

牛乳・乳糖による抗肥満・脂質代謝改善メカニズムの解明

国立長寿医療センター先端医療部

細井孝之

要 旨

本研究は、ラットを用いた *in vivo* 系を用いて、牛乳中に含まれている二糖類である乳糖(ラクトース)による減量・抗肥満作用について生体内での効果を明らかにすることを目的とした。

6週齢SD系雌ラット(34匹)について

Control食群(Cont.)、

Control食のコーンスターチのうち、飼料重量の10%をラクトースに置き換えたラクトース10%食群(Lac.)

Control食のコーンスターチのうち、ラードに置き換え、脂質エネルギー比率を40%に調整した脂質40%食群(High fat)

Control食のコーンスターチのうち、ラードに置き換え、脂質エネルギー比率を40%に調整した脂質40%食群(High fat)にさらに飼料重量の10%をラクトースに置き換えた脂質40%・ラクトース10%食群(High fat Lac.)

の4群に分けた。飼育期間中、体重を2日おきに測定した。84日間飼育した。

High fat群の最終体重は、Cont.群に比べて有意な高値を示し、High fat Lac.群は、High fat群に比べ、有意な低値を示した。一方、Lac.群とCont.群間には有意な差はみられなかった。また、小腸粘膜サンプルよりmRNAを抽出し、DNAマイクロアレイ法により、遺伝子レベルの発現量を比較した。ラクトース投与により発現が2倍以上増強される遺伝子が48個確認された。一方、ラクトース投与によってmRNAの発現が抑制される遺伝子が37個確認された。本研究の結果は、ラクトースが高脂肪食において体重増加を抑制している可能性および小腸遺伝子発現に影響を及ぼしていることを示唆した。

キーワード：牛乳、乳製品、乳糖、脂肪、肥満、遺伝子発現

1. 背景および研究目的

牛乳・乳製品は、カルシウムを豊富に含み、その吸収率のよい食品である。また、カルシウム以外の栄養成分も含んでおり、骨粗鬆症の予防に有用であることが従来から示されている。よって、毎日の食生活のなかで適切な摂取が望まれる。最近では、牛乳・乳製品に抗肥満効果も備えている可能

性が示唆されている。牛乳・乳製品の主要成分の一つである乳糖(ラクトース)については、カルシウム吸収促進作用との関連で骨代謝改善効果が報告されているがそのメカニズムについては不明な点が多い。ラクトースは、小腸アルカリホスファターゼ活性上昇作用があることが確認されており¹⁾、小腸でのラクトースの作用が注目されている。しかし、乳糖の抗肥満効果についてはこれまでほとんど注目されていない。肥満はそれ自体が動脈硬化性疾患の危険因子になることはもちろん、糖尿病や高血圧が併発する場合はさらに合併症のリスクを高める。現在、肥満はメタボリックシンドロームの中核的な病態として捉えられている。現代の日本人の食生活は、欧米化が進み、脂肪からのエネルギー摂取比率が増加傾向にある。これらの点から、高脂肪食下での乳糖の抗肥満作用を検討することは、生活習慣病予防における新しい役割を牛乳・乳製品に求めうるか否かを検証することになる。

我々は先行研究において乳糖投与による減量・抗肥満効果について、マウスを用いた *in vivo* 系で検討した。そして、高脂肪食摂取時において乳糖による抗肥満作用を明らかにした²⁾。この結果は、牛乳・乳製品の成分の一つである乳糖が、骨粗鬆症のみならず、肥満、高脂血症をはじめとする生活習慣病予防に役立つ可能性を示唆している。そこで、本研究ではさらに詳しい実験計画を進めて、乳糖による抗肥満脂質代謝改善効果のメカニズムを解明するため、ラットを用いた *in vivo* 系で生体内での乳糖の効果を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

1) 実験方法および飼育条件

実験動物には、6週齢SD系雌ラット(34匹)を用いた。13日間の予備飼育の後、AIN-93を与えるControl食群(Cont.)、Control食のコーンスターチのうち、飼料重量の10%を乳糖(ラクトース)に置き換えたラクトース10%食群(Lac.)、ラードに置き換え、脂質エネルギー比率を40%に調整した脂質40%食群(High fat)、脂質エネルギー比率40%に調整し、さらにラクトース10%に置き換えた脂質40%・ラクトース10%食群(High fat Lac.)の計4群とし、さらに84日間飼育した。4群ともカルシウムは0.5%、リンは0.3%に調整した。

動物は、室温 23 ± 1 、湿度 $50 \pm 5\%$ 、12時間ごとの明暗サイクル(明期7:00a.m.~7:00p.m.)の環境下で飼育し、飼料および脱イオン水、蒸留水を自由摂取させた。

