

厚生科学研究研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

難治性神経芽腫の克服に向けたトランスレーショナルリサーチの
基盤作りと臨床研究ネットワークの構築（H15-難治-10）

平成 15 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 中川原 章

平成 16（2004）年 4 月

目 次

I 総括研究報告

神経芽腫研究基盤の確立、DNA チップ検索	1
中川原 章	

II 分担研究報告

1 神経芽腫研究基盤の確立、DNA チップ検索	5
中川原 章	
2 分子病理組織診断、データベースの構築	9
秦 順一	

III 研究成果の刊行に関する一覧表	13
--------------------	----

IV 研究成果の刊行物・別冊	16
----------------	----

厚生科学研究費（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

難治性神経芽腫の克服に向けたトランスレーショナルリサーチの基盤作りと 臨床研究ネットワークの構築

主任研究者 中川原 章 千葉県がんセンター生化学研究部・部長

研究要旨

難治性神経芽腫の克服を目的とし、トランスレーショナルリサーチの基盤作りと臨床研究ネットワークを構築するために以下の研究を行った。(1) 我が国における神経芽腫組織バンクの拡大・充実を目的とし、平成 7 年 11 月より開始した神経芽腫の組織または遺伝子資源の保存は、昨年秋に神経芽腫マススクリーニングが休止になったにもかかわらず、この 1 年間で 192 例増加した。検体受領後の検査は、MYCN がん遺伝子のコピー数、DNA ploidy、TrkA 発現、血中 Midkine レベルの測定を行い、新たに血中 HGF (hepatocyte growth factor) の測定を加えた。また、1,200 例を対象にフォローアップ調査を行った。(2) 全国規模の難治性神経芽腫研究のための遺伝子研究支援体制を確立するために、その基盤整備を行った。(3) 難治性神経芽腫克服のための新しい予後予測法の開発とその臨床応用として、新たに DNA チップによる予後診断法の開発を行い、基礎研究に基づく臨床応用の展開を試みた。(4) 難治性神経芽腫の多施設臨床研究の基盤となる中央病理診断システムの現状と問題点を分析し、そのあり方について検討した。(5) 「神経芽腫研究会」の拡大と充実を目指し平成 15 年度は、第 3 回および第 4 回の神経芽腫研究会を開催した。分野を超えて神経芽腫に関連した基礎研究をしている研究者が多数参加し、将来のトランスレーショナルリサーチを目指して積極的な意見交換がなされた。

分担研究者

- 1 中川原 章 千葉県がんセンター研究局 部長
- 2 秦 順一 国立成育医療センター 所長

A 研究目的

小児悪性固形腫瘍の中で最も発生頻度の高い神経芽腫 なかでも進行した難治性神経芽腫の長期生存率は未だ 30%にとどまっており、わが国でも緊急な対策を必要としている。一方 このような進行神経芽腫を早期に発見すべくわが国の国家プロジェクトとして行われてきた乳児マススクリーニングは、大部分は自然退縮する神経芽腫を発見したに留まり平成 15 年秋をもって休止することか決定された。そこで、ポストゲノム時代に入り急激に変化しつつある基礎的研究の成果を有効にかついち早く難治性神経芽腫の治療へ応用するために 主任研究者である中川原の分子生物学的診断・解析を中心とした組織バンクと 分子病理組織診断を担当する分担研究者 秦が協力して、我が国における新たなトランスレーショナルリサーチの基盤を確立することを目的とした。

B 研究方法

- 1) 神経芽腫組織バンクの確立と充実 千葉県がんセンター研究局に送られてきた検体に対しては、DNA、RNA を抽出し MYCN 増幅を Southern blot 法、TrkA 発現を Northern blot 法、DNA ploidy を FACScan にて

測定した。また、新たに神経芽腫の腫瘍マーカーとなる血中 Midkine レベルおよび HGF レベルの測定を行った。

- 2) 小児がんの病理診断および多施設臨床研究における中央病理診断の現状と問題点について分析し、神経芽腫の中央病理診断システムの構築を提案した。
- 3) cDNA マイクロアレイ 千葉県がんセンター研究局において神経芽腫各サブセットから cDNA libraries を作成し、それらから抽出した約 5,500 遺伝子を cDNA マイクロアレイ化したものを用いた DNA の固定はセラミクスを用いたインクジェット方式により行った。ハイブリダイゼーションには、Cy3, Cy5 による蛍光ラベルを使用した。
- 4) (倫理面への配慮) 各施設から送られてくる検体に関しては、匿名化されインフォームト Consent が取得されたものを用いた。この運用についても千葉県がんセンター倫理審査委員会の承認を得て行われた。

C 研究結果

- 1) 神経芽腫組織バンクの拡大・充実 主任研究者の中川原が平成 7 年 11 月より開始した神経芽腫の機能的組織バンクは、昨年秋に神経芽腫マススクリーニングが休止になったにもかかわらず、この 1 年間で 192 例の検体登録がなされた。なお、インフォームト Consent の確認と匿名化には十分

