

厚生労働科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）
分担研究報告書

膵がんの臨床病理学的特性の基盤となる分子・細胞機構

分担研究者 坂元 亨宇 慶應義塾大学医学部病理学教室教授

研究要旨：外科切除された膵がんの腫瘍組織あるいは膵がん細胞株を、SCID マウスの膵臓に同所性に移植し、膵がんの増殖・浸潤・転移を模倣するモデルを作成した。これら膵がん細胞、腫瘍組織を遺伝子発現解析に供して、膵がんの増殖・浸潤・転移に関与する遺伝子を解析した。浸潤性膵管がんの殆どの症例で強発現を示す分子に関しては、抗体による解析で、特に浸潤部で発現亢進を示すこと、ラッフリング部にてアクチンと共局在することを示した。NOG-SCID マウスを用いて、膵がん神経浸潤ならびに肝転移モデルの作成に向けての基礎的検討を開始し、一部の細胞株では、実際の症例類似の神経周囲浸潤を示すことを確認した。

A. 研究目的

膵がんは日本におけるがん死亡原因の第五位に位置し、最も予後不良な悪性腫瘍の一つである。これは、膵の解剖学的位置に加えて、膵がん自体が高い悪性度を有し、早期より浸潤・転移をきたすことや、早期発見が困難であることが原因と考えられている。よって膵がんの浸潤・転移機構の解明と早期に発見できる新しい診断法の開発を進めることで予後の改善が可能になると期待される。

以上をふまえ、本研究では膵がん手術材料の解析から、膵がんの臨床病理学的特性を一層明らかにすると共に、その基盤となる分子・細胞機構の解析を、実際のがんをよく模倣する同所性移植モデル等を用いて行う。具体的には、多数の膵がん細胞株に加えて、切除された膵がん組織を直接移植して作成したモデルを用いて、がんで発現している遺伝子、蛋白、あるいはシグナル伝達の変化などと、モデルにおける増殖、浸潤・転移性との対応を解析することで、膵がんの増殖、浸潤・転移に関与する分子を明らかにする。そしてこれらの成果を基に、早期診断法ならびに新しい標的治療法を開発することを目標とする。

B. 研究方法

膵がんの腫瘍組織あるいは膵がん細胞株

を、SCID(C.B.17/Icr)マウスないしはNOD-SCID(NOD/LtSz-scid)ないしNOG-SCID(NOD/SCID/gammac(null)実験動物中央研究所より供与)マウスの膵臓に移植し、膵がんの増殖・浸潤・転移を模倣するモデルを作成した。腫瘍の同所性移植モデルは、膵がん手術材料を洗浄後1~2mm角に細切し、3~5匹のSCIDマウス(5週令、雄)の膵臓に縫着した。3~4か月後に犠牲死させ、病理学的検索および他のSCIDマウスへ同様に継代を行った。これら細胞、移植腫瘍組織からRNAを抽出して、Gene Chipにて網羅的遺伝子発現解析を行った。

(倫理面への配慮)

手術標本からの組織の採取にあたっては、患者の治療方針決定のための病理学的検索を切除後迅速かつ優先して行い、その残った組織を研究に用いることにより患者への不利益はないように行った。組織サンプルの由来する患者の臨床的情報のうち本研究に必要なものは、あらかじめカルテより調査しておき、研究の過程ではサンプルは無記名で番号でだけで扱い、患者の個人を特定していない。又、本研究の結果を組織を入手した患者の臨床に直接戻って解析することは行わないことにより、患者のプライバシーは厳守されている。動物実験に関し

ては、米国実験動物資源協会の「実験動物の管理と使用に関する指針」ならびに「慶應義塾大学医学部動物実験ガイドライン」を遵守して行った。

C. 研究結果

1. 遺伝子発現解析

腫瘍組織を直接移植し樹立した株12例を対象に、HG-U133A&Bを用いて、約45000遺伝子の発現を解析した。これらの中から、正常膵組織に比して共通に高発現している遺伝子、リンパ節高転移株（8株）と非転移株（4株）の間で発現に差がある遺伝子のリストアップを行った。

