

厚生科学研究研究費補助金  
ヒトゲノム・再生医療等研究事業  
H12-ゲノム-029

腸上皮化生をモデルとしたマスター遺伝子制御  
による組織分化の研究

平成 13 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 牛島 俊和

平成 14 (2002) 年 4 月

## 目 次

I. 総括研究報告	
腸上皮化生をモデルとしたマスター遺伝子制御による組織分化の研究	
牛島 俊和	2
II. 分担研究報告	
胃粘膜からの腺管分離	
立松 正衛	7
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	9
IV. 研究成果の刊行物・別刷	10

## 腸上皮化生をモデルとしたマスター遺伝子制御による組織分化の研究

主任研究者 牛島 俊和 国立がんセンター研究所発がん研究部長

ゲノムの CpG メチル化は、組織分化の制御と維持に重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では、胃粘膜の腸粘膜への異常な分化である腸上皮化生をモデルとして、メチル化の変化を指標に分化に関与する遺伝子を同定することを目的とする。昨年度までに、腺管分離法により分離した腸上皮化生が強い幽門腺、及び、腸上皮化生が少ない胃底腺を材料に MS-RDA を行い、腸上皮化生、または、幽門腺と胃底腺の違いに関連するメチル化の変化を、ゲノム網羅的に検索した。その結果、bHLH 型転写因子である *SIM2* について、幽門部での腸上皮化生の発生に伴いイントロン 2 の CpG アイランドがメチル化され、発現量が増加することを見いだした。本年度は、TMK-1 胃がん細胞株に、*SIM2* を sense 及び antisense 方向に導入し、がん細胞株の形質の変化を検討した。胃型の形質のマーカーとして *Pepsinogen A*, *Pepsinogen C*, *MUC3*, *MUC5AC* の発現を、腸型の形質のマーカーとして *CDX1*, *CDX2*, *MUC2*, *Villin 1* の発現を検討した。*SIM2* の mRNA 発現を明確に認めた sense のクローン 3 個と antisense のクローン 3 個とで、これらのマーカー遺伝子の発現量に明かな違いはなく、TMK-1 細胞では、*SIM2* の役割は確認できなかった。来年度は、MS-RDA 法を再試行し、メチル化と腸上皮化生とが関連する遺伝子を更に探索する。また、*SIM2* をコンディショナルに発現するトランスジェニック動物を作成し、なるべく生理的な条件下で、*SIM2* の機能を解析する。

分担研究者	所属施設	職名
牛島 俊和	国立がんセンター研究所	部長
立松 正衛	愛知がんセンター研究所	副所長

の出来事として、多くの腺管で生じていると考えられる。従って、スイッチ異常の機構としては、突然変異よりもエピジェネティックな機構が考えやすい。

### A. 研究目的

ゲノムの CpG メチル化は、DNA 複製後も、DNA メチル基転移酵素の働きにより、DNA 複製前と同じ状態が保存される。また、遺伝子プロモーター領域の CpG アイランドのメチル化は、MeCP2 等のメチル化結合蛋白質の作用を介して、遺伝子発現抑制をきたす。

DNA メチル基転移酵素の欠失マウスは、正常に発生することは出来ず、DNA メチル化模様の維持・形成は、個体発生に必須である。また、個体発生過程において、CpG メチル化は緻密な制御を受け、各組織に特異的なメチル化のパターンが形成される。これらの事実から、メチル化は組織分化の制御と維持に重要な役割を果たしていると考えられている。

胃の腸上皮化生は、胃粘膜が腸粘膜への異常な分化を示す病態である。幽門部を中心に、腸の形質をもつ腺管が多クローナル性に出現し、胃底部へと広がることが多い。多クローナルな出現様式から、化生の発生に重要な遺伝子スイッチの異常は、独立

本研究では、腸上皮化生においてメチル化が変化した DNA 断片をゲノム網羅的に単離、発現が変化した遺伝子を同定する。それらの遺伝子の中には、腸上皮化生の発生のスイッチとして働く、マスター遺伝子が含まれる可能性が高いと考えられる。