な配慮を行った。検体受領後の通常検査は、通常どおり、MYCN がん遺伝子のコピー数、DNA ploidy、TrkA 発現、血中 Midkine レベルの測定を行ったが、平成 15 年度より新たに血中 HGF (hepatocyte growth factor) の測定を加えた。また、これまでのマススクリーニング発見症例の評価を行うために、1,200 例を対象にフォローアップ調査を行い、現在までに 90%の施設から回答を得た。

- 2) 全国規模の難治性神経芽腫研究のための遺伝子研究支援体制の確立 神経芽腫組織バンクに保存された組織または遺伝子資源に関し、倫理審査委員会の承認を経た後に、国内において神経芽腫研究を展開している施設または研究室へ提供することを積極的に行った。この中には、国立がんセンター研究所などが含まれる。
- 3) 適切な治療法選択と、標準的で、正確な診断を行うために、病理診断の標準化と中央病理診断システムの構築を検討した。また、神経芽腫の中央病理診断に用いる組織分類法を検討した結果、International Neuroblastoma Pathology Committee が策定した新国際分類 INPCが適当であるという結論に達した。
- 4) 難治性神経芽腫克服のための新しい予後予測法の開発とその臨床応用 現在までに行ってきた検査項目に加え、新たに DNA チップによる予後診断法の開発を行い、基礎研究に基づく臨床応用の展開を試みた。平成 14 年度までに開発した神経芽腫予後診断用チップとは別に、さらに感度と精度を上げるために、我々が神経芽腫組織から cDNA ライブラリーを作製し大量にクローニングした遺伝子 (cDNAs) 5,500 個をセラミクスを利用したインクジェット方式を用いて固定した DNA チップを開発し、136 例の神経芽腫から採取した RNA をハイブリタイズした。現在 統計解析を進めており、とくに難治性神経芽腫の予後予測法の開発に焦点を絞る予定である。また、この結果をもとに 200 遺伝子以下に絞った新たな予後診断用 cDNA マイクロアレイを作製予定である。さらに、マイクロアレイの結果を INPC 新国際分類に基づく中央分子病理診断と連携させる作業を計画している。
- 5) 「神経芽腫研究会」の拡大と充実 平成 15 年度は、第 3 回および第 4 回の神経芽腫研究会を東京

において開催した。セミクロストの会であるか、分野を超えて神経芽腫に関連した基礎研究をしている研究者が多数参加し、将来のトランスレショナルリサーチを目指して積極的な意見交換を行った。

D 考察

平成 15 年度は、過去約 25 年間行われてきた乳児神経芽腫マススクリーニングが休止され、我が国における神経芽腫研究の流れが大きく変化する年となった。あたかも、この流れに呼応するかのように、国際的に最も問題となっている難治性 (進行) 神経芽腫の克服を前提にする我々の研究が開始されることとなった。我が国にとって最大の課題は神経芽腫グループスタディが統一できず、その基盤研究支援体制が脆弱であることにある。したかつて、神経芽腫組織バンクの拡充と、新たに体制が整いつつある病理学的セントラルレビュー体制の確立がてきつつあることは大きな成果であった。今後、「神経芽腫基礎研究会」の内容充実を計り、国内で開発された DNA チップによる予後診断体制等を強化して、国際的な競争に耐え、かつ神経芽腫で苦しむ患児を救えるよう、さらに基盤整備を推進する必要がある。

E 結論

- 1) 平成 15 年度はマススクリーニングが休止されたにもかかわらず、192 例の神経芽腫検体の登録がなされた。第 3 回目のフォローアップ調査を開始した。
- 2) 神経芽腫の分子病理学的診断がセントラルレビューとしても動き出した。
- 3) 新たな cDNA マイクロアレイによる神経芽腫の予後診断体制が整備されつつある。
- 4) 第 3 回、第 4 回の「神経芽腫研究会」が開催され、難治性神経芽腫トランスレショナルリサーチのための領域を超えた体制作りが進みつつある。