共通に高発現する遺伝子は、12例中10例以上でシグナルが5000以上（全体の平均は1000）、正常膵3例のmixtureに比して8倍以上発現するという条件の下約65個の遺伝子を同定した。これらの中には、膵がんでの高発現が報告されている

MUC5, CEA, Keratin 19, Keratin 7, stratifin, integrin beta4が含まれていた。酵母でアクチンとの相互作用が示されている遺伝子のヒトホモログ遺伝子Xは、移植腫瘍ならびに、膵がん細胞株の殆ど全てにおいて高発現を認めた。特異的モノクローナル抗体を用いた検討でも、浸潤性膵管がん症例の殆どで陽性所見を認め、一方、正常膵管においては陰性ないし弱い発現しか認めなかった。特に、がんの浸潤部で発現の亢進を認めた。細胞株における蛍光抗体法による検討では、ラッフリング部にてアクチンと共局在を示した。

リンパ節高転移群で高発現する遺伝子約40個が同定され、esrin, integrin beta4, integrin alpha6, TGF alpha, 未だ同様な報告は認められない遺伝子Y等が含まれていた。

2. 膵がん肝転移・神経浸潤モデルの開発
NOD-SCIDないしNOG-SCIDマウスを用いて、膵がんの腫瘍組織を直接膵臓に移植して、同所性移植肝転移モデルの作成を開始した。今後肝転移能を有する長期継代可能な腫瘍株と有さない腫瘍株を樹立する。

また、後腹膜神経組織を皮下に移植し、同部に10種類の膵がん細胞株を移植して、神経浸潤モデル作成を試みた。免疫不全マウスの皮下に移植した神経組織（シュワン細胞）が3ヶ月以上安定であること、少なくとも一部の細胞株では実際の症例類似の神経周囲浸潤像を示すことを確認した。

D. 考察

1. 遺伝子発現解析

網羅的遺伝子発現解析は、新しい診断マーカー、疾患関連遺伝子、疾患カテゴリーの同定に有用な方法であり、多くのがんを対象に解析が進んでいる。しかし膵がんでは、サンプルが得にくいことや間質の混入が多いことなどにより、これまでの報告は少ない。この問題を克服するためにここでは、腫瘍組織を直接免疫不全マウスの膵臓に移植し、臨床像を模倣する膵がん移植株を樹立して解析を行った。現在解析は進行中であるが、膵がんで高発現する遺伝子、膵がんのリンパ節転移に関わる遺伝子の候補が得られつつあり、その中には既に膵がんで報告されている遺伝子に加えて、新規遺伝子も含まれており、これらを重点的に解析を行った。遺伝子Xは、アクチンとの相互作用が示唆され、高率に高発現を示すことから、膵がんの強い浸潤性との関連が示唆される。同分子の機能的な解析を現在進めている。遺伝子Yは、膵がんのがん間質相互作用に関与している可能性を含め、解析を継続中である。今後、様々な発現データベースとの比較も行いながら、病態関連分子の同定を目指す予定である。

2. 膵がん肝転移・神経浸潤モデルの開発
神経浸潤ならびに肝転移は、膵がんの悪性度を規定する重要な因子であり、その分子機構の解明こそが、本研究課題の最大の目的でもある。未だ、モデル作成に向けての初期段階であるが、これらのモデルの作成により、異なる肝転移能ないし神経浸潤能を示す腫瘍組織ないし細胞株間で、遺伝子発現の違いをGene Chipを用いて解析し、