### B. 研究方法

#### (1) 材料

ヒト胃の手術材料から、幽門部と胃体部をそれぞれ切除、EDTA 含有 buffer 中で振盪することにより、上皮のみを分離・収集した。また、腸上皮化生のある腺管とない腺管とを区別するため、エタノール固定後、アルカリホスファターゼ染色及び Alcian-blue 染色を行った。また、腺管分離に用いた近傍の粘膜を固定し、HE 染色を行った。

#### (2) MS-RDA

ゲノム DNA をメチル化感受性の制限酵素 *HpaII* で消化し、アダプターを接着後、PCR を行うことで、“*HpaII* amplicon”を作成した。テスター DNA 由来の amplicon と、ドライバー由来の

amplicon を用いて、常法に従い、2 サイクルの competitive hybridization と selective amplification を行った。

2 サイクル目の PCR 産物全体をプラスミドにクローニングし、各クローンの独立性を検討した。独立な各クローンについて、amplicon の dot blot hybridization により、テスターとドライバーのメチル化の違いを検出するか否かをスクリーニングした後、HpaII 消化したゲノム DNA の Southern blot 解析により確認した。

メチル化の違いが認められたクローンに関しては、他の症例の幽門腺と胃底腺の DNA を HpaII 消化したものをを用いて、Southern blot 解析を行った。

### (3) 塩基配列の決定とデータベースの解析

テスターとドライバーのメチル化の違いを検出したクローンに関しては、サイクルシーケンシング法により、ABI310 シーケンサーを用いて、塩基配列を決定した。得られた配列について繰返し配列をマスク後、GenBank の検索を行った。GenBank でヒト large-insert クローンにマッチしたものに關しては、MS-RDA により得られた DNA 断片近傍 3kb 以内に CpG アイランドが認められるか否か、遺伝子のエクソンが認められないかを検討した。

### (4) Bisulfite によるメチル化の状態の決定

DNA を制限酵素により切断した後、55 度で 16 時間、3 規定の bisulfite と反応させた。ゲル濾過カラムによる精製後、CpG 部位を含まないプライマーにより、メチル化された DNA 及び脱メチル化された DNA を増幅した。PCR 産物について、直接塩基配列を決定し、CpG 部位の C の波の高さと T の波の高さの比率から、メチル化された DNA 分子の比率を算出した。

### (5) 定量的 RT-PCR 法

イントロンを挟むプライマーを設計し、定量的 RT-PCR 法を行った。バイオラッド社の i cycler iQ real time PCR 装置により、GAPDH または  $\beta$ -actin 分子数に対する目的遺伝子の分子数の比率を求め

た。

### (6) 胃がん細胞株への形質導入

SIM2 遺伝子を CMV プロモーター下流に、sense 及び antisense の向きに連結した。更に、IRES 下に EGFP 遺伝子を連結し、形質導入後、SIM2 遺伝子の mRNA が転写されているかのマーカーとして利用した。

胃がん細胞株としては、TMK-1 (広島大学 安井教授の御供与)、HSC57 (国立がんセンター 柳原室長の御供与)、MKN45、MKN28 を用いた。トランスフェクションは、リポソーム法及びエレクトロポレーション法により行った。

### (7) 倫理面への配慮

臨床材料は、愛知県がんセンターの倫理規定に基づき採取した。本研究には、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針の対象となる研究は含まれない。

## C. 研究結果

### (1) メチル化の状態が異なる DNA 断片の分離 (平成 12 年度)

腸上皮化生が強い幽門腺をテスターに、腸上皮化生がない胃底腺由来の DNA をドライバーに、MS-RDA を行った。この解析により、胃底腺と幽門腺の違い、または、腸上皮化生の有無の違い、によりメチル化の状態が異なる DNA 断片を分離できる。その結果、①胃底腺と幽門腺の違いによりメチル化の状態が異なる DNA 断片 (腸上皮化生とは無関係) を 6 個、②胃底腺及び幽門腺での腸上皮化生の発生に伴い、脱メチル化される DNA 断片を 3 個、③胃底腺のみで腸上皮化生の発生に伴い、脱メチル化される DNA 断片を 7 個、④正常胃底腺ではメチル化され、正常幽門腺では脱メチル化されているものの、腸上皮化生の発生に伴い、胃底腺では脱メチル化され、幽門腺ではメチル化される DNA 断片 2 個、を分離した。