F 健康危険情報

本研究により人の健康に危険となるようなことは考えられない。

G 研究発表

論文発表

- 1) Tomioka N, Kobayashi H, Kageyama H, Ohira M, Nakamura Y, Sasaki F, Todo S, Nakagawara A, Kaneko Y Chromosomes that show partial loss or gain in near-diploid tumors coincide with chromosomes that show whole loss or gain in near-triploid tumors Evidence suggesting the involvement of the same genes in the tumorigenesis of high-and low-risk neuroblastomas **Genes Chromosomes Cancer** 36 139-150, 2003
- 2) Tomizawa M, Watanabe K, Saisho H, Nakagawara A, Tagawa M Down-regulated expression of the CCAAT/enhancer binding protein a and b genes in human hepatocellular carcinoma a possible prognostic marker **Anticancer Res** 23 351-354, 2003
- 3) Kawamoto T, Ohira M, Hamano S, Hori T, Nakagawara A High expression of the novel endothelin-converting enzyme genes, *Nbla03145* /*ECEL1 α* and β , is associated with favorable prognosis in human neuroblastomas **Int J Oncol** 22 815-822, 2003
- 4) Saito-Ohara F, Imoto I, Inoue J, Nakagawara A, Sugimoto T, Inazawa J PPM1D is a potential target for 17q gain in neuroblastoma **Cancer Res** 63 1876-1883, 2003
- 5) Sakiyama S, Yu L, Tomizawa M, Shimada H, Kadomatsu K, Muramatsu T, Ikematsu S, Nakagawara A, Tagawa M Utilization of the promoter region of the midkine gene as a tool to drive therapeutic genes in a tumor specific manner **Advan Enzyme Regul** 43 57-66, 2003
- 6) Carninci P, Waki K, Shiraki T, Konno H, Shibata K, Itoh M, Aizawa K, Arakawa T, Ishii Y, Sasaki D, Bono H, Kondo S, Sugahara Y, Saito R, Osato N, Fukuda S, Sato K, Watahiki A, Hirozane-Kishikawa T, Nakamura M, Shibata Y, Yasunishi A, Kikuchi N, Yoshiki A, Kusakabe M, Gustincich S, Beisel K, Pavan W, Aidinis V, Nakagawara A, Held W A, Iwata H, Kono T, Nakauchi H, Lyons P, Wells C, Hume D A, Fagiolini M, Hensch T K, Brinkmeier M, Camper S, Muramatsu M, Okazaki Y, Kawai J, Hayashizaki Y Targeting a complex transcriptome The construction of the mouse full-length cDNA encyclopedy **Genome Res** 13 1273-1289, 2003
- 7) Ozaki T, Watanabe K, Nakagawa T, Miyazaki Takahashi M, Nakagawara A Function of p73, no p53, is inhibited by the physical interaction v RACK1 and its inhibitory effect is counteracted pRB **Oncogene** 22 3231-3242, 2003
- 8) Okamoto Y, Ozaki T, Miyazaki K, Aoyama Miyazaki M, Nakagawara A UbcH10 is the cancer related E2 ubiquitin conjugating enzyme **Cancer Res** 63 4167-4173, 2003
- 9) Ikematsu S, Nakagawara A, Nakamura Y, Sakuma Wakai K, Muramatsu T, Kadomatsu K Correlation of elevated level of serum midkine with poor prognostic factors of human neuroblastomas **Br J Cancer** 88 1522-1526, 2003
- 10) Nakagawa T, Takahashi M, Ozaki T, Watanabe Hayashi S, Hosoda M, Todo S, Nakagawara A Negative autoregulation of p73 and p53 by Δ Np73 regulating differentiation and survival of human neuroblastoma cells **Cancer Lett** 197 105-110, 2003
- 11) Ohira M, Morohashi A, Nakamura Y, Isogai Furuya K, Hamano S, Machida T, Aoyama M, Fukumura M, Miyazaki K, Suzuki Y, Sugano S, Hira J, Nakagawara A Neuroblastoma Oligo-capping cDNA Project Toward the Understanding of the Genesis and Biology of Neuroblastoma **Cancer Lett** 197 63-68, 2003
- 12) Ohira M, Morohashi A, Inuzuka H, Shishikura T, Kawamoto T, Kageyama H, Nakamura Y, Isogai I, Takayasu H, Sakiyama S, Suzuki Y, Sugano S, Goto T, Sato S, Nakagawara A Expression profiling and characterization of 4,200 genes cloned from primary neuroblastomas Identification of 305 genes differentially expressed between favorable and unfavorable subsets **Oncogene** 22 5525-5536, 2003
- 13) Miyazaki K, Ozaki T, Kato C, Hanamoto T, Fujita T, Irino S, Watanabe K, Nakagawa T, Nakagawara A A novel HECT-type E3 ubiquitin ligase, NEDL2 stabilizes p73 and enhances its transcriptional activity **Biochem Biophys Res Commun** 308 106-113, 2003
- 14) Nakamura Y, Ozaki T, Koseki H, Nakagawara A, Sakiyama S Accumulation of p27^{KIP1} is associated