それをもとに浸潤・転移関連遺伝子を同定する。さらに、得られた分子の診断・治療への応用の可能性につき、病理標本・転移モデルを用いて解析する。

E. 結論

本研究は、現在最も難治とされる膵臓がんを対象に、実際の臨床がんの病理像を一層明らかにすると共に、それを良く模倣する *in vivo*、*in vitro* モデルを最新の分子細胞生物学的手法を用いて解析し、早期診断ならびに転移・浸潤能の正確な診断を可能とし個々の症例に現時点における最適の治療法を選択可能とすると同時に、今後の新たな治療法開発のための治療標的を明らかにしようとするものである。本年度は、遺伝子発現解析により膵がん共通に高発現する遺伝子、リンパ節転移群で高発現する遺伝子を同定、解析した。また、膵がん肝転移・神経浸潤モデルの作成に向けての検討を始めた。今後さらに、同定された分子の膵がんにおける生物学的意義、診断への意義につき解析を行う。そして、浸潤、転移機構の解明、早期診断・悪性度診断に有用な分子の同定を進める。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanetaka K, Sakamoto M, Yamamoto Y, Takamura M, Kanematsu T, Hirohashi S. Possible involvement of tetraspanin CO-029 in hematogenous intrahepatic metastasis of liver cancer cells. *J Gastroenterol Hepathol* 18: 1309-1314, 2003
- 2) Horinouchi M, Nagata K, Nakamura A, Goto M, Takao S, Sakamoto M, Fukushima N, Miwa A, Irimura T, Imai K, Sato E, Yonezawa S. Expression of Different Glycoforms of Membrane Mucin (MUC1) and Secretory Mucin (MUC2, MUC5AC and MUC6) in Pancreatic Neoplasms. *Acta Histochem Cytochem* 36(5): 443-453, 2003
- 3) Tsuchiya A, Sakamoto M, Yasuda J, Chuma M, Ohta T, Ohki M, Yasugi Y, Taketani Y, Hirohashi S. Expression profiling in ovarian clear cell carcinoma: Identification of hepatocyte nuclear factor-1 β as a molecular marker and a possible molecular target for therapy of ovarian clear cell carcinoma. *Am J Pathol* 163: 2503-2512, 2003.
- 4) Takamura M, Sakamoto M, Ino Y, Shimamura T, Ichida T, Asakura H, Hirohashi S. Expression of liver-intestine cadherin and its possible interaction with galectin-3 in ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Science* 94(5): 425-430, 2003
- 5) Yasuda J, Tsuchiya A, Yamada T, Sakamoto M, Sekiya T, Hirohashi S. Nemo-like kinase induces apoptosis in DLD-1 human colon cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 308: 227-233, 2003
- 6) Shibata T, Chuma M, Kokubu A, Sakamoto M, Hirohashi S. EBP50, a β -Catenin-Associating Protein, Enhances Wnt Signaling and Is Over-expressed in Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 38:178-186, 2003
- 7) Shimamura T, Sakamoto M, Ino Y, Sato Y, Shimada K, Kosuge T, Sekihara H, Hirohashi S. Dysadherin Overexpression in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Reflects Tumor

Aggressiveness: Relationship to E-Cadherin Expression. J. Clin. Oncol., 21 : 659-667, 2003.

8) Yamamoto Y, Sakamoto M, Fujii G, Tsuiji H, Kanetaka K, Asaka M, Hirohashi S. Overexpression of Orphan G Protein-Coupled Receptor, Gpr49, in Human Hepatocellular Carcinomas with β -Catenin Mutations. Hepatology, 37: 528-533, 2003.

9) Yamazaki K, Sakamoto M, Ohta T, Kanai Y, Ohki Y, Ohki M, Hirohashi S. Overexpression of KIT in chromophobe

renal cell carcinoma. Oncogene, 22: 847-852, 2003.