表 MS-RDA で得られたクローンのうち CpG アイランドに近接していたクローン

名前	長さ (bp)	G+C 含量	CpG スコア	CpG アイランド	Large-insert clone の accession No.	近傍の遺伝子 / クローンの部位	染色体位置	
正常胃底腺でメチル化され、腸上皮化生に伴い脱メチル化される DNA 断片								
1	B-B2	708	47	0.37	Flanked	AC022211	HNI protein / promoter	17
2	A-H2	675	46	0.88	Flanked	AL445488	KIAA0205 / Intron 1	1q
胃底腺では、正常でメチル化され、腸上皮化生に伴い脱メチル化され、幽門腺では、正常で脱メチル化され、腸上皮化生に伴いメチル化される DNA 断片								
3	A-A1	457	39	0.63	Flanked	AC068404	MEIS1 / Intron 6	2p
4	B-A5	398	66	0.59	Yes	D85922	SIM2 / Intron 2	21q

(2) DNA 断片近傍のゲノム配列の決定 (平成 12 年度)

これら 18 個の DNA 断片の塩基配列を決定し、ヒトゲノムドラフト配列を用いてデータベース検索を行った。近傍に、CpG アイランドが存在する DNA 断片 4 個を認めた (表)。

(3) 各 DNA 断片近傍の遺伝子発現の変化の検討 (平成 12 年度)

これら 4 個の DNA 断片近傍に存在した 4 個の遺伝子について、発現レベルが、腸上皮化生の有無、及び、胃底腺と幽門腺と違いと相関するかを検討した。その結果、SIM2 遺伝子について、幽門部では、腸上皮化生の発生と発現誘導との間に相関を認めた (図 1)。

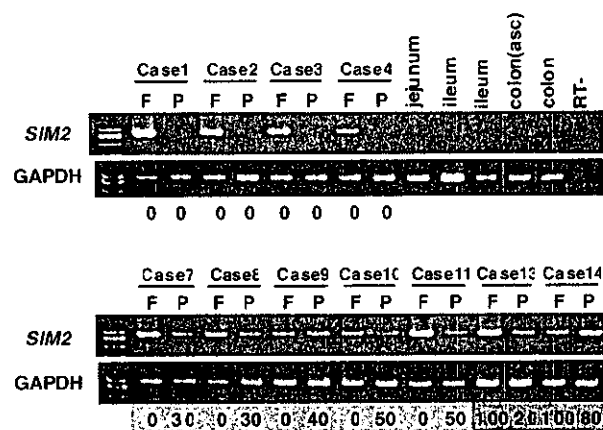


図 1 様々な程度の腸上皮化生腺管での SIM2 の発現レベル。腸上皮化生の程度(%)を各検体の下に示した。腸上皮化生がない症例(case 1-4)では、胃底腺(F)で発現し、幽門腺(P)で発現を認めない。腸上皮化生が中等度の症例 (Case 7-13)では、幽門腺でも発現を認める。腸上皮化生が強い症例(Case 14)では、幽門腺でも強い発現を認める。

(4) メチル化と腸上皮化生の相関の検討 (平成 12 年度)