- with BMP2-mediated growth arrest and neuronal differentiation of human neuroblastoma-derived cell lines **Biochem Biophys Res Commun** 307 206-213, 2003
- 15) Nakagawara A Neural crest development and neuroblastoma the genetic and biological link In NGF and Related Molecules in Health and Disease, Ed By Luigi Aloe and Laura Calza, Progress in Brain Research Vol 146, **Elsevier Science Publisher**, pp233-242, 2004
- 16) Miyazaki K, Fujita T, Ozaki T, Kato C, Kurose Y, Sakamoto M, Kato S, Goto T, Itoyama Y, Aoki M, Nakagawara A NEDL1, a Novel Ubiquitin-protein Isopeptide Ligase for Dishevelled-1, Targets Mutant Superoxide Dismutase-1 **J. Biol Chem.** 279 11327-11335, 2004
- 17) Nakagawara A, Ohira M Comprehensive genomics linking between neural development and cancer Neuroblastoma as a model In Special Issue Neural development and cancer **Cancer Lett** 204 213-224, 2004
- 18) Hamano S, Ohira M, Isogai E, Nakada K, Nakagawara A Identification of Novel Human Neuronal Leucine-Rich Repeat (hNLR) Family Genes and Inverse Association of Expression of *Nbla10449/hNLR-1* and *Nbla10677/hNLR-3* with the Prognosis of Primary Neuroblastomas **Int J Oncol** (in press)
- 19) Wang YQ, Seimiya M, Kawamura K, Yu L, Ogi T, Takenaga K, Shishikura T, Nakagawara A, Sakiyama S, Tagawa M and O-Wang J Elevated expression of DNA polymerase κ in human lung cancer is associated with p53 inactivation negative regulation of POLK promoter activity by p53 **Int. J Oncol** (in press)
- 20) Yamada S, Ohira M, Horie H, Ando K, Takayasu H, Suzuki Y, Sugano S, Matsunaga T, Hiyama E, Hayashi Y, Watanabe Y, Suita S, Kaneko M, Sasaki F, Hashizume K, Ohnuma N, Nakagawara A Expression profiling and differential screening between hepatoblastomas and the corresponding normal livers Identification of high expression of the *Plk1* oncogene as a poor-prognostic indicator of hepatoblastomas **Oncogene** (in press)
- 21) Ando K, Ozaki T, Yamamoto H, Furuya K, Hosoda M, Hayashi S, Fukuzawa M, Nakagawara A Polo-like kinase 1 (Plk1) inhibits p53 function by physical interaction and phosphorylation **J Biol Chem** (in press)
- 22) Fukuma M, Hata J, and Umezawa A Upregulation of Id2, an oncogenic helix-loop-helix protein, is mediated by the chimeric EWS/ets protein in ewing sarcoma **Oncogene**, 22 1-9, 2003
- 23) Fukuma M, Abe H, Okita H, Yamada T, Hata J Monoclonal antibody, 4C4-mAb, specifically recognizes keratan sulfate proteoglycan on human embryonal carcinoma cells **J Pathol** 201 90-98, 2003
- 24) Fukuzawa R, Eccles MR, Ikeda M, Hata J Embryonal hyperplasia of Bowman's capsular epithelium in patients with *WT1* mutations **Pediatr Nephrol** 18 9-13, 2003
- 25) Shibata R, Umezawa A, Takehara K, Aoki D, Nozawa S, Hata J Primary carcinosarcoma of the vagina **Pathol Int** 53 106-110, 2003
- 26) Shibata R, Takata A, Hashiguchi A, Umezawa A, Yamada T, Hata J, Responsiveness of chemotherapy based on the histological type and Wilms' tumor suppressor gene mutation in bilateral Wilms' tumor **Pathol Int** 53 214-220, 2003
- 27) Shibata R, Okita H, Shimoda M, Asakura H, Murai M, Sakamoto M, Hata J Primary carcinoid tumor in a polycystic kidney **Pathol Int** 53 317-322, 2003
- 28) Fukuzawa R, Hata J, Hayashi Y, Ikeda H, Reeve AE Beckwith-Wiedemann syndrome-associated hepatoblastoma wnt signal activation occurs later in tumorigenesis in patients with 11p15.5 uniparental disomy **Pediatr Develop Pathol** 6 299-306, 2003
- 29) Peuchmaur M, d'Amore ESG, Joshi VV, Hata J, Roald B, Dehner LP, Gerbing RB, Stram RB, Lukens JN, Matthay KK, Shimada H Revision of the international neuroblastoma pathology classification based on confirmation of favorable and unfavorable prognostic subsets of ganglioneuroblastoma, nodular by applying the age-linked morphologic criteria to its neuroblastic components **Cancer** 98 2274-2281, 2003
- H 知的所有権の取得状況**
特になし。