2) 血清生化学検査

採取した血液を遠心分離(2500rpm, 10min)し、上清を血清サンプルとした。その後、コレステロールをコレステロールオキシダーゼ・DAOS法にて測定した^{3),4)}。

3) 腰椎骨力学的指標測定

実験動物用 X 線 CT LATHETA (ALOKA 社製) を用いて第 4・5 番目の腰椎を撮影し、骨力学的指標として、平均断面 2 次モーメント、断面 2 次極モーメント、最小断面 2 次モーメントを測定した。

4) 小腸 RNA 抽出

小腸サンプルは、摘出後すぐに、液体窒素中でホモジナイズした。回腸サンプルから、RNAeasy Maxi Kit (キアゲン(株)) を用いて RNA を抽出した。

5) DNA マイクロアレイ解析法

DNA マイクロアレイ解析法は、Affymetrix 社の方法に準じて行なった。すなわち、サンプル RNA から T7 オリゴ dT プライマーを使用して 2 本鎖 cDNA 合成を行った後、*in vitro* Transcription により cRNA を合成した。cRNA の合成の際にビオチンを取り込み、サンプルを標識した。ビオチン標識 cRNA を断片化して Gene Chip プローブアレイ (Rat Expression 230) にハイブリダイズした。ハイブリダイゼーション後に投入する蛍光色素フィコエリスリンにより cRNA を検出した。アレイ情報は、Affymetrix scanner (Affymetrix) で測定し、Gene Chip 解析ソフト (Affymetrix) で数値化した。

6) 統計処理

血液生化学検査値および腰椎の解析は、統計ソフト SPSS (13.0J for windows) を使用し、各データの検定は一元配置の分散分析を行った後、scheffe の検定を行った。

3. 結 果

1) 体重増加および最終体重

実験食開始時体重は、各群間に有意な差はみられなかった (Table 1)。84 日後の最終体重において High fat 群は、Cont. 群に比べて有意な高値を示した。また High fat Lac. 群は、High fat 群に比べ、有意な低値を示した。Lac. 群と Cont. 群間には有意な差はみられなかった (データは示さず)。

2) 血清生化学検査

Fig. 1、2 に血清コレステロール値を示す。総コレステロール値において、各群間に有意な差はみられなかった (Fig. 1)。LDL コレステロール値 (Fig. 2) においては、Cont. 群と Lac. 群においては有意な差はみられなかった。High fat Lac. 群は、LDL コレステロール値においても High fat 群に比べ、有意な低値を示した ($p < 0.05$)。

3) 腰椎骨力学的指標測定

力学的指標である平均断面 2 次モーメント(Fig. 3)、断面 2 次極モーメント(Fig. 4)、最小断面 2 次モーメント(Fig. 5)において、各群間に有意な差はみられなかった。

4) DNA マイクロアレイ解析

DNA マイクロアレイ解析の結果、Lac.群では Cont.群に比べて様々な遺伝子の発現量が変化することが明らかとなった。Table 2 に、Lac.および Cont.両群で、解析ソフトの統計処理によって発現が確認され、Lac.群の発現量が Cont.群に比べ、2 倍以上となった既知遺伝子を示した。また、Table 3 には、Cont.群の発現量が Lac.群に比べ、2 倍以上となった既知遺伝子、すなわち Lac.群で発現が抑制された遺伝子を示した。ラクトースによって 48 個の遺伝子の発現が増強され、37 個の遺伝子の発現が抑制されることが明らかとなった。

4. 考 察

今回の研究は、乳糖(ラクトース)投与による減量・抗肥満効果について、ラットを用いた *in vivo* 系で生体内での効果を明らかにすることを目的とした。そして、High fat 群は、Cont.群に比べて有意な体重増加を示すが、High fat 食の飼料重量の 10%をラクトースに置き換えた High fat Lac.群は、High fat 群に比べ、有意な体重減少を示すことを確認した。我々は、平成 16 年度牛乳栄養学術研究会委託研究において、マウスを用いた研究を行い、High fat Lac.群は、High fat 群に比べ、有意な低値を示すことを明らかにし、ラクトースの抗肥満効果を確認した²⁾。本研究から、ラクトースは、種が異なっても抗肥満作用があることが明らかとなった。

本研究では、Lac.群と Cont.群間には、体重増加量において有意な差はみられなかった。この結果は先行研究とも一致しており、ラクトースによる飼料効率低下作用は高脂肪食を摂取した場合のみに起こるものと考えられる。