SIM2 遺伝子のイントロン 2 に、DNA 断片 B-A5 は由来した。DNA 断片 B-A5 は、正常な胃

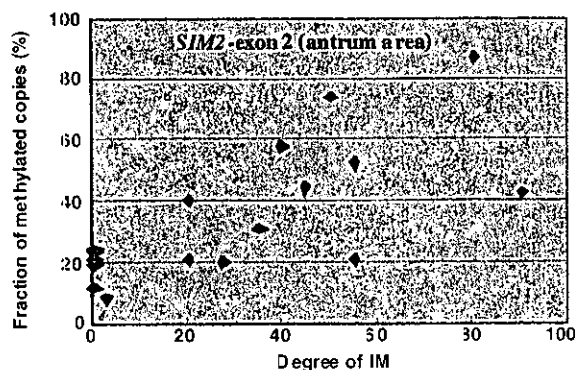


図 2 SIM2 のイントロン 2 のメチル化と腸上皮化生との相関。腸上皮化生の程度 (横軸) が強い症例ほど、イントロン 2 の強いメチル化を認めた。

底腺ではメチル化され、正常な幽門腺では脱メチル化されているが、腸上皮化生の発生に伴い、幽門腺でもメチル化された。そこで、bisulfite 法により塩基配列を決定、プロモーター領域とイントロン 2 領域について、腸上皮化生の程度とメチル化の程度との相関を検討した。プロモーター領域は、腸上皮化生の有無に関わらず、脱メチル化されていたが、イントロン 2 領域は、腸上皮化生の程度と強く相関してメチル化された (相関係数 0.75)

(5) SIM2 遺伝子の胃がん細胞株への導入と表現形質の解析 (平成 13 年度)

以上より、幽門部においては、SIM2 遺伝子のイントロン 2 のメチル化と、発現誘導と、腸上皮化生の程度とは、強く相関した。そこで、胃がん細胞株に SIM2 遺伝子を導入、胃の形質及び腸の形質に及ぼす影響を観察した。

胃粘膜の形質のマーカーとして、Pepsinogen-A, Pepsinogen-C, MUC3, MUC5AC を、腸粘膜の形質のマーカーとして、CDX1, CDX2, MUC2A, Villin-1 の RT-PCR 法を確立、利用した。9 種類の胃がん細胞株について、これらのマーカー遺伝子の発現を検討した結果、MKN28 細胞が、比較的、胃粘膜の形質を保っていると考えられた。

そこで、MKN28, MKN45, TMK-1, HSC57 に、CMV プロモーター下流に SIM2 遺伝子を sense 方向及び antisense 方向に結合したプラスミドを stable に導入した。MKN28, MKN45, HSC57 では、stable に導入したクローンは得られなかったが、TMK-1 では、sense 方向のプラスミドが導入されたクローン 3 個、antisense 方向のプラスミドが導入されたクローン 3 個が得られた (図 3)。Real Time PCR 法による定量的測定で、親細胞の TMK-1 細胞では、SIM2 はほとんど発現していなかったのに対し、sense を導入したクローン 1, 2, 3 では、TMK-1 に対して、それぞれ、1672 倍、27 倍、12 倍の、antisense を導入したクローン 1, 2, 3 では、それぞれ、207 倍、7 倍、71 倍の発現を認

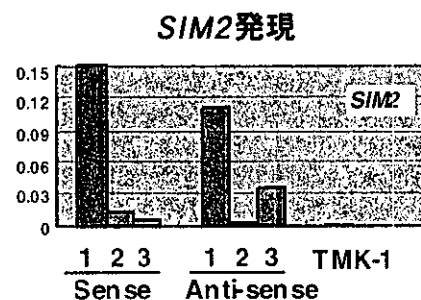


図 3 SIM2 を導入した TMK-1 細胞由来のクローンでの SIM2 遺伝子の発現レベル。

めた。

そこで、これらのクローンを用いて、胃粘膜形質のマーカー遺伝子と、腸粘膜の形質のマーカー遺伝子との発現を、Real Time PCR 法により定量的に検討した(図4)。しかし、残念ながら、sense 方向のプラスミドを導入したクローンと、antisense 方向のプラスミドを導入したクローンとで、明らかに発現量が異なるマーカー遺伝子は存在しなかった。

