

20020165

厚生科学研究研究費補助金
厚生科学特別研究事業

分子生物学、分子免疫学を駆使した
微小残存、転移病変の評価ならびに
適切な集学的治療と予後推測法の開発

平成14年度 総括研究報告書

主任研究者 畠 清彦

平成15(2003)年3月

目 次

I. 総括研究報告

分子生物学、分子免疫学を駆使した微小残存、転移病変の評価ならびに
適切な集学的治療と予後推測法の開発

細胞周期関連分子、アポトーシス関連遺伝子の発現と種々のがん細胞の微小残存、 微小転移度との関連に関する研究	-----	1
島 清彦		

II. 分担研究報告

1. サイトケラチンと p53-細胞周期関連遺伝子の発現による乳癌のリスク群の分類	-----	3
伊藤 良則		
2. Bone morphogenetic protein (BMP)と乳癌骨転移との関係	-----	5
高橋 俊二		
3. 分子生物学を駆使した大腸癌肝転移巣近傍の癌の進展についての検討	-----	7
國土 典宏		
4. 大腸癌の免疫原性を利用した微小転移病変ならびにその治療に関する研究	-----	10
山口 俊晴		
5. 微小転移の実態把握と診断の迅速化・簡易化に関する研究	-----	12
中森 正二		
6. 転移性大腸癌、胆のう癌細胞に対するモノクローナル抗体を用いた 早期診断と免疫原性の研究	-----	15
石坂 幸人		
7. 細胞周期のチェックポイントに関係するホメオボックス遺伝子の各転移性腫瘍に おける意義 Six と HAT (Histone Acetyl Transferase)	-----	17
川上 潔		
III. 研究成果の刊行物・別刷	-----	19

総括研究報告書

細胞死誘導に關与する分子を用いた転移、残存病変の評価と治療への応用
微小転移度との關連に關する研究

主任研究者 島清彦 財団法人癌研究会附属病院 化学療法科 部長

CD13の発現している白血病である、急性前骨髄球性白血病では、アミノペプチダーゼ活性により、内皮細胞由来インターロイキン8が分解されてしまうために、このサイトカインによる細胞死誘導が耐性となっていることを見出した。さらにこの酵素に対する阻害剤を用いると、この耐性を克服できることを報告した。肺がんでもこの阻害剤を使用すると予後改善をはかれることが報告されている。また阻害剤の血管内皮細胞に対する効果を検討したところ、内皮細胞由来インターロイキン8の放出を刺激することがわかった。また大腸癌でもCD13の発現している細胞が認められた。

伊藤良則	財団法人癌研究会	医長
高橋俊二	財団法人癌研究会	医員
國土典宏	東京大学 外科学	助教授
山口俊晴	財団法人癌研究会	消化器外科部長
中森正二	大阪大学医学部	助手
石坂幸人	国立国際医療センター	部長
川上潔	自治医科大学生物学	教授

A. 研究目的

これまでに報告されていない分子標的と治療法の開発や応用についてさらに推進するために、CD13やその他の細胞死関連因子を中心に、白血病や悪性リンパ腫、大腸癌を中心に発現と転移や薬剤耐性との関連を検討し、新たな転移、予後を規定する因子を見出し、治療法の選択に寄与できるようにする。

B. 研究方法

白血病では細胞表面のアミノペプチダーゼCD13、シグナル伝達に關係する蛋白や細胞死関連因子に注目して行く。悪性リンパ腫では抗体療法を中心とした治療に対する反応性および耐性の研究を行う。大腸癌では薬剤耐性株細胞を用いて細胞死関連遺伝子の発現を検討する。特にCD13は最近白血病だけでなく、大腸癌や肺癌でも発現が報告されており、株細胞における薬剤耐性株細胞の樹立、薬剤による細胞死誘導の系の確立、各種細胞表面酵素活性の測定、FACSによる細胞表面抗原の解析、細胞質内シグナル伝達系、細胞死関連蛋白に中心をおいて研究する。特に発現が特異的に高く見出されたものは、遺伝子導入株細胞または dominant negative clone の作成により細胞の特性を研究する。

C. 研究結果

CD13という抗原の発現では、急性前骨髄球性白血病での内皮細胞由来インターロイキン8による細胞死誘導に対して耐性となるが、アミノペプチダーゼという酵素の活性によるものと判明し、酵素阻害によって細胞死が誘導できることがわかった。さらにこの現象は、肺癌、大腸癌でも発現していることによる予後不良因子の一つであることがわかった。化学療法剤に対する耐性にも影響していることがわかった。

D. 考察

CD13だけでなく血管内皮細胞での発現やがん細胞に発現していて転移や予後に關係する因子についての研究が必要である。特にこの細胞死耐性に關与するCD13は、肺癌、大腸癌でも発現しているものがあり、薬剤耐性や転移、予後推測に有用となる可能性が高く、臨床例での解析も必要である。

E. 結論

白血病における内皮細胞由来インターロイキン8による細胞死に対して耐性であるのは、CD13というアミノペプチダーゼ活性の発現による。またこの機序は、肺癌、大腸癌の一部でも発現しており、化学療法との併用など今後の治療法の考慮に有用である。

F. 健康危険情報

特にありません。

G. 論文発表

1. 論文発表

Mori M, Uchida M, Watanabe T, Kirito K, Hatake K, Ozawa K, Komatsu N. Activation of extracellular signal-regulated kinases ERK1 and ERK2 induces Bcl-XL up-regulation via inhibition of caspase activities in erythropoietin signaling. *J Cell Physiol.* In press. 2003.

Tada K, Ito N, Hatake K. Severe infusion reactions due to Herceptin. *Breast cancer*, 2002. in press.

Takashi Ikeda, Ken Sato, Naruo Kuwada, Takuya Matsumura, Takuya Yamashita, Fumihiko Kimura, Kiyohiko Hatake, Kazuma Ikeda and Kazuo Motoyoshi. Interleukin-10 differentially regulates monocyte chemoattractant protein-1 gene expression depending on the environment in a human monoblastic cell line, UG3. *J Leukocyte Biol.* 2002;72:1198-205.

Samada K, Igarashi H, Shiraishi H, Hatake K, Momoi MY. Increased serum granulocyte colony-stimulating factor correlates with coronary artery dilatation in Kawasaki disease. *Eur J Pediatr.* 2002 Oct;161(10): 538-41.