乳製品消費量と体格指数である BMI に逆相関があることが報告されており⁵⁾、乳製品摂取による抗肥満効果が示唆されている。また、乳製品摂取による抗肥満効果について、実験動物を用いた研究も報告されている。食事誘導性肥満マウスである *agouti* 遺伝子トランスジェニックマウスを用いた実験で、カルシウム 1.2%高脂肪食群は、カルシウム 0.4%高脂肪食のコントロール食群に比べて、内臓脂肪量が有意に減少することが報告されており、抗肥満効果には乳製品中に含まれるカルシウムが関与していることが示唆されている⁶⁾。肥満患者に対する介入試験では、高カルシウム食による体重減少効果、さらに乳製品摂取による体重減少効果の増強が報告されている⁷⁾。つまり、カルシウム増加による肥満抑制効果のみならず、脱脂粉乳など乳製品に含まれるカルシウム以外の成分によっても肥満抑制効果があることを示唆している。

今回の我々のデータによって脱脂粉乳および乳製品に含まれているラクトースに抗肥満効果があ

ることが示唆された。牛乳中に含まれる乳糖の効果としては、カルシウム吸収促進効果⁸⁾⁻¹⁰⁾、および小腸アルカリホスファターゼ活性上昇作用が知られており、これらの報告からラクトースは小腸において直接的あるいは間接的な影響を及ぼしていることが示唆されている。そこで、本研究では、回腸の mRNA を抽出し、DNA マイクロアレイ法を用いてラクトース投与による遺伝子発現レベルへの影響を検討した。

Table 2 および 3 に示したマイクロアレイ解析の結果から、ラクトース食が小腸遺伝子の発現に影響を与えることが示された。Lac. 群での遺伝子発現量が Cont. 群に比べて、3 倍以上あった遺伝子は、11 個確認された。Lac. 群で 21.11 倍の発現増強がみられた synaptorin は、synaptophysin family のひとつであり、シナプス小胞の膜タンパク質で小胞チャネルタンパク質としての役割をもっている¹¹⁾。また、Lac. 群で 6.96 倍の発現増強がみられた cyclin-dependent kinase inhibitor 1A は、真核細胞の細胞周期の進行を制御しているサイクリン依存性タンパク質リン酸化酵素活性(CDK)を転写レベルで阻害する作用を持っている¹²⁾。補体系の活性化で中心的役割を果たしている complement component 3 (補体成分 C3) の mRNA は、ラクトース投与によってコントロールと比較して 4.59 倍上昇することが示された¹³⁾。

細胞内シグナル伝達に關与するタンパク質に広く見出され、タンパク質間の相互作用を制御する機能ドメインをもつ SH3 domain protein 2A¹⁴⁾、ペルオキシソーム膜に存在する peroxisomal membrane protein 4¹⁵⁾、すい臓トリプシン阻害剤である serine protease inhibitor である Kazal type 1¹⁶⁾もラクトースによって増加していることが確認された。さらに、phospholipase A2, group 2C や、神経損傷の際に増加する ninjurin 1¹⁷⁾、グルタチオン生成の第一段階を調整する glutamate-cysteine ligase catalytic subunit¹⁸⁾、細胞外基質の分解に關与する一群の酵素をマトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase, MMP)ファミリーのひとつである matrix metalloproteinase 7¹⁹⁾が上昇していることが確認された。

また、ラクトース投与によって、小腸での mRNA の発現が抑制される遺伝子もあることが明らかになった。なかでも、RT1 class b(Aw2)は、様々なプロープにより、mRNA 発現の抑制が確認された。RT1 class b(Aw2)は、ラットの主要組織適合性遺伝子複合体 (Major Histocompatibility complex, MHC) 類縁分子群で、MHC 分子群は古典的 MHC 分子による T 細胞への抗原ペプチド提示機能の他、種々の重要な機能を担っていることが知られている²⁰⁾。分子群は、そのアミノ酸配列及び構造的特徴等に基づき、クラス I 及びクラス II 分子群に大別されており、ラクトースによってクラス I 分子群が抑制されることが示された。さらに、筋収縮に關与する tropomyosin²¹⁾、葉酸受容体 folate binding protein-1²²⁾、シグナル伝達に關与する casein kinase II²³⁾、細胞の成長に關与する double-stranded RNA-binding protein p74²⁴⁾の mRNA 発現量がラクトースによって抑制されていることが示された。

本研究の結果は、乳糖が高脂肪食摂取による体重増加を抑制している可能性を示すと同時に、乳糖が小腸遺伝子発現へ影響を及ぼしていることを明らかにした。今後、乳糖により発現作用に違い