10) Chuma M, Sakamoto M, Yamazaki K, Ohta T, Ohki M, Asaka M, Hirohashi S. Expression Profiling in Multistage Hepatocarcinogenesis: Identification of HSP70 as a Molecular Marker of Early Hepatocellular Carcinoma. Hepatology, 37: 198-207, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名・発表誌名・巻号・頁・出版年
Yamada T, <u>Hirohashi S</u> , et al.	Suppression of intestinal polyposis in Mdr1-deficient Apc ^{min/+} mice. <i>Cancer Res</i> , 63: 895-901, 2003.
Aoki S, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> , et al.	Prognostic significance of dysadherin expression in advanced colorectal carcinoma. <i>Br J Cancer</i> , 88: 726-732, 2003.
Kanai Y, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> , et al.	Mutation of the DNA methyltransferase (DNMT) 1 gene in human colorectal cancers. <i>Cancer Lett</i> , 192: 75-82, 2003.
Saito Y, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> , et al.	Increased protein expression of DNA methyltransferase (DNMT) 1 is significantly correlated with the malignant potential and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas. <i>Int J Cancer</i> , 105: 527-532, 2003.
Sekine S, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> , et al.	β -catenin mutations in pulmonary blastomas: association with morule formation. <i>J Pathol</i> , 200: 214-221, 2003.
Tsuiji H, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> , et al.	Aberrant O-glycosylation inhibits stable expression of dysadherin, a carcinoma-associated antigen, and facilitates cell-cell adhesion. <i>Glycobiology</i> , 13: 521-527, 2003.
Shibata T, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> , et al.	EBP50, a β -catenin-associating protein, enhances Wnt signaling and is over-expressed in hepatocellular carcinoma. <i>Hepatology</i> , 38: 178-186, 2003.
<u>Hirohashi S</u> , et al.	Cell adhesion system and human cancer morphogenesis. <i>Cancer Sci</i> , 94: 575-581, 2003.
Seike M, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> , et al.	Proteomic analysis of intestinal epithelial cells expressing stabilized β -catenin. <i>Cancer Res</i> , 63: 4641-4647, 2003.
Sato H, <u>Hirohashi S</u> , et al.	Dysadherin: expression and clinical significance in thyroid carcinoma. <i>J Clin Endocrinol Metab</i> , 88: 4407-4412, 2003.

Shimamura T, <u>Sakamoto M,</u> <u>Hirohashi S,</u> et al.	Dysadherin overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma reflects tumor aggressiveness: relationship to E-cadherin expression. <i>J Clin Oncol</i> , 21 : 659-667, 2003.
Kondo T, <u>Hirohashi S,</u> et al.	Application of sensitive fluorescent dyes in linkage of laser microdissection and two-dimensional gel electrophoresis as a cancer proteomic study tool. <i>Proteomics</i> , 3: 1758-1766, 2003.
Sekine S, <u>Hirohashi S,</u> et al.	β -catenin mutations are frequent in calcifying odontogenic cysts, but rare in ameloblastomas. <i>Am J Pathol</i> , 163: 1707-1712, 2003.
Nakagawa T, <u>Hirohashi S,</u> et al.	Increased DNA methyltransferase 1 protein expression in human transitional cell carcinoma of the bladder. <i>J Urol</i> , 170: 2463-2466, 2003.
Etoh T, <u>Hirohashi S,</u> et al.	Increased DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein expression correlates significantly with poorer tumor differentiation and frequent DNA hypermethylation of multiple CpG islands in gastric cancers. <i>Am J Pathol</i> , 164: 689-699, 2004.
Nam JS, <u>Sakamoto M,</u> <u>Hirohashi S,</u> et al.	5-Aza-2'-deoxycytidine restores the E-cadherin system in E-cadherin-silenced cancer cells and reduces cancer metastasis. <i>Clin Exp Metas</i> , in press.
Shibata T, <u>Hirohashi S,</u> et al.	Cytoplasmic p120 ^{ctn} regulates the invasive phenotypes of E-cadherin deficient breast cancer. <i>Am J Pathol</i> , in press.
Loukopoulos P, <u>Sakamoto M,</u> <u>Hirohashi S,</u> et al.	Orthotopic transplantation models of pancreatic adenocarcinoma derived from cell lines and primary tumors and displaying varying metastatic activity. <i>Pancreas</i> , in press.
Seike M, <u>Hirohashi S,</u> et al.	Proteomic signature of human cancer cells. <i>Proteomics</i> , in press.
Honda K, <u>Hirohashi S,</u> et al.	Alternative splice variant of actinin-4 in small cell lung cancer. <i>Oncogene</i> , in press.
Asada K, <u>Ushijima T,</u> et al.	Reduced expression of GNA11 and silencing of MCT1 in human breast cancers. <i>Oncology</i> , 64: 380-388, 2003.