厚生科学研究費（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

難治性神経芽腫の克服に向けたトランスレーショナルリサーチの基盤作りと臨床研究ネットワークの構築

主任研究者 中川原 章 千葉県がんセンター生化学研究部・部長

研究要旨

1) 神経芽腫組織バンクの拡大・充実を目的とし、平成 7 年 11 月より開始した神経芽腫の組織または遺伝子資源の保存は、昨秋に神経芽腫マススクリーニングが休止になったにもかかわらず、この 1 年間で 192 例増加した。検体受領後の検査は、通常とおり、MYCN がん遺伝子のコピー数、DNA ploidy、TrkA 発現、血中 Midkine レベルの測定を行ったが、平成 15 年度より新たに血中 HGF (hepatocyte growth factor) の測定を加えた。また、これまでのマススクリーニング発見症例の評価を行うために、1,200 例を対象にフォローアップ調査を行い、現在までに 90%の施設から回答を得た。(2) 全国規模の難治性神経芽腫研究のための遺伝子研究支援体制を確立するために国内において神経芽腫研究を展開している施設または研究室へ提供することを積極的に行った。(3) 難治性神経芽腫克服のための新しい予後予測法の開発とその臨床応用として、新たに DNA チップによる予後診断法の開発を行い、基礎研究に基づく臨床応用の展開を試みた。200 遺伝子以下に絞った新たな予後診断用 cDNA マイクロアレイを作製中である。さらに、マイクロアレイの結果を INPC 新国際分類に基づく中央分子病理診断と連携させる作業を計画している。(4) 「神経芽腫研究会」の拡大と充実を目指し、平成 15 年度は 第 3 回および第 4 回の神経芽腫研究会を東京において開催した。分野を超えて神経芽腫に関連した基礎研究をしている研究者が多数参加し、将来のトランスレーショナルリサーチを目指して積極的な意見交換を行った。

A 研究目的

小児悪性固形腫瘍の中で最も発生頻度の高い神経芽腫、なかでも進行した難治性神経芽腫の長期生存率は未だ 30%にとどまっており、わか国でも緊急な対策を必要としている。一方、このような進行神経芽腫を早期に発見すべくわか国の国家プロジェクトとして行われてきた乳児マススクリーニングは、大部分は自然退縮する神経芽腫を発見したに留まり、平成 15 年秋をもって休止することが決定された。そこで、ポストケノム時代に入り急激に変化しつつある基礎的研究の成果を有効にかついち早く難治性神経芽腫の治療へ応用するために、我が国における新たなトランスレーショナルリサーチの基盤を確立することを目的とした。

B 研究方法

- 1) 神経芽腫組織バンクの確立と充実 千葉県がんセンター研究局に送られてきた検体に対しては、DNA、RNA を抽出し、MYCN 増幅を Southern blot 法、TrkA 発現を Northern blot 法、DNA ploidy を FACScan にて測定した。また、新たに神経芽腫の腫瘍マーカーとなる血中 Midkine レベルおよび HGF レベルの測定を行った。
- 2) cDNA マイクロアレイ 千葉県がんセンター研究局において神経芽腫各サブセットから cDNA libraries を作成し、それらから抽出した約 5,500 遺

伝子を cDNA マイクロアレイ化したものを用いた DNA の固定はセラミクスを用いたインクジェット方式により行った。ハイブリタイゼーションには Cy3, Cy5 による蛍光ラベルを使用した。

- 4) (倫理面への配慮) 各施設から送られてくる検体に関しては、匿名化されインフォームドコンセントが取得されたものを用いた。この運用についても千葉県がんセンター倫理審査委員会の承認を得て行われた。

C 研究結果

- 1) 神経芽腫組織バンクの拡大・充実 主任研究者の中川原が平成 7 年 11 月より開始した神経芽腫の機能的組織バンクは、昨秋に神経芽腫マススクリーニングが休止になったにもかかわらず、この 1 年間で 192 例の検体登録がなされた。なお、インフォームドコンセントの確認と匿名化には十分な配慮を行った。検体受領後の通常検査は、通常とおり、MYCN がん遺伝子のコピー数、DNA ploidy、TrkA 発現、血中 Midkine レベルの測定を行ったが、平成 15 年度より新たに血中 HGF (hepatocyte growth factor) の測定を加えた。また、これまでのマススクリーニング発見症例の評価を行うために、1,200 例を対象にフォローアップ調査を行い、現在までに 90%の施設から回答を得た。

- 2) 全国規模の難治性神経芽腫研究のための遺伝子研究支援体制の確立 神経芽腫組織バンクに保存された組織または遺伝子資源に関し、倫理審査委員会の承認を経た後に、国内において神経芽腫研究を展開している施設または研究室へ提供することを積極的に行った。この中には、国立がんセンター研究所などが含まれる。
- 3) 難治性神経芽腫克服のための新しい予後予測法の開発とその臨床応用 現在までに行ってきた検査項目に加え、新たに DNA チップによる予後診断法の開発を行い、基礎研究に基づく臨床応用の展開を試みた。平成 14 年度までに開発した神経芽腫予後診断用チップとは別に、さらに感度と精度を上げるために、我々が神経芽腫組織から cDNA ライブラリーを作製し大量にクローニングした遺伝子 (cDNAs) 5,500 個をセラミクスを利用したインクジェット方式を用いて固定した DNA チップを開発し、136 例の神経芽腫から採取した RNA をハイブリダイスした。現在、統計解析を進めており、とくに難治性神経芽腫の予後予測法の開発に焦点を絞る予定である。また、この結果をもとに 200 遺伝子以下に絞った新たな予後診断用 cDNA マイクロアレイを作製予定である。さらに、マイクロアレイの結果を INPC 新国際分類に基づく中央分子病理診断と連携させる作業を計画している。
- 4) 「神経芽腫研究会」の拡大と充実 平成 15 年度は、第 3 回および第 4 回の神経芽腫研究会を東京において開催した。セミクロードの会であるが 分野を超えて神経芽腫に関連した基礎研究をしている研究者が多数参加し、将来のトランスレーショナルリサーチを目指して積極的な意見交換を行った。