がみられた遺伝子群の解析を進めることで、乳糖による抗肥満効果のメカニズムを解明することができると考えられる。

5 . 謝辞：本研究は日本女子大学 五関正江博士との共同研究である。

参考文献

- 1 . Sogabe N, Mizoi L, Asahi K, Ezawa I, Goseki-Sone M. Enhancement by lactose of intestinal alkaline phosphatase expression in rats. *Bone* 2004; 35:249-255.
- 2 . 細井孝之 乳糖による食欲調節メカニズムについて 平成 16 年度 牛乳栄養学術研究報告書 52-62.
- 3 . Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.* 1974;20:470-5.
- 4 . Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. The National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. *Clin Chem.* 1995;41:1414-20.
- 5 . Mirmiran P, Esmailzadeh A, Azizi F. Dairy consumption and body mass index: an inverse relationship. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2005 Jan;29(1):115-21.
- 6 . Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo D, Zemel PC. Regulation of adiposity by dietary calcium *FASEB J.* 2000 Jun;14(9):1132-8.
- 7 . Zemel MB, Thompson W, Milstead A, Morris K, Campbell P. Calcium and dairy acceleration of weight and fat loss during energy restriction in obese adults. *Obes Res.* 2004 Apr;12(4):582-90.
- 8 . Greger JH, Gutkowski CM, Interaction of lactose with calcium, magnesium, and zinc in rats. *J Nut* 1989; 119:1691-1697.
- 9 . Armbricht HJ. Age and the effects of lactose on calcium and phosphorus uptake by rat small intestine. *Nutr Res* 1987; 7:1169-77.
- 10 . Buchoski MS, Miller DD. Lactose, calcium source and age affect calcium bioavailability in rats. *J Nutr* 1991; 121:1746-54.
- 11 . Greengard P, Browning MD, McGuinness TL, Llinas R. Synapsin I, a phosphoprotein associated with synaptic vesicles: possible role in regulation of neurotransmitter release. *Adv Exp Med Biol.* 1987;221:135-53.
- 12 . Stander M, Naumann U, Wick W, Weller M. Transforming growth factor-beta and p-21:

- multiple molecular targets of decorin-mediated suppression of neoplastic growth. *Cell Tissue Res.* 1999;296:221-7.
- 13 . Fu J, Lin G, Zeng B, Wu Z, Wu Y, Chu H, Qin G, Liang G, Li J, Gan X, Yu X, Li C, Liu D. Anti-ischemia/reperfusion of C1 inhibitor in myocardial cell injury via regulation of local myocardial C3 activity. *Biochem Biophys Res Commun.*2006;350:162-8.
- 14 . Takenawa T, Miura K, Miki H, Watanabe K. Signal transductions of SH2/SH3: Ash/Grb-2 downstream signaling. *Adv Pharmacol.* 1996;36:139-53.
- 15 . Brown LA, Baker A. Peroxisome biogenesis and the role of protein import. *J Cell Mol Med.* 2003 Oct-Dec;7(4):388-400.
- 16 . Schneider A. Serine protease inhibitor Kazal type 1 mutations and pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am.* 2004 Dec;33(4):789-806.
- 17 . Araki T, Milbrandt J. Ninjurin, a novel adhesion molecule, is induced by nerve injury and promotes axonal growth *Neuron* 1996;17: 353-361.
- 18 . Yan N, Meister A. Amino acid sequence of rat kidney gamma-glutamylcysteine synthetase. *J. Biol. Chem.* 1990;265: 1588-1593.
- 19 . Lindsey ML, Escobar GP, Mukherjee R, Goshorn DK, Sheats NJ, Bruce JA, Mains IM, Hendrick, JK, Hewett KW, Gourdie RG, Matrisian LM, Spinale FG. Matrix metalloproteinase-7 affects connexin-43 levels, electrical conduction, and survival after myocardial infarction. *Circulation* 2006;113; 2919-2928.
- 20 . Kunz HW, Gill TJ 3rd, Misra DN The identification and mapping of a second class I locus in the major histocompatibility complex of the rat. *J Immunol.* 1982 Jan;128(1):402-8
- 21 . Greenfield NJ, Huang YJ, Swapna GV, Bhattacharya A, Rapp B, Singh A, Montelione GT, Hitchcock-DeGregori SE. Solution NMR structure of the junction between tropomyosin molecules: implications for actin binding and regulation. *J Mol Biol.* 2006 Nov 17;364(1):80-96.
- 22 . Spiegelstein O, Cabrera RM, Bozinov D, Wlodarczyk B, Finnell RH. Folate-regulated changes in gene expression in the anterior neural tube of folate binding protein-1 (Folbp1)-deficient murine embryos. *Neurochem Res.* 2004 Jun;29(6):1105-12
- 23 . Lim AC, Hou Z, Goh CP, Qi RZ. Protein kinase CK2 is an inhibitor of the neuronal Cdk5 kinase. *J Biol Chem.* 2004 Nov 5;279(45):46668-73.
- 24 . Coolidge CJ, Patton JG. A new double-stranded RNA-binding protein that interacts with PKR. *Nucleic Acids Res.* 2000 Mar 15;28(6):1407-17

