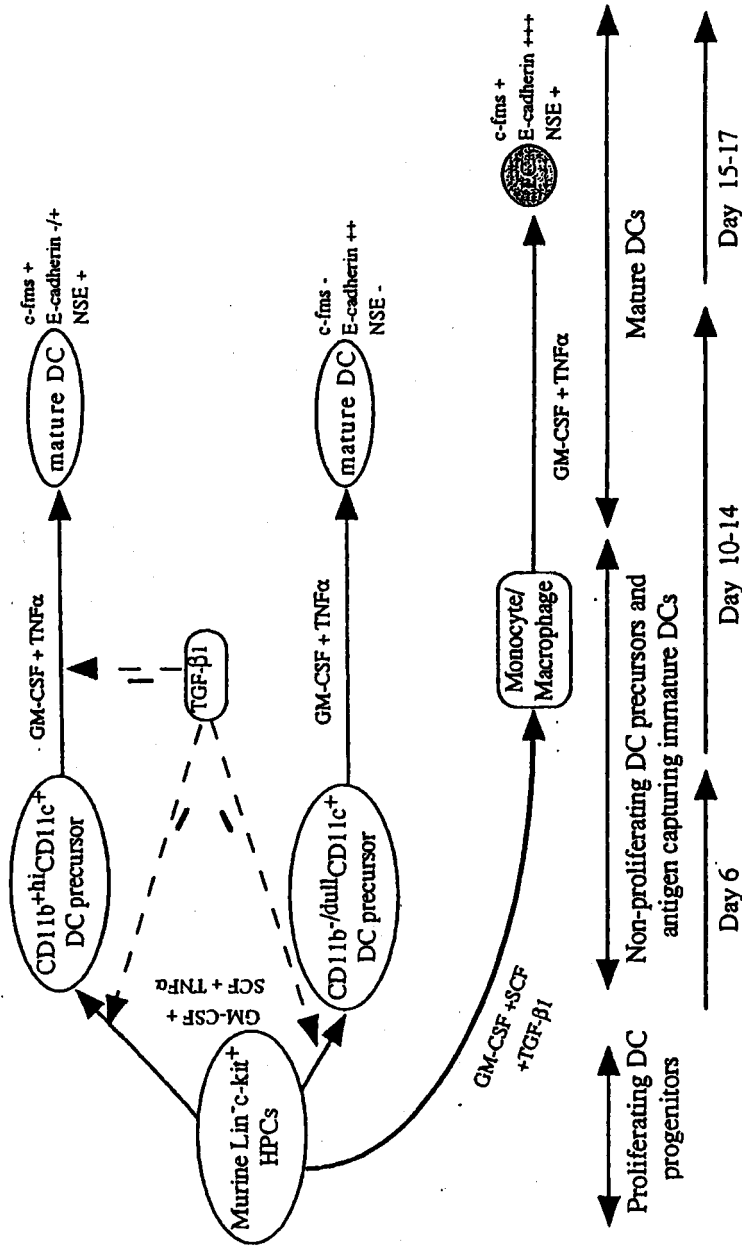
K., and Yoshie, O. (1999)
Int Immunol **11**(1), 81-8

Antimicrob Agents
Chemother **43**(4), 794-801

17. Ono, K., Matsumori, A.,
Furukawa, Y., Igata, H.,
Shioi, T., Matsushima, K.,
and Sasayama, S. (1999)
Lab Invest **79**(2), 195-203
18. Sar, B., Oishi, K., Wada,
A., Hirayama, T.,
Matsushima, K., and
Nagatake, T. (1999)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし



A schematic DC differentiation model in vitro from Lin⁻c-kit⁺ HPCs and the regulating role of TGF-β1. HPCs develop into mature DCs through four stages: proliferating DC progenitor cells, nonproliferating DC precursors, antigen capturing immature DCs, and mature DCs. The cytokine combination of GM-CSF + SCF + TNFα can induce the generation of mature DCs from murine Lin⁻c-kit⁺ HPCs through two unrelated differentiation pathways: CD11b⁺CD11c⁺ and CD11b⁻CD11c⁺ DC precursors that can be clearly identified at day 6 of culture. In response to GM-CSF + TNFα, both the DC precursor subsets can independently differentiate at day 10 to 14 into mature DCs with distinct phenotype based on the expression of c-fms mRNA, NSE activity, and E-cadherin. TGF-β1 significantly inhibited the generation of CD11b⁺CD11c⁺ and CD11b⁺CD11c⁺ DC precursors from GM-CSF + SCF + TNFα-stimulated Lin⁻c-kit⁺ HPCs at day 6 of culture. TGF-β1 could also suppress DC maturation from CD11b⁺CD11c⁺, but not CD11b⁻CD11c⁺ DC precursors at day 12 to 14. In collaboration with GM-CSF + SCF, TGF-β1 induced Lin⁻c-kit⁺ HPCs to differentiate solely into monocytes/macrophages. These cells could further differentiate at day 15 to 17 of culture into LC-like DCs expressing high levels of E-cadherin, abundant c-fms, and NSE activity, which obviously differs from CD11b⁺CD11c⁺ and CD11b⁻CD11c⁺ DC precursor-derived mature DC subsets.