Fujii N, Ikeda T, Ikeda K, Hiraki A, Kawakami K, Masuda K, Maeda Y, Hatake K, Motoyoshi K, Harada M, Tanimoto M. Differentiation of monoblastic cell line UG3 into leukemic dendritic cells. *Int J Oncol.* 2002 Sep;21(3):617-20.

Watanabe J, Mizunuma N, Aruga A, Oguchi M, Hatake K. Trigeminal neuralgia caused by lymphomatous compression at oval foramen. *Eur J Haematol.* 2002 May;68(5):323.

Mishima Y, Matsumoto-Mishima Y, Terui Y, Katsuyama M, Yamada M, Mori M, Ishizaka Y, Ikeda K, Watanabe J, Mizunuma N, Hayasawa H, Hatake K. Leukemic cell-surface CD13/aminopeptidase N and resistance to apoptosis mediated by endothelial cells. *J Natl Cancer Inst.* 2002 Jul 3;94(13):1020-8.

Mishima Y, Terui Y, Mishima Y, Katsuyama M, Mori M, Tomizuka H, Takizawa T, Miyazato A, Ueda M, Yamada M, Hayasawa H, Mizunuma N, Ishizaka Y, Ikeda K, Kato T, Ozawa K, Hatake K. New human myelodysplastic cell line, TER-3: G-CSF specific downregulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase IV. *J Cell Physiol.* 2002 May;191(2): 183-90.

Teranishi A, Akada S, Saito S, Hatake K, Morikawa H. Macrophage colony-stimulating factor restored chemotherapy-induced granulocyte dysfunctions: role

of IL-8 production by monocytes. *Int Immunopharmacol.* 2002 Jan;2(1):83-94.

2. 学会発表

特にありません。

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得

特にありません。

2. 実用新案登録

特にありません。

3. その他

特にありません。

分担研究報告書

サイトケラチンと p53-細胞周期関連遺伝子の発現による乳癌のリスク群の分類

分担研究者 伊藤良則 財団法人癌研究会化学療法科 副部長

乳癌において臨床的に化学療法剤、特にTaxane系薬剤に対する反応と種々の遺伝子との相関について検討した。まだ十分な相関が得られている訳ではないが、今後の課題である。

A. 研究目的

癌に対して多くの手術療法や化学療法、放射線療法が開発され、行われている。手術後や化学療法後に早期に再発する症例も依然として存在することも事実である。各種臓器の原発とするがんに対して特異的なマーカーである抗原や遺伝子の発見は、多くの期待を持って今後の癌の臨床経過や予後を推測させ、早期に対処できるようになることが期待される。しかし現実にはまだ多くの症例での検討や基礎的意味付けの必要な部分が多く残っている。そこで社会のニーズに答えるような臨床的検討から、微小残存病変や微小転移病変の有無の評価やその結果を生かして予後を推測することに生かせれば患者さんへの恩恵や社会への貢献度が高いと考えられる。そのための基礎的および臨床的研究を行う。

1. 微小残存病変、微小転移病変の評価

臨床検体の使用については各施設の IRB、厚生省の遺伝子解析研究の倫理指針案に従う。

2. 病変における細胞の特性の研究

B. 研究方法

乳癌組織における癌遺伝子やサイトケラチンの発現を、RT-PCR法を用いて検討した。主として乳癌組織の一部から、mRNAを抽出し、それぞれの特異的オリゴヌクレオチドを用いて RT-PCR の系を作成して、検討した。Her-2の発現している症例においては早くよりtransuzumabを用いた単剤またはタキサン系薬剤を併用した治療を行って報告した。

C. 結果

サイトケラチンの発現については十分に検討したが、癌組織において発現が検出されても、群間で

の差を認める所見は得られなかった。他の遺伝子についてはさらに検討が必要である。Her-2の発現している症例ではtransuzumabとの併用が有効であった。

D. 考察

現在も種々の遺伝子異常が乳癌において報告されてきている。まだどの遺伝子がかもっとも予後推測や再発予測に最も有用であるかは今後の検討を要する。

transuzumabの無効例について検討を要する。

E. 結論

まだ結論づけられる有用な遺伝子を特定できずに至っていない。さらに種々の遺伝子における検討を要すると考えられる。

F. 健康危険情報

特にありません。

G. 研究発表

1. 論文発表

入江哲也、伊藤良則、相羽恵介、高橋俊二、渡邊純一郎、多田敬一郎、荒川泰弘、宮里昌代、奥平多恵子、堀越昇、島清彦 Herceptin(trastuzumab)が奏功した乳癌皮膚転移の1例 Biotherapy 16:87-90, 2002

伊藤良則、田部井敏夫、高塚雄一 日本における臨床試験の現状 乳癌の臨床 17:7-13, 2002

伊藤良則 乳癌補助化学療法におけるEBM Breast Cancer Today 18:2-9, 2002

澤木正孝、伊藤良則 乳癌における分子標的治療の実際 -HER2, トラスツズマブ- Pharma Medica 20:19-23, 2002

伊藤良則 乳癌手術後のLHRH・タモキシフェン投与

期間 日本医事新報 4098:95-96, 2002

多田敬一郎、伊藤良則、畠清彦 乳がんにおける緩和的
化学療法 がん看護 7:204-207, 2002

澤木正孝、伊藤良則、多田敬一郎、永崎栄次郎、奥平多
恵子、荒川泰弘 入江哲也、渡邊純一郎、水沼信之、高
橋俊二、相羽恵介、宮里昌代、堀越昇、畠清彦、斉藤光
江、霞富士雄、小倉廣之、秋山太、坂元吾偉 術前化学
療法に trastuzumab (Herceptin) が奏効し、切除可能と
なった局所進行乳癌の1例 乳癌の臨床 17:572-576,
2002

K. Sugiyama, K. Omachi, K. Fujiwara, T. Saotome, N.
Mizunuma, S. Takahashi, Y. Ito, Keisuke Aiba, N. Horikoshi.
Irinotecan hydrochloride for the treatment of recurrent and
refractory Non-Hodgkin Lymphoma. A single institution ex-
perience Cancer. 94:594-600, 2002

Y. Ito Chemotherapy and hormone therapy for breast cancer:
Current status and perspective. JMAJ 45:424-433,2002

Y. Ito Chemotherapy for breast cancer. International Medi-
cal News. 393:5-6, 2002

K. Tada, Y. Ito, K Hatake, T. Okudaira, J. Watanabe, M.
Arakawa, M Miyazato. T. Irie, N. Mizunuma, S Takahashi,
K. Aiba, N. horikoshi, F. Kasumi. Severe infusion reaction
induced by trastuzumab. A case report. Breast Cancer in
press