Table 1. Initial body weight

Groups	n	(g)
Cont.	9	171.7 ± 3.4
Lac.	8	171.5 ± 1.8
High fat	8	175.1 ± 2.3
High fat Lac.	9	169.4 ± 3.2

Each value represents mean ±S.E.

Table 2 Up-regulated gene revealed by microarray experiments (Cont. vs Lac)

Sequences name	Fold Change	Gene Title	Gene Symbol
BG666364	21.11	synaptorin	LOC66030
AI385260	9.85	Unknown (protein for MGC:72614)	MGC72614
U24174	6.96	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A	Cdkn1a
NM_016994	4.59	complement component 3	C3
AI501766	4.29	SH3 domain protein 2A	Sh3d2a
AI232414	3.73	peroxisomal membrane protein 4	Pxmp4
M27882	3.48	serine protease inhibitor, Kazal type 1	Spink1
NM_019202	3.48	phospholipase A2, group 2C	Pla2g2c
U72660	3.25	ninjurin 1	Ninj1
J05181	3.25	glutamate-cysteine ligase catalytic subunit	Gclc
NM_012864	3.03	matrix metalloproteinase 7	Mmp7
NM_017103	2.83	transcription elongation factor B (SIII), polypeptide 3	Tceb3
AA998067	2.64	Kruppel-like factor 15	Klf15
NM_053365	2.46	fatty acid binding protein 4	Fabp4
NM_053299	2.46	ubiquitin D	Ubd
NM_053843	2.46	Fc receptor, IgG, low affinity III	Fcgr3
NM_033234	2.30	hemoglobin beta chain complex	Hbb
NM_053955	2.30	crystallin, mu	Crym
NM_031598	2.30	phospholipase A2, group IIA (platelets, synovial fluid)	Pla2g2a
NM_031670	2.30	kidney-derived aspartic protease-like protein	Kdap
NM_133586	2.30	carboxylesterase 2 (intestine, liver)	Ces2
NM_017358	2.30	immunoglobulin superfamily member	CDO
NM_012912	2.30	activating transcription factor 3	Atf3
NM_022686	2.30	germinal histone H4 gene	Hist4
AF307302	2.30	butyrophilin-like 2 (MHC class II associated)	Btnl2
NM_133514	2.14	matrix metalloproteinase 10	Mmp10
U17261	2.14	N-acetyltransferase 1 (arylamine N-acetyltransferase)	Nat1
NM_019212	2.14	actin alpha 1	Acta1
AI232788	2.14	cytochrome b558 alpha-subunit	Cyba
AW252810	2.14	peripheral myelin protein 22	Pmp22
AA892770	2.14	glutamate-cysteine ligase catalytic subunit	Gclc
NM_133309	2.14	calpain 8	Capn8
AI577319	2.14	hemoglobin, alpha 1	Hba1
AI009597	2.14	FXFD domain-containing ion transport regulator 3	Fxyd3
BF522502	2.14	apyrase	srapy
NM_013027	2.00	selenoprotein W, muscle 1	Sepw1
NM_012925	2.00	CD59 antigen	Cd59
NM_053810	2.00	synaptosomal-associated protein, 29kD	Snap29
NM_022626	2.00	phosphorylase B kinase alpha subunit	Pcyt1b
U29701	2.00	4-aminobutyrate aminotransferase	Abat
AF053312	2.00	small inducible cytokine subfamily A20	Scya20
U50449	2.00	RT1 class Ib gene(Aw2)	RT1Aw2
M34097	2.00	granzyme B	Gzmb
AI411117	2.00	thiosulfate sulfurtransferase	Tst
AI171966	2.00	major histocompatibility complex, class II, DM beta	Hla-dmb
NM_019323	2.00	mast cell protease 9	Mcpt9
NM_017317	2.00	low Mr GTP-binding protein	ram
BF564217	2.00	ribonuclease, RNase A family 4	Rnase4
NM_017209	2.00	nuclear receptor binding factor 1	Nrbf1

Table 3 Down-regulated gene revealed by microarray experiments (Cont. vs Lac)