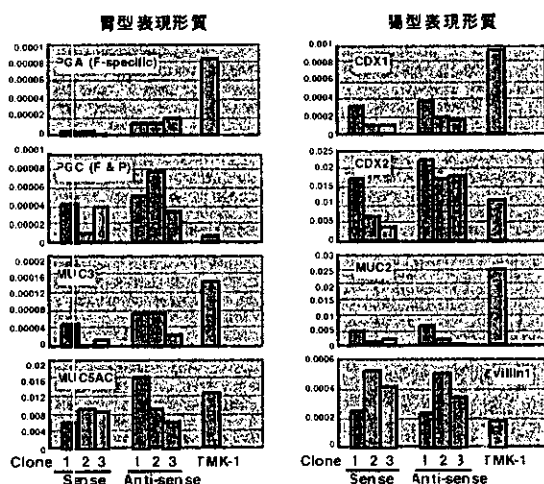


図4 SIM2を導入したTMK-1細胞由来のクローンでの胃粘膜及び腸粘膜形質のマーカー遺伝子の発現レベル。

#### D. 考察

分化の異常である腸上皮化生を材料にメチル化の変化に関してゲノムスキャンを行うことで、メチル化の状態が異なるDNA断片18個を分離した。ヒトゲノムドラフト配列を利用した周囲ゲノム構造の解析により、18個のうち4個は近傍にCpGアイランドをもつことが判明した。一般的にプロモーター領域のCpGアイランドは遺伝子のサイレンシングに積極的な意味を持つことが知られるため、4個のCpGアイランドの近傍に存在した4個の遺伝子について、腸上皮化生における発現の変化を検討した。SIM2遺伝子について、幽門部での腸上皮化生の発生と関連し、その発現誘導、及び、イントロン2のメチル化が見いだされた。他の3個の遺伝子については、関連は認められなかった。

SIM2遺伝子は、発生・組織分化に主要な役割を果たすことが知られているbHLH型の転写因子であり、その異常な転写誘導が、幽門部での腸上皮化生に関与していることは十分に考えられる。そこで、簡易にその可能性を検討する方法として、SIM2遺伝子の発現が認められない胃癌細胞株に、SIM2遺伝子を導入し、その胃型及び腸型が変化する

るか否かを検討した。現在まで、TMK-1細胞への導入に成功したが、形質の変化は認められなかった。しかし、もともと分化の方向性が失われつつあるがん細胞で、十分な解析が出来るか否か不明であり、方法論的な問題点もあると思われる。本格的な解析として、誘導可能なSIM2遺伝子をもつトランスジェニックラットを作成することを試みている。

腸上皮化生と関連してメチル化が変化しているのはイントロン2領域であり、その意義には、未知の部分が多い。材料を改良してMS-RDAを新たに行うことにより、プロモーター領域のCpGアイランドのメチル化異常が見いだされる可能性がある。今回のMS-RDAは、個体間の多型を分離することを避けるため、同一症例の、腸上皮化生がない胃底腺と、腸上皮化生が強い幽門腺とを用いた。最近1年間の様々な材料を用いたMS-RDAの経験により、異なる個体由来の材料を使用し、多型が分離されても、多型か否かは容易に判別できるようになった。そこで、異なる個体由来する、腸上皮化生が強い幽門腺と、腸上皮化生がない幽門腺とを用いて、MS-RDAを再度行う予定である。

メチル化の変化を指標に、分化のマスター遺伝子を探索する試みはユニークである。理論的には成功する可能性が高いにも関わらず、同様の試みが少ない理由として、ゲノム網羅的なメチル化の変化の検索は実験手技的に困難なためであった。しかし、最近、CpGアイランドアレー等が開発され、類似の試みが出てくる可能性が高い。研究の加速が必要と思われる、これまでに確立した一定のプロトコールに従い、効率的な研究推進を行っていく。

#### E. 結論

ゲノム網羅的なメチル化変化の検索法であるMS-RDAにより、腸上皮化生に関連してメチル化の変化を示すDNA断片を単離した。SIM2遺伝子について、幽門部では、イントロン2のメチル化、発現、腸上皮化生の程度の三者が、強く関連した(相関係数0.75)。TMK-1胃癌細胞へ導入したが、形質の変化は認められなかった。解析法として不十分である可能性があり、トランスジェニック動物の作成を行っている。また、MS-RDAを新たな材料で行い、別のメチル化が変化したCpGアイランドを同定する試みも行っている。