2. 学会発表

特に有りません。

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得

特にありません。

2. 実用新案登録

特にありません。

3. その他

特にありません。

分担研究報告書

Bone morphogenetic protein (BMP)と乳癌骨転移との関係

分担研究者 高橋 俊二 財団法人癌研究会化学療法科 医員

転移性乳癌においては、増殖の際に骨髄での破骨細胞は、活性化されて、骨病変では中心的役割を演じている。破骨細胞の活性化を抑制する薬剤によって制御すると転移性乳癌の増殖が抑制される事がある。TGFβ系の一つであるBMP (Bone morphogenetic protein)の発現について検討した。

A. 研究目的

前立腺癌、乳癌などに認められる造骨性転移の機序については未だ明らかになっていない。最近乳癌の造骨性転移のモデルが開発されつつあり、本研究では乳癌の造骨性転移と最も強力な骨形成因子であるTGFファミリーのひとつBMPとの関連について検討し、乳癌細胞に対するBMPの効果を増殖、分化、形態、遺伝子発現レベルについて詳細に検討することを目的として研究を行った。

B. 研究方法

1) 乳癌組織におけるBMPs及びBMP-receptor mRNAの発現をRT-PCRを用いて多数例で検討し、臨床的な骨転移との相関を検討した。

2) 乳癌細胞株6株について、BMPによる増殖制御の有無をTGF-β、Activinと比較して検討し、骨転移に影響を及ぼす遺伝子の発現レベルに対する検討を開始した

C. 結果

1. ほぼ全ての乳癌組織においてRT-PCRによる検討で複数のBMPsの発現およびBMP receptorsの発現が認められた。臨床的な骨転移との相関の検討では、乳癌原発巣のBMP-6発現と骨転移頻度との間に正の相関が認められた。初めて乳癌におけるBMPの発現と骨転移との相関を認めた。

2. BMP-receptorは全ての乳癌細胞株に発現しているが、BMP-2・BMP-4はestrogen receptor (ER) 陽性株においてのみ増殖抑制効果が認められ、TGF-beta, activinとは異なった。さらに同じER陽性株でもMCF-7では過剰estradiolの追加によりBMPによる増殖抑制作用が完全に抑えられたがZR-75-1ではestradiolの影響は全く認められず、増殖抑制が複数の機序を介している可能性が示唆された。

3) マウス左心室に乳癌細胞株を注入する、あるいはマウス乳房に乳癌細胞株を注入する骨転移モデルを確立し、BMPまたはBMP receptor発現レベルの違いによる骨転移能の差、BMP発現抑制による骨転移抑制の有無の検討を開始した。

D. 考察

BMPによる増殖抑制は他の骨親和性の悪性疾患である前立腺癌、多発性骨髄腫細胞でも認められており、骨特異的な治療の一つとしてBMPの直接投与、あるいは骨におけるBMP産生を刺激する薬物による治療の開発が期待される。

E. 結論

初めて乳癌におけるBMPの発現と骨転移との相関を認めた。

BMPによる増殖抑制は他の骨親和性の悪性疾患である前立腺癌、多発性骨髄腫細胞でも認められており、骨特異的な治療の一つとしてBMPの直接投与、あるいは骨におけるBMP産生を刺激する薬物による治療の開発が期待される。

F. 健康危険情報

特にありません。

G. 研究発表

1. 論文発表

Katsuki Sugiyaa, Ken Omachi, Keiichi Fujiwara, Takashi Saotome, Nobuyuki Mizunuma, Shunji Takahashi, Yoshinori Ito, Keisuke Aiba, Noboru Horikoshi
Irinotecan Hydrochloride for Treatment of Recurrent and Refractory Non-Hodgkin Lymphoma. Cancer 94(3):595-600,2002

2. 学会発表

進行再発乳癌における anastrozole の治療
成績 高橋俊二、第 11 回 日本乳癌学会
新潟

高橋俊二 悪性腫瘍に伴う骨疾患について
学術講演会 東京 5月17日

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得

特にありません。

2. 実用新案登録

特にありません。

3. その他

特にありません。

分担研究報告書

分子生物学を駆使した大腸癌肝転移巣近傍の癌の進展についての検討

—とくに肝実質方向および Glisson 鞘方向進展について—

分担研究者 國土 典宏 東京大学外科学 助教授

食道がんや肝臓癌の切除例において周囲のリンパ節の病理所見と再発との関係を検討する。さらに肝臓癌では増殖因子産生腫瘍に着目して、再発のマーカーとした。腫瘍由来の細胞を用いて増殖因子の産生調節機構を検討している

A. 研究目的

胆嚢癌の術式は胆摘から肝膵切除

(Hepatopancreaticoduodenectomy: HPD)に至るまで多くの術式が存在し、進行度に応じて選択される。術式の種類によって手術侵襲は大きく異なるため、術前の正確な Staging が不可欠と考えられる。しかし、この Staging の根拠となる深達度とリンパ節転移の正確な術前診断は困難なことが多く、過不足のない術式選択が意外と難しいのが実状である。

そこで、本研究では胆嚢癌の術前 Staging はどの程度可能なのか？術中得られる情報としてのリンパ節転移の迅速診はどのように活用すべきなのか？これらの術前・術中に得られる情報のみから手術方針、特に郭清範囲を決定する合理的で実用的なアルゴリズムが確立できるかを検討した。

B. 研究方法

対象は1978年以降、東京大学肝胆膵外科および癌研究会附属病院消化器外科で切除した胆嚢癌161例のうちss以深で非郭清となった9例を除く152例である。

術前の画像診断はUS、CTをルーチンに行い、EUS、血管造影を必要に応じて施行した。最終的な術前の深達度およびリンパ節転移診断はすべての画像診断所見を総合して主治医が行った。術式の種類は肝床切除+D2を基本術式として早期癌の一部では胆摘のみを、進行癌では必要に応じて膵頭十二指腸切除を含む拡大手術、拡大郭清を選択した。

C. 結果

1. 予後因子

切除後の予後因子の単変量解析を行うと、性別を除くすべての因子（深達度、リンパ節転移、病理学的分化度、胆管浸潤の有無、術前深達度診断、TNM stage）が有意であった。このうちCoxの比例ハザードモデルによる多変量解析で有意であったのは深達度、リンパ節転移、病理学的分化度の3つの因子のみであった。