D 考察

平成 15 年度は、過去約 25 年間行われてきた乳児神経芽腫マススクリーニングが休止され 我が国における神経芽腫研究の流れが大きく変化する年となった。あたかも、この流れに呼応するかのよう国際的に最も問題となっている難治性（進行）神経芽腫の克服を前提にする我々の研究が開始されることとなった。我が国にとって最大の課題は神経芽腫グループスタディが統一できず、その基盤研究支援体制が脆弱であることにある。今後「神経芽腫基礎研究会」の内容充実を計り、国内で開発された DNA チップによる予後診断

体制等を強化して、国際的な競争に耐え、かつ神経芽腫で苦しむ患児を救えるよう、さらに基盤整備を推進する必要がある。

E 結論

- 1)平成 15 年度はマススクリーニングが休止されたにもかかわらず、192 例の神経芽腫検体の登録がなされた。第 3 回目のフォローアップ調査を行った。
- 2)新たな cDNA マイクロアレイによる神経芽腫の予後診断体制が整備されつつある。
- 3)第 3 回、第 4 回の「神経芽腫研究会」が開催され、難治性神経芽腫トランスレーショナルリサーチのための領域を超えた体制作りが進展した。

F 健康危険情報

本研究により人の健康に危険となるようなことは考えられない。

G 研究発表

論文発表

- 1) Tomioka N, Kobayashi H, Kageyama H, Ohira M, Nakamura Y, Sasaki F, Todo S, Nakagawara A, Kaneko Y Chromosomes that show partial loss or gain in near-diploid tumors coincide with chromosomes that show whole loss or gain in near-triploid tumors Evidence suggesting the involvement of the same genes in the tumorigenesis of high-and low-risk neuroblastomas **Genes Chromosomes Cancer** 36 139-150, 2003
- 2) Tomizawa M, Watanabe K, Saisho H, Nakagawara A, Tagawa M Down-regulated expression of the CCAAT/enhancer binding protein a and b genes in human hepatocellular carcinoma a possible prognostic marker **Anticancer Res** 23 351-354, 2003
- 3) Kawamoto T, Ohira M, Hamano S, Hori T, Nakagawara A High expression of the novel endothelin-converting enzyme genes, *Nbla03145 /ECE1 α* and β , is associated with favorable prognosis in human neuroblastomas **Int J Oncol** 22 815-822, 2003
- 4) Sato-Ohara F, Imoto I, Inoue J, Nakagawara A, Sugimoto T, Inazawa J PPM1D is a potential target