Table 1. Transcript Profiles in Human Monocyte-Derived DCs

Abundance (%)	Tag Sequence	GenBank Match (accession no.)
1.66	GTCACATTA	HLA DR invariant chain (P33) (X00497)
1.45	CCCTGGGTTT	Ferritin L-chain (D14523)
1.17	GGGCATCTCT	HLA-DR α chain (V00523)
0.85	TTGGTGAAGG	Thymosin β 4 (M17733)
0.79	CCTGTAATCC	Multiple match
0.76	TGCCTGCACC	Cystatin C (X05607)
0.75	CAAGCATCCC	No match
0.75	TTGGTCCTCT	Ribosomal protein L41 (AF02844)
0.68	TTGGGGTTTC	Ferritin H-chain (AF026844)
0.57	GTGAAACCCC	Multiple match
0.56	CTAAGACTTC	No match
0.54	GTGACCACGG	No match
0.52	CCACTGCAC	Multiple match
0.48	GGGGAATCG	Thymosin β 10 (M92381)
0.45	GTTGTGGTTA	β -2 microglobulin (AB021288)
0.44	TGTGTTGAGA	Elongation factor α 1 subunit (X16871)
0.42	CCCATCGTCC	Cytochrom coxII (X55654)
0.42	TTCATACACC	No match
0.35	GTGAAACCC	Multiple match
0.33	TCCAAATCGA	Vimentin (X56134)
0.33	TGGGTGAGCC	Cathepsin B (M14221)
0.32	TTGGCCAGGC	Multiple match
0.32	CACAAACGGT	Ribosomal protein S27 (U57847)
0.30	AGCCCTACAA	No match
0.29	GGCTGGGGCC	Profilin (J03191)
0.29	CACCTAATTG	No match
0.26	CTGACCTGTG	MHC class I (M54883)
0.26	ACTTTTCAA	No match
0.26	TGGTGTGAG	Ribosomal protein 18S (X69150)
0.25	GGAGGTGGGG	Granulin (M75161)
0.25	TGTACCTGTA	α Tubulin (K00558)
0.24	TGATTCACT	No match
0.22	TGCACGTTT	Ribosomal protein L32 (X03342)
0.22	TCACCGGTCA	Gelsolin (X04412)
0.22	CCTCAGGATA	No match
0.22	ATGGCTGGTA	LLR ep3 (X17206)
0.21	GGCACAAAGG	TARC (D43767)
0.21	GCCTGCTGGG	Phospholipid hydroperoxidase glutathione peroxidase (X71973)
0.21	AGAAGTGTC	Lysosomal acid lipase (Z31690)
0.21	TTCCCTTCTT	MHC class II β chain (X03028)
0.21	CCAGAACAGA	Ribosomal protein L30 (X79238)
0.21	CCTAGCTGGA	Peptidyl-prolyl-cis transisomerase A (AA011066)
0.21	TAGGTTGTCT	Translationally controlled tumor protein (X16064)
0.20	GTGCTGAATG	Myosin alkali light chain (M22920)
0.19	AGGCTACGGA	23-kD highly basic protein (X56932)
0.19	ACGCAGGGAG	Heat shock protein 90 (D87666)
0.19	GCTTTATTG	β Actin (X00351)
0.19	AAAACATCT	No match
0.18	CCCCCTGGAT	Growth factor inducible 2A9 gene (M14306)
0.18	TGAAAACACTAC	MHC class II α chain (X00457)

The top 50 transcripts expressed in DCs are listed. The tag sequence represents the 10-bp SAGE tag. Probable GenBank matches are listed. More information is available on the Internet at <http://www.prevent.m.u-tokyo.ac.jp/SAGE.html>.