Sequences name	Fold Change	Gene Title	Gene Symbol
NM_012645	-59.71	RT1 class Ib gene(Aw2)	RT1Aw2
NM_012645	-6.96	RT1 class Ib gene(Aw2)	RT1Aw2
NM_019131	-4.59	tropomyosin 1, alpha	Tpm1
NM_133527	-4.29	folate receptor 1 (adult)	Folr1
NM_053824	-4.29	casein kinase II, alpha 1 polypeptide	Csnk2a1
NM_012645	-3.48	RT1 class Ib gene(Aw2)	RT1Aw2
NM_053416	-3.48	double-stranded RNA-binding protein p74	Spnr
NM_019257	-2.83	splicing factor, arginine/serine-rich 5	Sfrs5
NM_012645	-2.83	RT1 class Ib gene(Aw2)	RT1Aw2
NM_133560	-2.83	amyotrophic lateral sclerosis 2 (juvenile) chromosome region, candidate 3	Als2cr3
NM_017156	-2.83	cytochrome P450, 2b19	Cyp2b15
NM_031664	-2.46	solute carrier family 28, member 2	Slc28a2
NM_019620	-2.46	zinc finger protein 386 (Kruppel-like)	Znf386
NM_019204	-2.46	beta-site APP cleaving enzyme	Bace
NM_133552	-2.46	Williams-Beuren syndrome chromosome region 14 homolog (human)	Wbscr14
NM_130753	-2.46	fibroblast growth factor 15	Fgf15
NM_031112	-2.46	ribosomal protein S24	Rps24
NM_031507	-2.30	epidermal growth factor receptor	Egfr
NM_031686	-2.30	sodium channel, voltage-gated, type 6, alpha polypeptide	Scn6a
NM_017107	-2.30	O linked N-acetylglucosamine transferase	Ogt
NM_019149	-2.30	matrin 3	Matr3
NM_053662	-2.14	cyclin L	Ccni
NM_031707	-2.14	homer, neuronal immediate early gene, 1	Homer1
NM_021576	-2.14	5 nucleotidase	Nt5
NM_023991	-2.14	AMP-activated protein kinase	Prkaa2
NM_031518	-2.14	antigen identified by monoclonal antibody MRC OX-2	Mox2
NM_022205	-2.14	Chemokine receptor (LCR1)	Cxcr4
NM_133300	-2.14	HLA-B-associated transcript 1A	Bat1a
NM_183331	-2.14	coagulation factor VIII	F8
NM_012817	-2.14	insulin-like growth factor-binding protein 5	Igfbp5
NM_053021	-2.00	clusterin	Clu
NM_133552	-2.00	Williams-Beuren syndrome chromosome region 14 homolog (human)	Wbscr14
NM_173094	-2.00	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2	Hmgcs2
NM_138507	-2.00	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	Ptprc
NM_139230 /// NM_139231	-2.00	nexilin	LOC246172
NM_017248	-2.00	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	Hnrpa1
NM_183331	-2.00	coagulation factor VIII	F8
NM_021576	-2.00	5 nucleotidase	Nt5