Kaneda A, <u>Ushijima T</u> , et al.	Methylation-sensitive-representational difference analysis and its application to cancer research. <i>Ann N Y Acad Sci</i> , 983: 131-141, 2003.
Miyamoto K, <u>Ushijima T</u> , et al.	Methylation-associated silencing of heparan sulfate D-glucosaminyl 3-O-sulfotransferase-2 (3-OST-2) in human breast, colon, lung and pancreatic cancers. <i>Oncogene</i> , 22: 274-280, 2003.
<u>Ushijima T</u> , et al.	Fidelity of the methylation pattern and its variation in the genome. <i>Genome Res</i> , 13: 868-874, 2003.
Koizume S, <u>Shiraishi M</u> , et al.	Specific methylation status of the entire CpG island is not a prerequisite for the formation of an inactive chromatin at the promoter region in cancer cells. <i>Biol Pharm Bull</i> , 26: 127-128, 2003.
Koizume S, <u>Shiraishi M</u> , et al.	Treatment of tumor cells with histone deacetylase inhibitors results in altered recruitment of methyl-CpG binding proteins to a methylated CpG island. <i>Biol Chem</i> , 384: 787-790, 2003.
<u>Shiraishi M</u> .	Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to detect methylation changes in DNA. <i>Methods Mol Biol</i> , in press.
<u>Shiraishi M</u> , et al.	Methyl-CpG binding domain column chromatography for the analysis of genomic DNA methylation. <i>Anal Biochem</i> , in press.
Kudoh A, <u>Kiyono T</u> , et al.	Reactivation of lytic replication from Epstein-Barr virus latently infected B-cells occurs with high S-phase CDK activity while inhibiting cellular DNA replication. <i>J Virol</i> , 77: 851-861, 2003.
Fujita M, <u>Kiyono T</u> , et al.	Establishment of latrunculin-A-resistance in HeLa cells by expression of R183A D184A mutant α -actin. <i>Oncogene</i> , 22: 627-631, 2003.
Nagata KI, <u>Kiyono T</u> , et al.	Filament formation of MSF-A, a mammalian septin, in mammary HMEC cells depends on interactions with microtubules. <i>J Biol Chem</i> , 278: 18538-43, 2003.
Imabayashi H, <u>Kiyono T</u> , et al.	Redifferentiation of dedifferentiated chondrocytes and chondrogenesis of human bone marrow stromal cells via chondrosphere formation with expression profiling by large-scale cDNA analysis. <i>Exp Cell Res</i> , 288: 35-50, 2003.