2. 術前画像診断

EUS、USでは胆嚢壁の3層構造と腫瘍との関係が描出されれば、深達度診断はかなり正確に行うことができるが、mp癌では深達度の確定は困難であった。EUSによる深達度の正診率はm癌で69.2%、ss癌で52.4%であった。血管造影は胆嚢動脈のencasementに注目することによってss以深への浸潤が判定できる。ss癌の76%、se・si癌の98%でこの診断が可能であった。

深達度別に術前診断の精度を検討すると、se以上の進行癌の診断は比較的容易であったが、m・mp癌の正診率は37.8%、ss癌も33.3%と正確な診断が困難であった。一方、リンパ節転移の術前診断はさらに困難で、n1の正診率は6.7%、n2で32%と不良であった。

3. リンパ節部位別転移率

術前診断SS癌では12cと13aの転移率が高く、術前診断SE・SI癌では12b、cおよび13aの転移率が高かった。つまり、一群である12bおよびcと、二群の13aがkey nodeと考えられた。

4. 拡大郭清の意義

n2以上症例について、膵頭十二指腸切除PD施行の有無と、16a2およびb1-interを含むD3の拡大郭清のあるなしで予後をretrospectiveに比較した。両者に明らかな拡大郭清の意義は認められなかった。

D. 考察

リンパ節郭清範囲についての Algorithm

以上の結果より、術前得られるもっとも重要な情報である深達度診断と、術中得られる key node の迅速診断を組み合わせるとリンパ節の郭清範囲についての Algorithm を考案した。ここでは N の分類は TNM に準じた。

まず、術前に M 癌と診断された症例の pN1 である確率は 4%、pN2 以上である確率は 0% である。12b,c の sampling を行い転移がなければ pN0 などで郭清不要である。転移がある場合は pN2 の可能性はないので、1 群つまり 12 番のみ全郭清すれば根治となる。

次に術前に SS 癌と診断された症例のリンパ節転移の確率は 37%、pN2 以上の確率は 26% であった。まず、12b,c の郭清（日本の規約の D1）を行い、その中に転移がなければ pN0 と判断できるためそれ以上の郭清は必要ない。転移がある場合は次に 13a の sampling を行い、そこに転移がなければ pN2 の可能性はないので、12 番のみ全郭清する。転移がある場合は自動的に pN2 であるので予後不良と考えられ、通常 2 群までの郭清を行う。

術前に SE または SI 癌と診断された症例ではリンパ節転移の確率は 64%、pN2 以上の確率は 43% と高率である。まず 12b,c の sampling を行い、転移がなければ、転移陽性の可能性は 22% に大きく低下するので、ハイリスク症例以外は D2 を行い、根治をめざす。12b,c に転移がある場合は pN2 の可能性が 63% と高くなり予後不良であるが、一応 D2 までの郭清を行う。

E. 結論

画像診断を駆使しても胆嚢癌の正確な術前 Staging は困難で、深達度の正診率は 52.6%、リンパ節転移は 31.4% であった。しかし、術前 Staging は予後をある程度反映しており、術中の 12b, c, 13a などの key node の迅速診を組み合わせることによって合理的で実用的な郭清範囲決定のためのアルゴリズムを作成することができた。ただし、n1 以下の症例はこの方針で過不足のない手術が可能であるが、n2 以上の進行癌では拡大手術によっても予後の改善は困難であった。

F. 健康危険情報

対象症例の予後調査にあたっては、プライバシーに充分配慮して研究を行った。

G. 研究発表

1. 論文発表

國土典宏、幕内雅敏、今村 宏、菅原寧彦、赤松延久 肝硬変合併肝細胞癌に対する肝葉切除 手術 56(9):1137-1143 2002

Norihiko Kokudo, Yoshio Miki, Sachiko Sugai, Akio Yanagisawa, Yo Kato, Yoshihiro Sakamoto, Junji Yamamoto, Toshiharu Yamaguchi, Tetsuichiro Muto, Masatoshi Makuuchi

Genetic and histological assessment of surgical margins in resected liver metastases from colorectal carcinoma - minimum surgical margins for successful resection 手術 56(9):1137-1143

國土典宏 超音波メス（コラム） LiSA 9(7):718

國土典宏

肝切除で用いられる局所止血剤（コラム）

LiSA 9(7):719

國土典宏

門脈圧亢進症治療における外科医の役割

(Editorial) 日門亢会誌 7:197-199

國土典宏、脊山泰治、今村 宏、菅原寧彦、幕内雅敏

膵頭十二指腸切除術における膵消化管吻合 4. 二期的膵空腸吻合術

外科 64(6):680-684

國土典宏、今村 宏、菅原寧彦、幕内雅敏

J 型切開方法の具体的開胸開腹法と視野の展開

臨床外科 vol.57(5):601-604

Norihiko Kokudo, David R. Vera, Keiichiro Tada, Mitsuru Koizumi, Makoto Seki, Toshiki Matsubara, Hirotohi Ohta, Toshiharu Yamaguchi, Takashi

Takahashi, Toshifusa Nakajima, Tatsuichiro Muto

Predictors of successful hepatic resection - prognostic usefulness of hepatic asialoglycoprotein receptor analysis World J Surg 26:1342-1347

Norihiko Kokudo, Masatoshi Makuuchi

Extent of Resection and Outcome Following Curative Resection for Intrahepatic Cholangiocarcinoma