#### F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

(1) 論文発表

- ① Takai, D., Yagi, Y., Wakazono, K., Ohishi, N., Morita, Y., Sugimura, T. and Ushijima, T. Silencing of *HTR1B* and reduced expression of *EDN1* in human lung cancers, revealed by methylation-sensitive representational difference analysis. *Oncogene*, 20: 7505-7513 (2001).
- ② Kaneda, A., Kaminishi, M., Sugimura, T. and Ushijima, T. Reduced expression of the *Insulin-induced protein 1* and *p41 ARP2/3 complex* genes in human gastric cancers. *Int. J. Cancer*, in press.
- ③ Inada, K., Tanaka, H., Nakanishi, H., Tsukamoto, T., Ikehara, Y., Tatematsu, K., Nakamura, S., Porter, E.M., and Tatematsu, M. Identification of Paneth cells in pyloric glands associated with gastric and intestinal mixed type intestinal metaplasia of the human stomach. *Virchows Archv*, 439: 14-20 (2001).
- ④ Mizoshita, T., Inada, K., Tsukamoto, T., Kodera, Y., Yamamura, Y., Hirai, T., Kato, T., Joh, T., Itoh, M. and Tatematsu, M. Expression of *Cdx1* and *Cdx2* mRNAs and relevance of this expression to differentiation in human gastrointestinal mucosa—with special emphasis on participation in intestinal metaplasia of the human stomach. *Gastric Cancer*, 4: 185-191 (2001).

(2) 学会発表

- ① 牛島俊和、宮本和明、浅田潔、高井大哉、金田篤志、八木由紀子、若園邦子、杉村隆 ヒト乳がん、肺がん、胃がんでのメチル化異常のゲノムスキャン 第60回日本癌学会総会 2001年9月
- ② 金田篤志、上西紀夫、杉村隆、牛島俊和 MS-RDA法を用いたヒト胃癌におけるDNAメチル化異常のゲノム包括的解析 第60回日本癌学会総会 2001年9月
- ③ 金田篤志、上西紀夫、杉村隆、牛島俊和 メチル化異常のゲノムスキャンによる、ヒト胃癌での insulin-induced protein 1 のサイレンシングと p41 ARP2/3complex の発現低下の同定 第24回日本分子生物学会 2001

年12月

- ④ 胃癌の細胞分化とホメオボックス遺伝子 *Cdx1*, *Cdx2* の関与: 稲田健一, 溝下勤, 田中晴就, 塚本徹哉, 池原譲, 中西速夫, 中村栄男, 立松正衛: 第90回日本病理学会総会, 東京, 2001.
- ⑤ 溝下勤, 城卓志, 佐々木誠人, 片岡洋望, 鈴木英夫, 妹尾恭司, 横山善文, 伊藤誠, 稲田健一, 立松正衛: 胃癌の腸型分化形質発現における転写因子 *Cdx1*, *Cdx2* の関与: 第87回日本消化器病学会総会, 東京, 2001.
- ⑥ 田中晴就, 稲田健一, 溝下勤, 塚本徹哉, 池原譲, 伊藤誠二, 小寺泰弘, 山村義孝, 中村栄男, 立松正衛: 腸上皮化生における *Cdx* 遺伝子および胃・腸分化マーカー遺伝子の発現: 第90回日本癌学会総会, 横浜, 2001.
- ⑦ 胃癌の細胞分化とホメオボックス遺伝子 *Cdx1*, *Cdx2* の関与: 稲田健一, 溝下勤, 田中晴就, 塚本徹哉, 中西速夫, 城卓志, 伊藤誠, 伊藤誠二, 小寺泰弘, 山村義孝, 中村栄男, 立松正衛: 第90回日本癌学会総会, 横浜, 2001.
- ⑧ 溝下勤, 城卓志, 妹尾恭司, 横山善文, 伊藤誠, 稲田健一, 立松正衛: 胃癌における *HoxC8*, *Cdx1*, *Cdx2* の発現: 第43回日本消化器病学会大会, 京都, 2001.
- ⑨ Ushijima, T. A genomic scanning method for differential methylation “Methylation-sensitive-representational difference analysis (MS-RDA)” Genomic Imprinting Workshop, Osaka. January, 2001.
- ⑩ Ushijima, T., Okochi, E., Oishi, S., Sugimura, T. and Poirier, L. A. Induction of hypomethylation of specific target genomic regions by feeding of methyl-deficient diet. 8th International Conference on Environmental Mutagen, Shizuoka, October, 2001.