Table 2. Transcripts Increased in Human Monocyte-Derived DCs

Fold	Tag Sequence	n*			GenBank Match (accession no.)
		Mono	GM	DC	
125	TCACCGGTCA	0	72	125	Gelsolin (X04412)
122	GGCACAAAGG	0	1	122	TARC (D43767)
61	AGAAGTGTC	2	79	121	Lysosomal acid lipase (Z31690)
47	AGCCACCGCA	2	2	94	No match
41	CGTGAGCCAC	0	10	41	No match
40	GCCTGCAGTC	0	4	40	Hepatocyte growth factor activator inhibitor type 2 (AB006534)
36	GCCCTGAAAG	0	3	36	No match
35	TTGGAACAAT	0	0	35	No match
34	CCTCTGGGCA	0	0	34	No match
33	AACGGGGCCC	0	117	33	MDC (U83171)
33	CCAAGACTTC	0	3	33	No match
32	CAGCTATTTC	0	15	32	Fatty acid binding protein homologue (M94856)
31	TTACTTCCCC	0	5	31	EST (AA927388)
31	CTTTCAGATG	0	0	31	Platelet-type phosphofructokinase (D25328)
30	TTGAGACCTC	1	0	30	Factor XIII subunit α (M14539)
28	CTGTTAGTGT	2	20	55	Malate dehydrogenase (U20352)
25	TGTCCCAGCC	0	64	25	Acid phosphatase type 5 (X14618)
25	TCTTGATTFA	0	31	25	α -2 macroglobulin (M11313)
23	CCCCCGTAAT	0	3	23	EST (AI203963)
22	ATGGAAGTCT	0	6	22	Inositol polyphosphate 5-phosphatase (X98429)
21	CTAAAAAAA	0	9	21	No match
21	CAAGCATCCC	21	166	430	No match
20	TGTGAACAC	0	1	20	EST (AI001049)
20	ACTCACCTTA	0	0	20	EST (AA742376)
20	GATACAGCCA	0	0	20	CD23 (M14766)
20	ACCCAGGGTA	0	19	19	EST (N30858)
19	CTGATCTCCA	0	5	19	No match
19	TTTGCTCTCC	2	3	37	Vinculin (M33308)
18	GATGACCCCC	0	34	18	No match
18	GCCTACCCGA	0	15	18	GA733-1 (X13425)
18	CCCTCGGTCC	0	3	18	No match
18	AACGAGGAAT	0	2	18	No match
18	CTATATTTT	0	1	18	Cathepsin C (X87212)
18	AAGGGATGCT	0	0	18	MCP-4 (U46767)
17	AAGATTGGTG	0	32	17	CD9 (M38690)
17	CCCAAGCTAG	1	9	17	HSP27 (X54079)
17	CCGGGCGTGG	0	5	17	EST (R49492)
17	GGTGTGCTTG	0	1	17	EST (AF055021)
17	AGTGCAAGGC	0	0	17	No match
17	CCTCACTACC	0	0	17	EST (AI288509)
17	TGCAGAAGAA	0	0	17	Multiple match
16	TGGCGTACGG	3	7	48	No match
16	GCCAGCCCAG	1	4	16	Zinc finger protein (X97548)
16	GGTCCCCTAC	0	4	16	EST (AI343615)
16	TGTACCTGTA	9	61	140	No match
16	TGGCCCCAGG	6	1,515	93	Apolipoprotein C-1 (X00570)
15	TTTCTGAAA	0	6	15	Thioredoxin (J04026)
15	CTCTGTAAGT	0	0	15	Metalloproteinase (L23808)
15	GGAGGCAGGA	0	0	15	No match
15	ATGAGCTGAC	7	105	104	Cystatin B (L03558)

The 50 transcripts displaying the biggest increase in expression in DCs are listed by fold induction. The tag sequence represents the 10-bp SAGE tag. The most probable GenBank matches are listed. n indicates the number of times the tag was identified. Fold changes in expression were calculated as described in Fig 2. More information is available on the Internet at <http://www.prevent.m.u-tokyo.ac.jp/SAGE.html>.

Abbreviations: Mono, monocytes; GM, GM-CSF-induced macrophages.

*In this table, the tag numbers are 57,560, 57,463, and 58,540 from Mo, GM-M ϕ , and DCs, respectively.