Surg Oncol Clin N Am 11 (2002): 969-983, J

Nicolas vauthey Ed. Elsevier Science

Norihiko Kokudo, Masatoshi Makuuchi

Liver Tumors in Asia

MALIGNANT LIVER TUMORS, Current and

Emerging Therapies 2nd Edition (Chapter 34), P-A

Clavien Ed. Jones & Bartlet in press

脊山泰治、國土典宏、幕内雅敏
総胆管嚢腫の治療 外科 64(8):920-925
脊山泰治、國土典宏、幕内雅敏
電気メス付 CUSA による肝離断
外科 64(5):549-552
Tang W, Nakata M, Mafune K, Konishi T, Kokudo N,
Usuda M, Kojima N, Mizuochi T, Makuuchi M
Histochemical appearance and prognostic significance
of Maackia amurensis leikoagglutinin-positive
glycoconjugates in human gastric cancer.
Proceedings of the 37th Congress of the European
Society for Surgical Research, p.327-331, Mihaly
Boros Ed. Monduzzi Editore
矢島 浩、國土典宏、高橋 孝、太田博俊、畦
倉 薫、上野雅資、柳沢昭夫、高橋周二
超音波検査が術前診断に有用であった虫垂粘液
嚢腫の 1 例
超音波医学 29(2):J171-175
小澤文明、國土典宏、幕内雅敏
肝切除を行う癌の治療
Current Therapy 20(2): 37-41
阪本良弘、高山忠利、中塚貴志、佐野圭二、今
村 宏、菅原寧彦、國土典宏、幕内雅敏
ドナー肝動脈変異と肝動脈再建
消化器画像 vol.4(2): 193-198
Yasuhiko Sugawara, Masatoshi Makuuchi, Hiroshi
Imamura, Junichi Kaneko, Takao Ohkubo, Norihiro
Kokudo
Outflow Reconstruction in recipients of right liver
graft from living donors
Liver Transpl 8:167-168
Imamura H, Takayama T, Sugawara Y, Kokudo N,
Aoki T, Kaneko J, Matsuyama Y, Sano K, Maema A,
Makuuchi M
Pringle's maneuver in living donors
Lancet, 360:2049-2050
青木 琢、今村 宏、國土典宏、幕内雅敏
肝癌の治療に関する最新のデータ
臨床外科 57:増刊号 179-193
齋浦明夫、國土典宏、幕内雅敏
移植免疫 外科 64:1448 (外科エンサイクロペ
ディア)

関 誠、二宮栄司、太田博俊、上野雅資、新井
正美、國土典宏、高橋 孝、高野浩一、有賀明
子、山田恵子、大橋計彦、堀 雅晴、日高英
二、佐々木恵子、柳沢昭夫、加藤 洋 膵外発
育が顕著な原発性膵腫瘍との鑑別が困難であつ
た”膵外腫瘍” 9 例の画像診断による検討 膵
臓 vol.17(1):29-38
渡邊聡明、青木 琢、國土典宏、幕内雅敏、名
川弘一
大腸癌（肝転移を含む）の術中診断
外科 64(1):61-66

2. 学会発表
特にありません。

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得
特にありません。
2. 実用新案登録
特にありません。
3. その他
特にありません。

分担研究報告書

大腸癌の免疫原性を利用した微小転移病変ならびにその治療に関する研究

分担研究者 山口 俊晴 財団法人癌研究会 消化器外科 部長

comparative genomic hybridization を用いて、47例の胃癌において染色体異常を検討した。またこれについてはFISH法による検討を行った。胃癌においては染色体20qが、ある特異的な組織型と特に高頻度に認められた。大腸癌での検討中である。

A. 研究目的

各種臓器に対して行われている手術や化学療法後に再発する群が知られており、この群を手術時に検索する。この群を手術前または直後に種々のマーカーで解析し、推測または予測できればさらに良好な成績を向上できる。

B. 研究方法

微小残存病変や微小転移病変を予測するか、早期に検出でき、治療にむすびつけられるものを研究する。最近さらに手術中に行う細胞診断においてFISH法を用いて遺伝子診断する方法を改良した。

C. 結果

胃癌においてcomparative genomic hybridization法で解析した47例では、染色体20qが高頻度に認められた。同様に、今回は30例の原発性大腸癌、16例の肝臓転移例、において、疾患の進展に関係する遺伝子を解析した。原発性大腸癌では以下の異常の頻度が高かった。特に7p21 (36.7%), 7q31-36 (30%), 8q23-24 (43.0%), 12p (30%), 14q24-32 (33.3%), 16p (40.0%), 20p (33.3%), 20q (63.3%) and 21q (36.3%), 逆に遺伝子の欠失は18q12-23 (36.7%)に多く認められた。転移を有する例では、原発例に比較して8q23-24, 15q21-26, 19p and 20qが多く、18q12-23の欠失が高頻度であった。

D. 考察

これらの異常についてゲノムレベルでの解析が今後残存病変または転移を検出していく上で重要である。また転移性大腸癌例において、肝臓片葉門脈塞栓術を術前に行ったところ肝臓切除術の適応が拡大される例があることを示した。

E. 結論

今後予後調査を通じてさらに胃癌や大腸癌の再発、転移との関係を検討する。

F. 健康危険情報

特にありません。

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakajima T, Ohta K, Ohyama S, Yamaguchi T.

Progress in postoperative adjuvant chemotherapy in gastric cancer. Gan To Kagaku Ryoho 2002 Dec;29 (13):2481-7

山口俊晴、中島聰總、大山繁和、太田恵一郎、松原敏樹、上野雅資、山本順司、武藤徹一郎
「スキルス」胃癌の再発予防に何かすべきか
外科治療 86(6): 1081-1086

山口俊晴 胃癌治療のガイドラインをめぐって
日本医師会雑誌 127(1): 67-72

山口俊晴、大山繁和、太田恵一郎、中島聰總、松原敏樹、太田博俊、上野雅資、山本順司、武藤徹一郎
胃・十二指腸吻合 (Billroth I 法) と胃空腸吻合 (Billroth II 法) による再建法 ヘルス出版
25(1): 35-39

山口俊晴 モノクローナル抗体による癌治療
Drug Delivery System 17(1): 29-34

山口俊晴、大山繁和、太田恵一郎、中島聰總、松原敏樹、太田博俊、山本順司、武藤徹一郎
進行胃癌に対する標準的 D2 郭清 手術 56(5):
557-562

山口俊晴 抗腫瘍薬療法の周辺 臨床医 28(7):
1746-1747

2. 学会発表

特にありません。

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得

特にありません。

2. 実用新案登録

特にありません。

3. その他

特にありません。

分担研究報告書

微小転移の実態把握と診断の迅速化・簡易化に関する研究

分担研究者 中森 正二 大阪大学医学部外科 講師

固形癌根治手術後の再発のほとんどは、手術時に切除範囲外や遠隔臓器に遺残した微小な転移巣や浸潤巣が原因であると考えられており、このような微小癌病巣の実態の把握は、新しい癌治療戦略を考える上で重要な意義を持つものと考えられる。