B. 知的所有権の取得状況  
なし

腸上皮化生をモデルとしたマスター遺伝子制御による組織分化の研究

分担研究者 立松 正衛 愛知県がんセンター研究所部長

ヒト胃粘膜に多く見られる腸上皮化生は、従来から胃がんの発生母地になり得ると考えられてきた。近年ではその発生が、ヘリコバクターピロリ菌により惹起されることもわかってきた。しかしその発生のメカニズムは未だ不明であり、どのような遺伝子群が関与しているのかについても良くわかっていない。

A. 研究目的

腸上皮化生の発生に、ヒト腸管上皮の発生・分化に関わっている転写因子 Cdx1 および Cdx2 が関与する可能性について検索する目的で、腺管分離法により分離した幽門部腺管を対象に、両者の mRNA の発現を定量的 RT-PCR 法により検討した。合わせて胃型、腸型のマーカー遺伝子の発現についても調べ、化生の程度と亜型との相関を調べた。

腸上皮化生粘膜での Cdx1 および Cdx2 の発現についてはすでに報告されているが、化生の亜型との関連や、Cdx1 と Cdx2 の発現量の違いに関する詳細な報告は未だない。さらに、胃型、腸型のマーカー遺伝子の発現について同時に調べた報告もこれまでのところ見当たらない。

B. 研究方法

本年度は、小腸・大腸粘膜上皮細胞の分化誘導因子である Cdx1 および Cdx2 と、それらにより発現制御を受けているとされる複数の遺伝子に焦点を絞って解析した。

1) 胃癌のため外科的切除されたヒト新鮮胃粘膜より、非腫瘍部幽門部粘膜を採取し、腺管分離法により胃粘膜腺管を単離した。

2) 単離腺管を 95%エタノールで固定し、アルシアンブルー染色を施行後、位相差顕微鏡下で化生の有無と亜型によって腺管を選別した。

3) サンプルより mRNA を抽出後 cDNA を合成し、上記の種々の遺伝子に対する特異的プライマーを用いた半定量的 RT-PCR 法により、遺伝子発現の変化を解析した。

C. 研究結果

アルシアンブルー染色に陽性を示す杯細胞と幽門腺を指標にして、胃型、胃腸混合型、腸単独型の腺管により分け、各々に対し定量的 RT-PCR 法により胃型、腸型の分化マーカー遺伝子の発現と

Cdx1, Cdx 2 遺伝子の発現を比較検討した。胃型マーカー遺伝子としては、MUC5AC, pepsinogen II, histamine H2 receptor を、腸型マーカー遺伝子としては MUC2, villin 2, sucrase-isomaltase, carbonic anhydrase 1, defensin 6 を対象とした。

胃型マーカー遺伝子は、化生の程度が進むにつれて発現が減少し、逆に腸型マーカー遺伝子は増大した。さらに、腺管における腸型細胞の割合が増すにつれて、Cdx1, 2 とともに発現の増加が観察された。

D. 考察

ヒト胃粘膜における腸上皮化生の発生に、Cdx1, 2 遺伝子の発現が関与している可能性が示唆された。sucrase-isomaltase 遺伝子は小腸特異的に、carbonic anhydrase 1 は大腸特異的に発現すると言われているが、腸上皮化生においてはそのどちらの発現も強く、化生腺管が小腸、大腸のいずれに近いものかは判定できなかった。このことは腸上皮化生を、小腸や大腸といった個々の臓器との類似性に限定するのではなく、正常の発生・分化において Cdx1, 2 遺伝子が支配する領域のあらゆる遺伝子発現が、胃粘膜において異常に起こる現象、と大きく捉えることの重要性を物語っていると思われる。