Table 3. Transcripts Decreased in Human Monocyte-Derived DCs

Fold	Tag Sequence	n*			GenBank Match (accession no.)
		Mono	GM	DC	
532	GTGGCCACGG	1,064	47	2	MRP-14 (M21064)
287	TACCTGCAGA	287	0	0	MRP-8 (X06234)
244	CCCACAACCT	244	3	0	Ficolin-1 (S80990)
105	GCACCAAAGC	105	19	0	MIP-1 α (D00044)
97	TGGAAGCACT	97	0	0	IL-8 (Y00787)
84	TGGTCCAGCG	84	10	0	CD14 (AA971438)
77	CTTGACATAC	77	0	1	CL100 mRNA for protein tyrosin phosphatase (X68277)
66	GGAAAAGTGG	66	10	1	α 1 antitrypsin (X01683)
65	GGCCACGTAG	65	2	0	D component of complement (AI073930)
65	GCTGTTGCGC	65	22	1	Ribosomal protein S20 (AA969927)
63	TCTACACGTG	63	0	0	Properdin
63	CTGATGGCGA	63	0	0	No match
55	CTGTACTTGT	55	0	0	GOS3 (L49169)
51	TGGAAAAGTGA	51	0	0	c-fos (V01512)
48	CTGACTTGTG	48	10	1	MHC class I HLA-B (M14539)
46	ACATTTCCAA	46	0	0	GOS2 (M69199)
44	TCACAGCTGT	88	5	2	B-cell translocation gene 1 (AI096550)
44	ATGGTGGGGG	44	0	1	Tristetraproline (M63625)
44	TTGGCAGCCC	44	19	1	Ribosomal protein L27a (H73560)
34	TGGGCAGCTG	34	2	0	Ribosomal protein S9 (AA833617)
33	TTGCGTGTGT	33	20	0	Protein phosphatase PAC-1 (AA922462)
31	CTCCATCCAG	31	1	0	G-CSF receptor (M59819)
31	AGTGCACGTG	31	0	0	Ribosomal protein L29 (R36372)
31	GGCCAGGACT	31	0	0	Formyl peptide receptor 1 (M60627)
27	CCCTGAGGCC	27	0	0	EST (AI148871)
27	GTCCCCCCAA	27	2	1	EST (AI217285)
27	GTGGGCCACG	25	0	0	No match
25	GCCGCCATCT	70	20	3	Protein disulfide isomerase (U79278)
23	CTGTTGGCAT	112	16	5	Ribosomal protein L21 (U14967)
22	ACCATTCTGC	21	1	0	Interferon-inducible mRNA (X02490)
21	ACTTTAATGA	21	3	0	C5a anaphylatoxin receptor (M62505)
21	AATTAATAA	21	11	0	Multiple match
21	GCCGCCGTGC	20	0	0	No match
20	GGTAGCCAC	20	7	1	EST (AI093040)
20	CTTTTTCCTC	19	0	1	CD48 (M59904)
19	CTTGGGATGT	19	4	0	EST (AA865970)
19	ATGGAGCGCA	37	11	2	TNFR2 (U52165)
19	TAGCCCCCTG	18	0	0	TNF (M10988)
18	TTGGAGCACT	18	0	0	EST (AA724726)
18	TTTCTGTATG	18	0	0	HISTONE H3.3 (AI033898)
18	ACGCTCTCGA	18	2	1	CD37
18	ATGGCTTGGT	18	6	0	40S ribosomal protein S2 (AA064604)
17	TAATGCTAAA	17	0	0	Helix-loop-helix basic phosphoprotein (L13463)
16	TGAAGTAACA	48	0	3	Translation factor SUI1 homolog (R15861)
16	GGGAAACAGG	48	2	3	EST (AA970435)
16	TGAGTCTGGC	16	0	1	EST (W63798)
16	GCGACAGCTC	16	8	1	Ribosomal protein L30 (M94314)
16	GCTGAACGCG	79	18	5	EST (AI024982)
15	TGTTTTTCATA	15	1	0	No match
15	CTCACTTTTT	15	0	0	NF-IL6 β (M83667)

The 50 transcripts displaying the largest decrease in expression in DCs are listed by fold reduction. n indicates the number of times the tag was identified. Conditions are as described in Fig 2. More information is available on the Internet at <http://www.prevent.m.u-tokyo.ac.jp/SAGE.html>.

*In this table, the tag numbers are 57,560, 57,463, and 58,540 from Mo, GM-M ϕ , and DCs, respectively.