A. 研究目的

固形癌根治手術後の再発のほとんどは、手術時に切除範囲外や遠隔臓器に遺残した微小な転移巣や浸潤巣が原因であると考えられており、このような微小癌病巣の実態の把握は、新しい癌治療戦略を考える上で重要な意義を持つものと考えられる。リンパ節転移や癌深達度など代表的な進展度診断が、病変の一部のみの検索しかできないために、潜在的な癌巣を検出するのに限界があることがあげられる。分子生物学的手法などを利用した微小癌病巣検出のための遺伝子診断が盛んに試みられている。そこで、本研究では、癌進展度診断として最も重要なリンパ節転移診断および転移再発の指標となり得る流血中癌細胞検出の遺伝子診断において、キャピラリーPCR増幅装置を利用し、診断の迅速化・簡易化をはかり、さらに定量性を導入、客観性のある臨床応用可能な遺伝子診断を行うことをめざした。

B. 研究方法

1) 定量的リンパ節転移遺伝子診断

リンパ節転移の定量的遺伝子診断の検討材料として、大腸癌7症例から郭清したリンパ節102個を用いた。得られたリンパ節を半割し、一方をHE染色による組織学的検査を行い、残りの半分のリンパ節よりRNAを抽出し、CEAを遺伝子マーカーとして、LightCyclerTM（キャピラリーリアルタイムPCR定量増幅装置；ロシュダイアグノスティック社）を用いてRT-PCRを行った。CEA遺伝子発現量の定量は、CEA発現が報告されているヒト胃癌細胞株MKN45よりRNAを抽出しRT-PCRを行い、これを用いてCEA発現の検量線を作成し、この検量線を用いて摘出リンパ節における相対的CEA発

現量を求め定量化を行った。さらに、病理検査結果、従来のRT-PCR法による遺伝子増幅産物の検出による診断結果と比較した。

2) 定量的流血中癌細胞遺伝子診断

末梢血中に存在する癌細胞検出のための定量的遺伝子診断の検討材料として、肝臓癌切除16例（63検体）および非癌健常人41例から末梢血を採取した。肝臓癌切除例においては、切除前後の肝静脈血、門脈血も採取した。肝臓癌遺伝子マーカーとして、従来から利用されているAFP遺伝子を用いた。通常のRT-PCR反応はシングルステップ反応で増幅回数は35回とした。また、リアルタイムPCR定量増幅も通常PCRと同一のプライマー、同一条件で行った。さらに、肝細胞癌切除例36検体（末梢血26、肝静脈血7、門脈血3）、非癌健常人末梢血41検体については蛍光ハイブリダイゼーションプローブをAFP増幅のためのPCRプライマー間に設定し、AFP特異的増幅を定量した。なお、リアルタイムPCRにおけるAFP定量のための検量線は、肝癌培養細胞HuH7を用いて作成した。

C. 結果

1) 定量的リンパ節転移遺伝子診断

組織学的検査で転移を認めたリンパ節16個、手術時に採取したリンパ節からRNAを抽出し、定量結果が得られるまでの平均的所要時間は、約2時間半ほどであった。

2) 血液中癌細胞の定量的遺伝子診断

従来から行われてきた遺伝子診断の手法である通常のRT-PCR法による検出では、健常人29例においてAFP特異的増幅バンドは検出されなかった。肝臓癌検体では、健常人と同様に3回の反応で3

回とも検出されなかった検体が53あり、3回の内1回以上検出された検体が10で、再現性に関する問題、検出感度限界に関する問題が明らかになった。より特異的にAFP発現を検出すべく、蛍光ハイブリダイゼーションプローブをAFP増幅のためのPCRプライマー間に設定してリアルタイムPCRを行った結果、健康人31例の末梢血サンプルではAFPの検出ができず、肝臓癌症例では、36サンプル中9サンプルでAFP発現量以上の発現を認めた。リアルタイムPCRを用いた定量的PCRにより、リンパ節中や血液中微量癌細胞の定量的検出の可能性が見いだされた。

D. 考察

現在行われている病理迅速診断に比べ検査時間がかかることを考えると、今後は、その検査の適応を明らかにした上で、多数症例での再発や予後との関連性を検討を行い、臨床応用の可能性を検討していく必要があるものと考えられた。

E. 結論

Real Time PCR を用いて、肝臓癌切除症例での末梢血におけるAFP mRNAの定量が可能であり、従来の方法より特異性が向上し、応用性が高いことが示された。

F. 健康危険情報 特にありません。

G. 研究発表

1. 論文発表

Sakon M, Nagano H, Nakamori S, Dono K, Umeshita K, Murakami T, Nakamura H, Monden M. Intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma after hepatectomy: analysis based on tumor hemodynamics. Arch Surg 137: 94-99, 2002.

Sakon M, Nagano H, Dono K, Nakamori S, Umeshita K, Yamada A, Kawata S, Imai Y, Iijima S, Monden M. Combined intraarterial fluorouracil and subcutaneous interferon-alpha therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. Cancer 94(2): 435-42, 2002.

Morimoto O, Nagano H, Sakon M, Eguchi H, Miyamoto A, Kondo M, Arai I, Yamamoto T, Dono K, Takamura M, Murakami T, Nakamori S, Nakamura H, Monden M. Liver abscess formation after microwave coagulation therapy applied for hepatic metastases from surgically excised bile duct cancer: Report of a case. Surg Today 32: 454-457, 2002.

Tsuji Y, Nakamori S, Ariyoshi H, Sakon M, Aono Y, Ueda A, Tokunaga M, Nakamura T, Monden M. Cancer cell contact causes oscillatory and polarized rise of cytoplasmic ionized calcium concentration in

human umbilical vein endothelial cells. Int J Oncol 21: 541-546, 2002.

Kondo M, Dono K, Sakon M, Shimizu J, Nagano H, Nakamori S, Umeshita K, Wakasa K, Monden M. Adenosquamous carcinoma of the gallbladder. Hepat-Gastroenterol 49: 1230-1234, 2002.

Eguchi H, Nagano H, Sakon M, Miyamoto A, Kondo K, Arai I, Morimoto O, Dono K, Umeshita K, Nakamori S, Wakasa K, Monden M. A successful resection and long-term survival of a patient with intrahepatic recurrence of combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: Report of a case. Surg Today 32: 742-746, 2002.

Takano T, Hasegawa Y, Miyauchi A, Matsuzuka F, Yoshida H, Kuma K, Hayashi N, Nakamori S, Amino N. Quantitative analysis of osteonectin mRNA in thyroid carcinomas. Endocr J 49(4):511-516, 2002

Maezaki N, Kojima N, Sakamoto A, Tominaga H, Iwata C, Tanaka T, Monden M, Damdinsuren B, Nakamori S. Total Synthesis of the Antitumor Acetogenin Mosin B: Desymmetrization Approach to the Stereodivergent Synthesis of threo/trans/erythro-Type Acetogenins. Chemistry 9(2):389-399, 2003

Yamamoto S, Tomita Y, Nakamori S, Hoshida Y, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M, Aozasa K. Elevated expression of valosin-containing protein (p97) in hepatocellular carcinoma is correlated with increased incidence of tumor recurrence. J Clin Oncol 21: 447-452, 2003.