- for 17q gain in neuroblastoma **Cancer Res** 63 1876-1883, 2003
- 5) Sakiyama S, Yu L, Tomizawa M, Shimada H, Kadomatsu K, Muramatsu T, Ikematsu S, Nakagawara A, Tagawa M Utilization of the promoter region of the midkine gene as a tool to drive therapeutic genes in a tumor specific manner **Advan Enzyme Regul** 43 57-66, 2003
 - 6) Carninci P, Waki K, Shiraki T, Konno H, Shibata K, Itoh M, Aizawa K, Arakawa T, Ishii Y, Sasaki D, Bono H, Kondo S, Sugahara Y, Saito R, Osato N, Fukuda S, Sato K, Watahiki A, Hirozane-Kishikawa T, Nakamura M, Shibata Y, Yasunishi A, Kikuchi N, Yoshiki A, Kusakabe M, Gustincich S, Beisel K, Pavan W, Aidinis V, Nakagawara A, Held W A, Iwata H, Kono T, Nakauchi H, Lyons P, Wells C, Hume D A, Fagioli M, Hensch T K, Brinkmeier M, Camper S, Muramatsu M, Okazaki Y, Kawai J, Hayashizaki Y Targeting a complex transcriptome The construction of the mouse full-length cDNA encyclopedia **Genome Res** 13 1273-1289, 2003
 - 7) Ozaki T, Watanabe K, Nakagawa T, Miyazaki K, Takahashi M, Nakagawara A Function of p73, not of p53, is inhibited by the physical interaction with RACK1 and its inhibitory effect is counteracted by pRB **Oncogene** 22 3231-3242, 2003
 - 8) Okamoto Y, Ozaki T, Miyazaki K, Aoyama M, Miyazaki M, Nakagawara A UbcH10 is the cancer-related E2 ubiquitin conjugating enzyme **Cancer Res** 63 4167-4173, 2003
 - 9) Ikematsu S, Nakagawara A, Nakamura Y, Sakuma S, Waki K, Muramatsu T, Kadomatsu K Correlation of elevated level of serum midkine with poor prognostic factors of human neuroblastomas **Br J Cancer** 88 1522-1526, 2003
 - 10) Nakagawa T Takahashi M, Ozaki T, Watanabe K, Hayashi S, Hosoda M, Todo S, Nakagawara A Negative autoregulation of p73 and p53 by $\Delta Np73$ in regulating differentiation and survival of human neuroblastoma cells **Cancer Lett** 197 105-109, 2003
 - 11) Ohira M Morohashi A, Nakamura Y, Isogai E, Furuya K, Hamano S, Machida T, Aoyama M, Fukumura M, Miyazaki K, Suzuki Y, Sugano S, Hirat J, Nakagawara A Neuroblastoma Oligo-capping cDNA Project Toward the Understanding of the Genesis and Biology of Neuroblastoma **Cancer Lett** 197 63-68, 2003
 - 12) Ohira M, Morohashi A, Inuzuka H, Shishikura T, Kawamoto T, Kageyama H, Nakamura Y, Isogai E, Takayasu H, Sakiyama S, Suzuki Y, Sugano S, Goto T, Sato S, Nakagawara A Expression profiling and characterization of 4,200 genes cloned from primary neuroblastomas Identification of 305 genes differentially expressed between favorable and unfavorable subsets **Oncogene** 22 5525-5536, 2003
 - 13) Miyazaki K, Ozaki T, Kato C, Hanamoto T, Fujita T, Irino S, Watanabe K, Nakagawa T, Nakagawara A A novel HECT-type E3 ubiquitin ligase, NEDL2 stabilizes p73 and enhances its transcriptional activity **Biochem Biophys Res Commun** 308 106-113, 2003
 - 14) Nakamura Y, Ozaki T, Koseki H, Nakagawara A, Sakiyama S Accumulation of p27^{KIP1} is associated with BMP2-mediated growth arrest and neuronal differentiation of human neuroblastoma-derived cell lines **Biochem Biophys Res Commun** 307 206-213, 2003
 - 15) Nakagawara A Neural crest development and neuroblastoma the genetic and biological link In NGF and Related Molecules in Health and Disease, Ed By Luigi Aloe and Laura Calza, Progress in Brain Research Vol 146, **Elsevier Science Publisher** pp233-242, 2004
 - 16) Miyazaki K, Fujita T, Ozaki T, Kato C, Kurose Y, Sakamoto M, Kato S, Goto T, Itoyama Y, Aoki M, Nakagawara A NEDL1, a Novel Ubiquitin-protein Isopeptide Ligase for Dishevelled-1, Targets Mutant Superoxide Dismutase-1 **J Biol Chem** 279 11327-11335, 2004
 - 17) Nakagawara A, Ohira M Comprehensive genomics linking between neural development and cancer Neuroblastoma as a model In Special Issue Neural development and cancer **Cancer Lett** 204 213-224, 2004

- 18) Hamano S, Ohira M, Isogai E, Nakada K, Nakagawara A Identification of Novel Human Neuronal Leucine-Rich Repeat (hNLRR) Family Genes and Inverse Association of Expression of *Nbla10449/hNLRR-1* and *Nbla10677/hNLRR-3* with the Prognosis of Primary Neuroblastomas **Int J Oncol** (in press)
- 19) Wang YQ, Seimiya M, Kawamura K, Yu L, Ogi T, Takenaga K, Shishikura T, Nakagawara A, Sakiyama S, Tagawa M and O-Wang J Elevated expression of DNA polymerase κ in human lung cancer is associated with p53 inactivation negative regulation of POLK promoter activity by p53 **Int. J Oncol** (in press)
- 20) Yamada S, Ohira M, Horie H, Ando K, Takayasu H, Suzuki Y, Sugano S, Matsunaga T, Hiyama E, Hayashi Y, Watanabe Y, Suita S, Kaneko M, Sasaki F, Hashizume K, Ohnuma N, Nakagawara A Expression profiling and differential screening between hepatoblastomas and the corresponding normal livers Identification of high expression of the *Pik1* oncogene as a poor-prognostic indicator of hepatoblastomas **Oncogene** (in press)
- 21) Ando K, Ozaki T, Yamamoto H, Furuya K, Hosoda M, Hayashi S, Fukuzawa M, Nakagawara A Polo-like kinase 1 (Pik1) inhibits p53 function by physical interaction and phosphorylation **J Biol Chem** (in press)

H 知的所有権の取得状況

特になし。

厚生科学研究費（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

難治性神経芽腫に対する多施設臨床研究の基盤に関する研究

－特に中央病理診断システムの構築について－

主任研究者 秦 順一 国立成育医療センター研究所長

研究要旨

難治性神経芽腫の多施設臨床研究の基盤となる中央病理診断システムの現状と問題点を分析し、そのあり方について検討した。さらに、神経芽腫の臨床研究に用いる新国際分類 INPC について概説した。