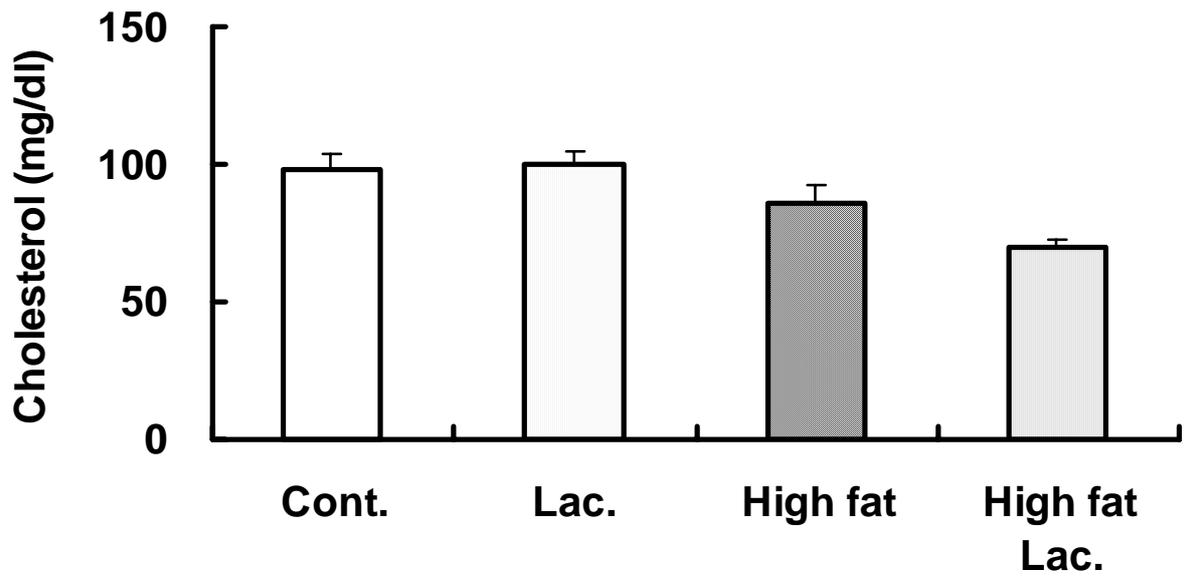


Fig. 1

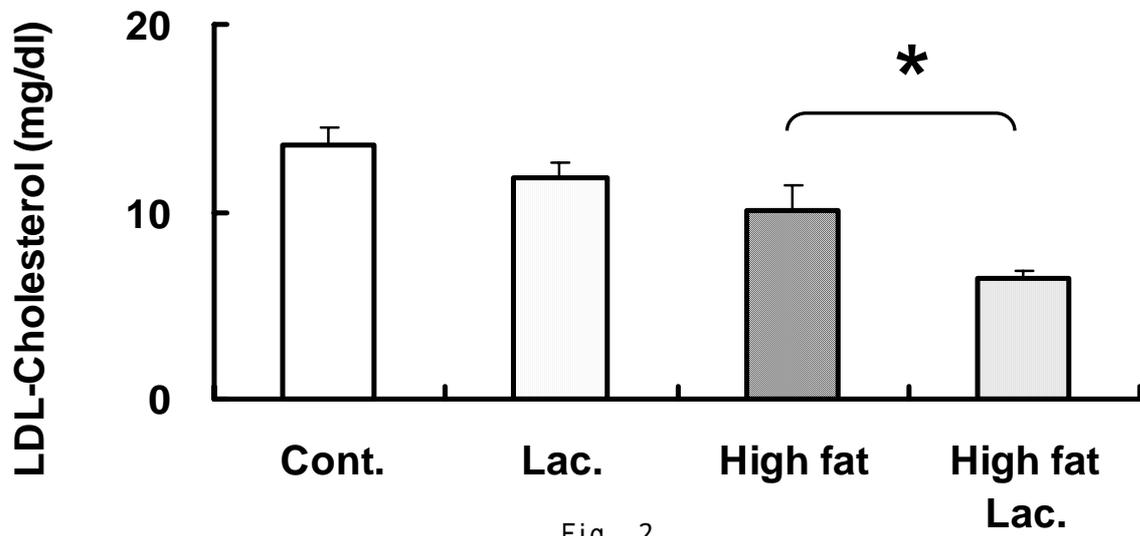


Fig. 2

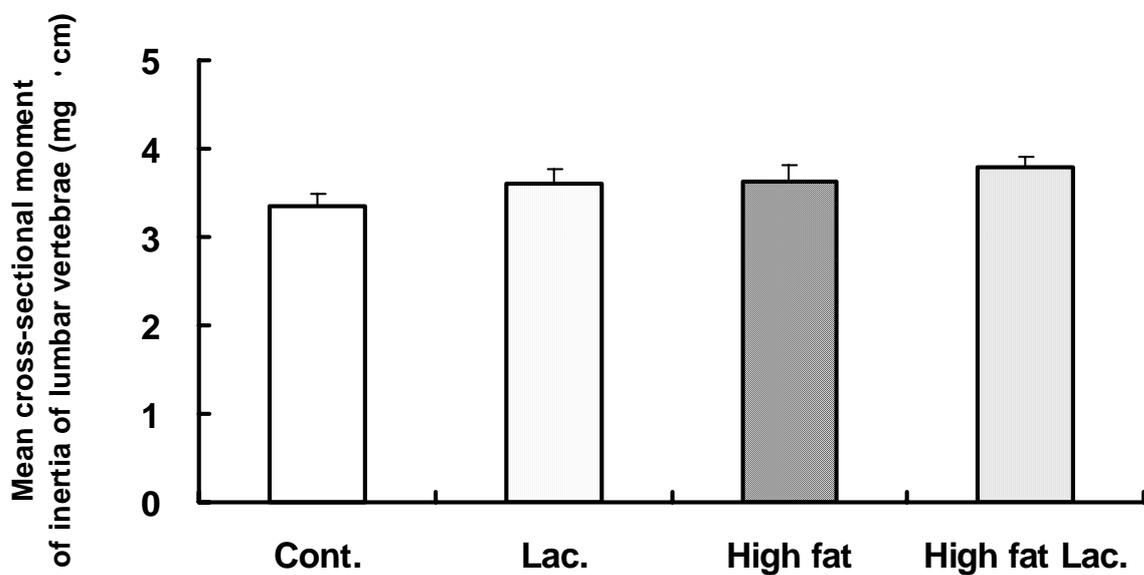