Okami J, Nakamori S, Yamamoto H, Sakon M, Tsujie M, Hayashi N, Nahano H, Dono K, Umeshita K, Ishikawa O, Ohigashi H, Monden M. An immunohistochemical study of Cyclooxygenase(COX)-2 expression in endocrine tumors of the pancreas. J Exper Clin Cancer Res 21(4): 569-576, 2003.

Muro S, Takemasa I, Oba S, Matoba R, Ueno N, Maruyama C, Yamashita R, Sekimoto M, Yamamoto H, Nakamori S, Monden M, Ishii S, Kato K. Identification of expressed genes linked to malignancy of human colorectal carcinoma by parametric clustering of quantitative expression data. Genome Biol 2003;4(3):R21

Miyamoto A, Kato T, Dono K, Umeshita K, Kawabata R, Hayashi S, Kubota M, Kobayashi S, Nagano H, Nakamori S, Sakon M, Monden M.

Living related liver transplantation with renoportal anastomosis for a patient with large spontaneous splenorenal collateral. Transplantation (in press).

Kobayashi S, Dono K, Tanaka T, Takahara S, Isaka Y, Imai E, Nagano H, Kato T, Umeshita K, Nakamori S, Sakon M, Monden M. Gene transfer into the liver by plasmid injection into the portal vein combined with electroporation. J Gene Med. (in press).

Okami J, Nakamori S, Hiraoka N, Tsujie M, Hayashi N, Yamamoto H, Fujiwara Y, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M. Suppression of pancreatic cancer cell invasion by a cyclooxygenase-2-specific inhibitor. Clin Exp Metastasis (in press).

Hayashi H, Nakamori S, Okami J, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Narimatsu H, Monden M. The association with expression levels of CA19-9 and N-acetylglucosaminyl-1,3-galactosyltransferase 5 (7

3Gal-T5) gene in human pancreatic cancer tissue.
Pathobiology (in press)
Yamamoto S, Nakamori S, Tsujie M, Takahashi Y,
Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Tomita
Y, Hoshida Y, Aozasa K, Kohno K, Monden M.
Expression of UDP-N-acetyl-D-galactosamine:
Polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferase-3
(GalNAc-T3) in adenocarcinoma of the pancreas.
Pathobiology (in press)

2. 学会発表
特にありません。

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得
特にありません。
2. 実用新案登録
特にありません。
3. その他
特にありません。

分担研究報告書

転移性大腸癌、胆のう癌細胞に対するモノクローナル抗体を用いた早期診断と免疫原性の研究

分担研究者 石坂 幸人 国立国際医療センター名難治疾患研究部 部長

大腸癌、胆嚢癌に対するモノクローナル抗体を作成した。さらにこの抗体を用いて特異性、反応の陽性率を検討した。大腸癌に対する抗体には、各抗腫瘍剤を化合物として抱合体を作成し、抗腫瘍効果と特異性を検討した。

A. 研究目的

癌に対して多くの手術療法や化学療法、放射線療法が開発され、行われている。手術後や化学療法後に早期に再発する症例も依然として存在することも事実である。各種臓器の原発とするがんに対して特異的なマーカーである抗原や遺伝子の発見は、多くの期待を持って今後の癌の臨床経過や予後を推測させ、早期に対処できるようになることが期待される。しかし現実にはまだ多くの症例での検討や基礎的意味付けの必要な部分が多く残っている。そこで社会のニーズに答えるような臨床的検討から、微小残存病変や微小転移病変の有無の評価やその結果を生かして予後を推測することに生かせれば患者さんへの恩恵や社会への貢献度が高いと考えられる。そのための基礎的および臨床的研究を行う。

1. 微小残存病変、微小転移病変の評価
臨床検体の使用については各施設の IRB、厚生省の遺伝子解析研究の倫理指針案に従う。
2. 病変における細胞の特性の研究

B. 研究方法

RET 結合ペプチドによる癌細胞の標的化

- a. RET に結合するペプチドをランダムペプチドライブラリーから同定し、RBP-1 と命名した。アミノ酸配列は、KAGRGRDR であった。
- b. RBP-1 を培養液中に添加すると、選択的に RET 陽性細胞に取り込まれた。
- c. N-末側にビオチンを付加し、アビジン化ポリリジン及びプラスミドを用いることにより遺伝子導入を試みた。

C. 結果

コントロール細胞に対して RET 発現細胞では、約 70 倍の遺伝子導入効率の上昇が認められた。

a. RET 陽性腫瘍の担癌マウスを作成し、その腹腔中に 100 ug/100 ul の RBP-1 を注入し、1 時間後腫瘍を切除、腫瘍へのペプチドの集積を解析した。その結果、腫瘍細胞への集積が認められた。

卵巣癌におけるレセプター型チロシンキナーゼ RET 遺伝子発現

- a. 卵巣癌細胞株 4 例について、免疫染色を行ったところ、RET 発現が認められた。
- b. ウェスタン法による解析により、卵巣癌細胞株では、約 110kDa の蛋白質として、RET が発現していた。
- c. ヒト卵巣癌約 90 例について、免疫組織化学的解析による RET 発現を解析した。その結果、約 80% の症例で RET 発現が観察された。

D. 考察

1. 今回同定された RBP-1 により、RET を標的とした癌選択的治療法及び診断法の開発の可能性が示唆された。
2. 卵巣癌に発現 RET 遺伝子は、プロト型であることが示唆された。

E. 結論

1. 卵巣癌に対して RBP-1 を用いた画像診断法を確立することにより、腹腔内残存微小癌に対する非侵襲的な診断法が可能となり、患者の QOL が著しく改善すると期待される。
2. CD34 陽性細胞での RET 発現が報告されている。今後、RBP-1 を用いた癌標的を実践に移すためには、より未分化な幹細胞と考えられている

AC133細胞におけるRET発現の有無を明らかにすることが、まず重要と思われる。

F. 健康危険情報 特にありません。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Minemoto, Y. Uchida, S. Ohtsubo, M. Shimura, M. Sasagawa, T. Hirata M. Nakagama, H. Ishizaka, Y. & Yamashita, K. Loss of p53 Induces M-phase retardation following G2 DNA damage Checkpoint abrogation. Arch. Biochem. Biophys. in press.