Kyo S, <u>Kiyono T</u> , et al.	Successful immortalization of endometrial glandular cells with normal structural and functional characteristics. <i>Am J Pathol.</i> 163: 2259-2269. 2003.
Kudoh A, <u>Kiyono T</u> , et al.	Inhibition of S-phase cyclin-dependent kinase activity blocks expression of Epstein-Barr virus immediate-early and early genes, preventing viral lytic replication. <i>J Virol</i> , in press.
Takeda Y, <u>Kiyono T</u> , et al.	Can the life-span of human marrow stromal cells be prolonged by bmi-1, E6, E7, and/or telomerase without affecting cardiomyogenic differentiation? <i>J Gene Med</i> , in press.
Sawada M, <u>Kiyono T</u> , et al.	Molecular mechanisms of TNF- α -Induced ceramide formation in human glioma cells. <i>Cell Death Differ</i> , in press.
Hara S, <u>Kiyono T</u> , et al.	p53-independent ceramide formation in human glioma cells during γ -radiation-induced apoptosis. <i>Cell Death Differ</i> , in press.
Oikawa K, <u>Kiyono T</u> , et al.	Expression of a novel human gene, hWAPL, is associated with cervical carcinogenesis and tumor progression. <i>Cancer Res</i> , in press.
Fukami F, <u>Murakami Y</u> , et al.	Promoter methylation of the TSLC1 gene in advanced lung tumors and various cancer cell lines. <i>Int J Cancer</i> , 107: 53-59, 2003.
Fukuhara H, <u>Murakami Y</u> , et al.	Association of a lung tumor suppressor TSLC1 with MPP3, a human homologue of <i>Drosophila</i> tumor suppressor Dlg. <i>Oncogene</i> , 22: 6160-6165, 2003.
Fukami T, <u>Murakami Y</u> , et al.	Isolation of the mouse Tsl1 and Tsl2 genes, orthologues of the human TSLC1-like genes 1 and 2 (TSL1 and TSL2). <i>Gene</i> , 323: 11-18, 2003.
Ito T, <u>Murakami Y</u> , et al.	Involvement of TSLC1 in progression of esophageal squamous cell carcinoma. <i>Cancer Res</i> , 63: 6320-6326, 2003.
Mao X, <u>Murakami Y</u> , et al.	The cytoplasmic domain is critical to the tumour suppressor activity of TSLC1 in non-small cell lung cancer. <i>Cancer Res</i> , 63: 7979-7985, 2003.

Saino M, <u>Murakami Y</u> , et al.	Inhibition of angiogenesis in human glioma cell lines by antisense RNA from the soluble guanylate cyclase genes, GUCY1A3 and GUCY1B3. <i>Oncol Rep</i> , in press.
Kimura T, <u>Arakawa H</u> . et al.	Impaired function of p53R2 in Rrm2b-null mice causes severe renal failure through attenuation of dNTP pools. <i>Nat Genet</i> , 34: 440-445, 2003.
Ueda K, <u>Arakawa H</u> . et al.	Dual-specificity phosphatase 5 (DUSP5) as a direct transcriptional target of tumor suppressor p53. <i>Oncogene</i> , 22: 5586-5591, 2003.
Ng CC, <u>Arakawa H</u> . et al.	p53RFP, a p53-inducible RING-finger protein, regulates the stability of p21(WAF1). <i>Oncogene</i> , 22: 4449-4458, 2003.
Kimura T, <u>Arakawa H</u> . et al.	hCDC4b, a regulator of cyclin E, as a direct transcriptional target of p53. <i>Cancer Sci</i> , 94: 431-436, 2003.
Tanikawa C, <u>Arakawa H</u> . et al.	p53RDL1 regulates p53-dependent apoptosis. <i>Nat Cell Biol</i> , 5: 216-223, 2003.
Yoshida K, <u>Arakawa H</u> . et al.	Adenovirus-mediated p53AIP1 gene transfer as a new strategy for treatment of p53-resistant tumors. <i>Cancer Sci</i> , 95: 91-97, 2004.
Yoon KA, <u>Arakawa H</u> . et al.	Identification of ALDH4 as a p53-inducible gene and its protective role in cellular stresses. <i>J Hum Genet</i> , in press.
Anazawa Y, <u>Arakawa H</u> . et al.	Identification of STAG1 as a key mediator of p53-dependent apoptotic pathway. <i>Oncogene</i> , in press.
Miyakura Y, <u>Sugano K</u> , et al.	Methylation profile of the MLH1 promoter region and their relationship to colorectal carcinogenesis. <i>Genes Chromosomes & Cancer</i> , 36: 17-25, 2003.
Sumitsuji I, <u>Sugano K</u> , et al.	Frequent genomic disorganisation of MLH1 in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) screened by RT-PCR on puromycin treated samples. <i>J Med Genet</i> , 40: pe30, 2003.
Horikawa Y, <u>Hirohashi S</u> , <u>Sugano K</u> , et al.	Hypermethylation of an E-cadherin (CDH1) promoter region in high grade transitional cell carcinoma of the bladder comprising carcinoma in situ. <i>J Urol</i> , 169: 1541-1545, 2003.