Fig. 3

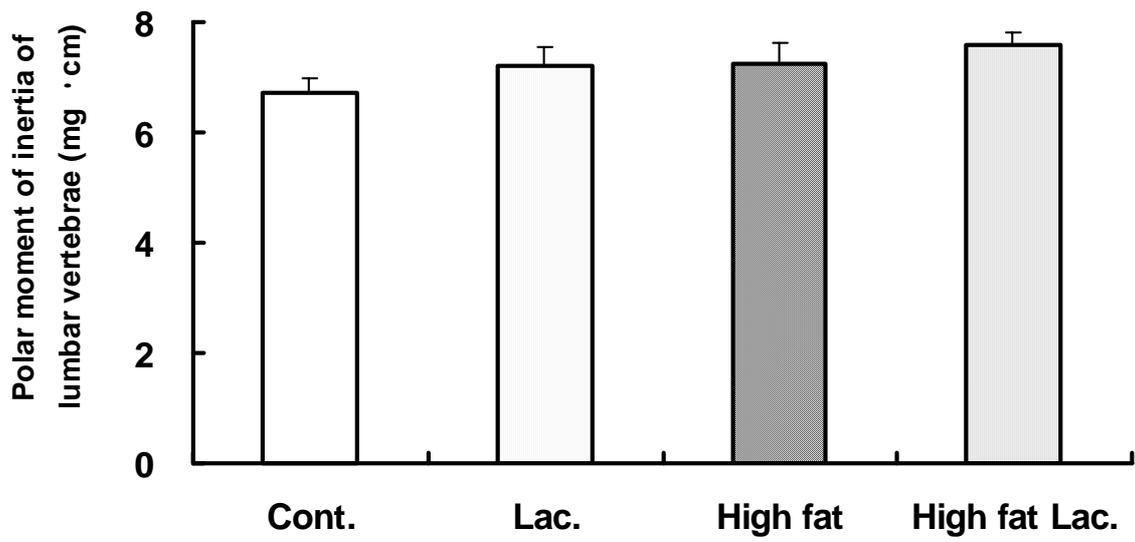


Fig. 4

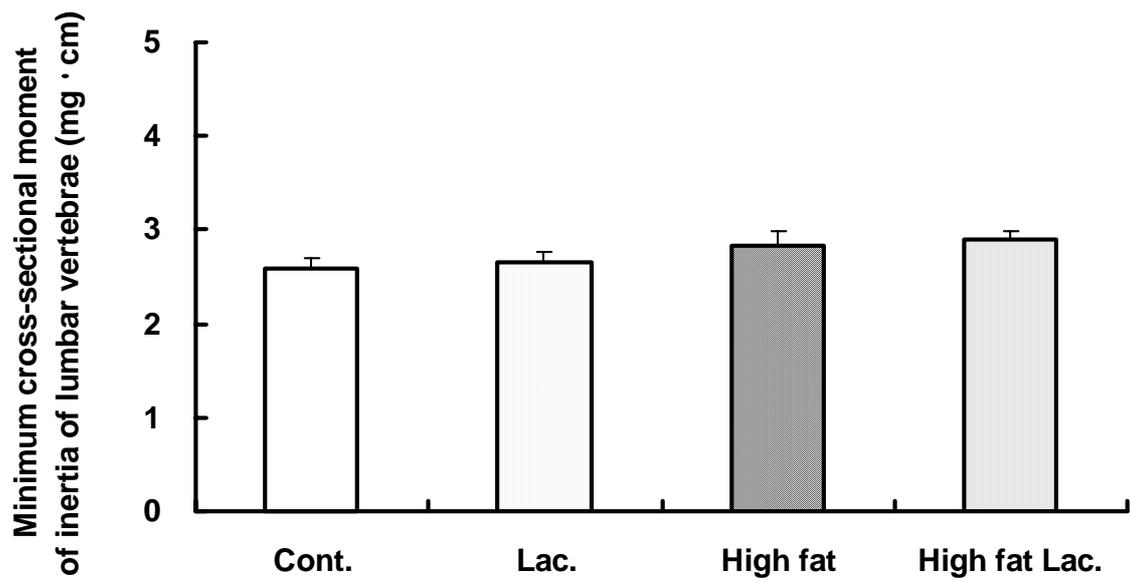


Fig. 5