来年度は、Cdx1 および Cdx2 遺伝子が、これまで検索してきた胃型、腸型マーカー遺伝子のいずれの発現を制御しているかを明らかにする予定である。また、化生の進行に伴う胃型マーカー遺伝子の発現低下が、いかなるメカニズムによるものかを検索する。

E. 結論

腸上皮化生の発生における Cdx1 および Cdx2 の関与が明らかとなったが、両者により制御を受けるとされる複数の遺伝子 (villin 2, sucrase-



isomaltase, carbonic anhydrase 1) も同時に変化していたことから、より上位に位置すると考えられる未知の分化のマスター遺伝子の存在と関与が推測される。次年度は、それらに直接的に迫る解析が期待される。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Inada, K., Tanaka, H., Nakanishi, H., Tsukamoto, T., Ikehara, Y., Tatematsu, K., Nakamura, S., Porter, E.M., and Tatematsu, M.: Identification of Paneth cells in pyloric glands associated with gastric and intestinal mixed type intestinal metaplasia of the human stomach, *Virchows Archv*, 439: 14-20, 2,001.
2. Mizoshita, T., Inada, K., Tsukamoto, T., Kodera, Y., Yamamura, Y., Hirai, T., Kato, T., Joh T., Itoh, M., and Tatematsu, M.: Expression of Cdx1 and Cdx2 mRNAs and its relevance to differentiation in the human gastrointestinal mucosa – special emphasis on participation in intestinal metaplasia of the human stomach. *Gastric Cancer* 4: 185-191, 2,001.

##### 2. 学会発表

1. 田中晴就, 稲田健一, 塚本徹哉, 溝下勤, 田中あづさ, 小寺泰弘, 山村義孝, 中村栄男, 立松正衛: 腸上皮化生におけるホメオボックス遺伝子 Cdx1, Cdx2 の発現, 第 59 回日本癌学会総会, 2,000 年 9 月, 横浜.
2. 溝下勤, 稲田健一, 田中晴就, 山村義孝, 小寺泰弘, 立松恵子, 城卓志, 伊藤誠, 立松正衛: 腸型ヒト胃癌におけるホメオボックス遺伝子 Cdx1, Cdx2 の発現, 第 59 回日本癌学会総会, 2,000 年 9 月, 横浜.
3. Inada, K., Tanaka, H., Nakanishi, H., Tsukamoto, T., Ikehara, Y., Tatematsu, K., Nakamura, S., Porter, E.M., and Tatematsu, M.: Identification of Paneth cells in pyloric glands associated with gastric and intestinal mixed type intestinal metaplasia of the human stomach, *International Academy of Pathology*, Nagoya, 2,000 年 10 月, 名古屋.

#### H. 知的所有権の取得状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takai, D., <u>Ushijima, T.</u> <i>et al.</i>	Silencing of <i>HTR1B</i> and reduced expression of <i>EDNI</i> in human lung cancers, revealed by methylation-sensitive representational difference analysis.	Oncogene	20	7505-7513	2001
Kaneda, A., <u>Ushijima, T.</u> <i>et al.</i>	Reduced expression of the <i>Insulin-induced protein 1</i> and <i>p41 ARP2/3 complex</i> genes in human gastric cancers.	Int. J. Cancer			In press.
Inada, K., <u>Tatematsu, M.</u> <i>et al.</i>	Identification of Paneth cells in pyloric glands associated with gastric and intestinal mixed type intestinal metaplasia of the human stomach	Virchows Archv	439	14-20	2001
Mizoshita, T., <u>Tatematsu, M.</u> <i>et al.</i>	Expression of <i>Cdx1</i> and <i>Cdx2</i> mRNAs and relevance of this expression to differentiation in human gastrointestinal mucosa--with special emphasis on participation in intestinal metaplasia of the human stomach.	Gastric Cancer	4	185-191	2001

20010443

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。