2. Mishima, T. Mishima, Y. Terui, Y. Katsuyama, M. Yamada, M. Mori, M. Ishizaka, Y., Ikeda, K. Watanabe, J. Mizunuma, N. Hayasawa, H. & Hatake, K. Resistance mechanisms of CD13/Aminopeptidase-N to apoptosis mediated by endothelial cells. J. Natl. Cancer Inst. 94 1020-1028 (2002).

3. Mishima, Y. Terui, Y. Mishima, Y. Katsuyama, M. Mori, M. Tomizuka, H. Takizawa, T. Miyazato, A. Ueda, M. Yamada, M. Hayasawa, H. Mizunuma, N. Ishizaka, Y. Ikeda, K. Kato, T. Ozawa, K. & Hatake, K. New human myelodysplastic cell line, TER-3: G-CSF specific downregulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase IV. J Cell Physiol. 191 183-90 (2002).

2. 学会発表

特にありません。

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得

特にありません。

2. 実用新案登録

特にありません。

3. その他

特にありません。

分担研究報告書

細胞周期のチェックポイントに関係するホメオボックス遺伝子の各転移性腫瘍における意義
Six と HAT (Histone Acetyl Transferase)

分担研究者 川上 潔 自治医科大学 教授

転写因子SixファミリーのうちのひとつhSix1が、骨髄CD34陽性細胞ではGM-CSFによる分化をした方が、Epo, Tpoによる分化よりもより発現していた。また多方向に分化する株細胞 UT-7 を用いてノザン解析を行うと、GM-CSF によって刺激した場合により hSix1 が発現していた。

A. 研究目的

SIX- ホメオドメイン蛋白質 SIX1 はコアクチベーターEya遺伝子群とともに、正の転写因子として働くのみならず、細胞周期制御因子としての機能も有することが示唆されている。SIX1 遺伝子は乳ガン細胞株において高発現がみられ、転移を伴う癌細胞において特に発現量の増加がみられる。私たちはヒト未分化血球細胞に SIX1 が発現すること、分化・増殖停止に従い発現が低下することを見いだした。私たちは（1）未分化がん細胞における SIX1 遺伝子の強制的発現抑制が細胞の分化および増殖の停止を誘導し、がんの遺伝子治療への応用となるかどうかを検証する。（2）SIX1 の分化増殖制御の分子の実体、の2点を明らかにするべく研究を開始した。

B. 研究方法

SIX1 遺伝子のがん細胞において分化および増殖の制御にかかわる機構を明らかにするために、SIX1 が誘導可能な形質転換細胞株を構築し、細胞の性状がどのように変化するかを観察した。HL60細胞に FLAG-SIX1 を IPTG 誘導のかかるベクターで形質転換し、約 10 株の形質転換クローンを得た。

C. 結果

各クローンでの SIX1 の発現は形質転換細胞株から調製した核抽出液をゲルシフト法で分析することで確認できた。細胞性状の解析結果は、SIX1 タンパク質の発現誘導にともなって、細胞の増殖速度は増加し、細胞同士および、細胞と培養フラスコ表面への接着性が増加する傾向がみられた。この細胞接着性の増加が癌の転移の形質と関連すると考えられる。SIX1 と共同して作用する Eya 遺伝子群の動態を解析したところ、少なくとも EYA3 遺伝子は、SIX1 の誘導とともに発現増強が観察された。

D. 考察

SIX1 の働きの1つとして、SIX1 と共同して働くコアクチベーター遺伝子産物や細胞接着因子を転写レベルで誘導することが考えられた。現在、標的遺伝子をマイクロアレイで解析中である。また、誘導発現株から FLAG-SIX1 を核抽出液および細胞抽出液より FLAG のアフィニティカラムで精製し、in vivo で結合する因子を同定し、転写因子としての機能以外に細胞周期制御因子群との相互作用を観察することを計画している。

E. 結論

強力な転写活性化ドメインである VP16 と Six1 との融合タンパク質を発現するアデノウイルスベクターを構築し、培養細胞に感染させ、感染初期に誘導される遺伝子群をマイクロアレイを用いて同定した。コントロールとして特異的な DNA 結合能を欠く変異 Six1 (ホメオドメイン中の一アミノ酸置換) と VP16 との融合タンパク質を発現するアデノウイルスベクターを用いて、野生型と変異型との間で有意な発現量の差を生じた遺伝子を標的遺伝子候補とした。

c-fos induced growth factor, Ras homologue family (Arche1), Map kinase -interacting serine/threonine kinase 1 (Mknk1), zinc finger proliferation 1, zinc-finger transcription factor (Zipr1) を初め、増殖分化に係わる遺伝子群や、機能が未知の遺伝子が標的遺伝子として同定されている。

F. 健康危険情報

特にありません。

G. 研究発表

Ozaki, H., Watanabe, Y., Ikeda, K. and Kawakami, K. (2002) Impaired interactions between mouse Eya1 harboring mutations found in patients with branchio-oto-renal syndrome and Six, Dach and G proteins. *J. Hum. Genet.* 47, 107-116.

Sato, S., Nakamura, M., Cho, D. H., Tapscott, S. J., Ozaki, H. and Kawakami, K. (2002) Identification of transcriptional targets for Six5: Implication for the pathogenesis of myotonic dystrophy type 1. *Hum. Mol. Genet.* 11, 1045-1058.

Ikeda, K., Watanabe, Y., Ohto, H. and Kawakami, K. (2002) Molecular interaction and synergistic activation of a promoter by Six, Eya and Dach proteins mediated through CBP. *Mol. Cell. Biol.* 22, 6759-6766.

Fougerousse, F., Durand, M., Lopez, S., Suel, L., Demignon, J., Thornton, C., Ozaki, H., Kawakami, K., Barbet, P., Beckmann, J.S., Maire, P. (2002) Six and Eya expression during human somitogenesis and MyoD gene family activation. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 223, 255-264

池田啓子、川上 潔 (2002) 新しい分子標的。
Pharma Medica, 20, 67-73.

2. 学会発表

特にありません。

H. 知的財産権の出願。登録状況

1. 特許取得

特にありません。

2. 実用新案登録

特にありません。

3. その他

特にありません。