Maekawa M, <u>Sugano K</u> , et al.	Promoter hypermethylation in cancer silences LDHB, eliminating lactate dehydrogenase isoenzymes 1-4. Clin Chem, 49: 1518-1520, 2003.
Tomita N, <u>Sugano K</u> , et al.	The novel germline mutation of hMSH2 gene in a case of a hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) patient who meets the revised Amsterdam criteria. Jpn J Clin Oncol, 33: 486-489, 2003.
Miyakura Y, <u>Sugano K</u> , et al.	Extensive but hemiallelic methylation of the hMLH1 promoter region in early-onset sporadic colon cancers with microsatellite instability. Clin Gastroenterol Hepatol, 2: 147-156, 2004.
Sasaki S, <u>Imai K</u> , et al.	Differential roles of alterations of p53, p16, and SMAD4 expression in the progression of intraductal papillary-mucinous tumors of the pancreas. Oncol Rep, 10: 21-25, 2003.
Yamamoto H, <u>Imai K</u> , et al.	BRAF at the frontline of HNPCC diagnostics. Gastroenterology, in press.
Yamamoto H, <u>Imai K</u> , et al.	Activated BRAF mutations characterize colon but not gastric cancer with mismatch repair. Oncogene, in press.
Yamamoto H, <u>Imai K</u> , et al.	Activated BRAF targets proximal colon tumors with mismatch repair deficiency and MLH1 inactivation. Genes Chromosomes Cancer, in press.
Min Y, <u>Imai K</u> , et al.	Genetic blockade of the insulin-like growth factor-I receptor: a promising strategy for human pancreatic cancer. Cancer Res, 63: 6432-6441, 2003.
Yamamoto H, <u>Imai K</u> , et al.	Association of trypsin expression with tumor progression and matrilysin expression in human colorectal cancer. J Pathol, 199: 176-184, 2003.
Horiuchi S, <u>Imai K</u> , et al.	Association of Ets-related transcriptional factor E1AF expression with tumor progression and overexpression of MMP-1 and matrilysin in human colorectal cancer. J Pathol, 200: 568-576, 2003.
Matsuno K, <u>Imai K</u> , et al.	Matrix metalloproteinase matrilysin expression represents the degree of inflammation in ulcerative colitis. J Gastroenterol, 38: 348-354, 2003.

Yamamoto H, <u>Imai K</u> , et al.	Expression of ets-related transcriptional factor E1AF is associated with tumor progression and overexpression of matrilysin in human gastric cancer. <i>Carcinogenesis</i> , in press.
Yamazaki K, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> . et al.	Overexpression of KIT in chromophobe renal cell carcinoma. <i>Oncogene</i> , 22: 847-852, 2003.
Chuma M, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> . et al.	Expression profiling in multistage hepatocarcinogenesis: identification of HSP70 as a molecular marker of early hepatocellular carcinoma. <i>Hepatology</i> , 37: 198-207, 2003.
Yamamoto Y, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> . et al.	Overexpression of orphan G protein-coupled receptor, Gpr49, in human hepatocellular carcinomas with β -catenin mutations. <i>Hepatology</i> , 37: 528-533, 2003.
Takamura M, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> . et al.	Expression of liver-intestine cadherin and its possible interaction with galectin-3 in ductal adenocarcinoma of the pancreas. <i>Cancer Sci</i> , 94: 425-430, 2003.
Tsuchiya A, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> . et al.	Expression profiling in ovarian clear cell carcinoma: Identification of hepatocyte nuclear factor-1 β as a molecular marker and a possible molecular target for therapy of ovarian clear cell carcinoma. <i>Am J Pathol</i> , 163: 2503-2512, 2003.
Kanetaka K, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> . et al.	Possible involvement of tetraspanin CO-029 in hematogenous intrahepatic metastasis of liver cancer cells. <i>J Gastroenterol Hepathol</i> , 18: 1309-1314, 2003.