A 研究目的

難治性神経芽腫のような予後の悪い難治性小児がんの治療成績向上には、十分に計画された治療プロトコルを多施設共同で施行し、その治療成績を吟味する必要がある。このような臨床研究を広範に行うためには、標準的で、正確な診断が前提となる。一般に腫瘍の診断は病理学的診断が一義的であり、その診断に従って治療の方法が決定される。小児がんのような比較的稀な腫瘍では一般病理医が診断する機会が少ないため、診断の誤りが生じやすい。そこで、臨床研究の中で最も重要な基盤の一つとして病理診断の標準化のための中央病理診断システムの構築について検討した。

B 研究方法

- ① 小児がんの病理診断の問題点
- ② 多施設臨床研究における中央病理診断の現状と問題点
- ③ 神経芽腫の中央病理診断システムの構築

先ず、①②について現状を分析し、その結果より効果的、効率的な中央病理診断システムを提案した。

C 研究結果および考察

(ア) 小児がんの病理診断の問題点について

小児がんは症例が稀少で、且つ診断が困難な例が多く、一般病理医が診たことのない腫瘍が多い。さらに、同じ腫瘍であっても亜型で予後が著しく異なるため、正確な腫瘍診断とともに亜群を決定することか必須である。また、小児がんでは未分化な腫瘍が少なくない。また、同じ腫瘍でも著しく異なる組織像を呈する。そのため、形態診断のみでは確定診断がつきにくく、診断を補完する免疫染色、遺伝子検索が必要となる。し

かしながら、一般の病理診断施設では遺伝子検索などの手法を持たない。

(イ) 多施設臨床研究における中央病理診断の現状と問題点

わが国における中央病理診断システムの現状について分析した結果、以下の点が明らかになった。わが国では成人の癌を含めて中央病理診断システムは進んでいない（殆ど行われていないこと）が明らかとなった。その理由としてEBMに基づく小児がん治療に対する、臨床および病理医の理解が不十分であること。施設病理医が中央病理診断システムに理解を示さず、標本を提出したからでないこと。中央病理診断に時間がかかりすぎること。中央病理診断結果が施設病理医に伝わらないこと、などの要因が明らかになった。臨床医および病理医双方に意識改革が必要である。そこで、多施設臨床研究の中央病理診断の役割とその機能について考察し、以下の結果を得た。

A 多施設臨床試験における中央病理診断の役割

- 1 臨床試験の基盤（腫瘍最終診断→病理診断）
- 2 研究基盤ともなる（データベース→二次利用）

B 病理中央診断の機能

1 診断の精度の向上

- ①組織分類（亜型、国際的、病態予測可能）
- ②診断のための方法論の標準化(マニュアル)

固定、抗体、遺伝子検索など

- ③中央病理診断会議（コンセンサス診断のための）の体制の確立

2 診断の迅速性

3 施設病理医とのコミュニケーション

次に、中央病理診断に用いられる病理組織分類について検討した結果、i) WHO 分類またはそれに準じた国際的に通用する分類を用いること。ii) 用いやすい組織分類であること (User friendly)、iii) 診断の再現性のあること (Reproducible)、iv) 分類が病態 (予後) および腫瘍の生物学的特性と相関していること、の要件を満たした分類を用いる必要であるという認識に達した。

以上の結果を踏まえて、神経芽腫の中央病理診断に用いる組織分類法を検討した結果、International Neuroblastoma Pathology Committee が策定した新国際分類 INPC が適当であるという結論に達した。以下、INPC の概要について概説する。

(ウ) 神経芽腫新国際分類 INPC の概要について

組織分類は以下の如くである。

- 1) Neuroblastoma/subgroup
 - a) undifferentiated
 - b) poorly differentiated
 - c) differentiating
- 2) Ganglioneuroblastoma, intermixed
- 3) Ganglioneuroma/subgroup
 - a) maturing
 - b) mature
- 4) Ganglioneuroblastoma, nodular

A) INPC 組織学的分類の方針

神経芽腫の組織像は、基本的には腫瘍細胞である神経冠由来の神経芽細胞 (腫瘍性、以下同様) と反応性に増生すると考えられるシュワン様細胞から成る間質によって構成される。このような観点から本組織学的分類は、1) シュワン様細胞の量、腫瘍細胞である神経芽細胞の増殖巣との関連、2) 増殖している神経芽細胞の分化 成熟程度、3) 腫瘍細胞の増殖性の目安となる Mitosis-Karyorrhexis-Index(MKI)を取り入れる、

4) 神経芽腫の腫瘍細胞の分化 成熟度は年齢と極めて高い相関があるので、発生年齢と組織像によって腫瘍の予後を推定する。この分類は単なる組織像の記載にととまらず、予後の推定をも行うシステムである。

B) INPC の説明

1) Neuroblastoma

神経芽細胞の増殖が主体で間質であるシュワン細胞は認められないか、わずかに腫瘍細胞増殖巣を取り囲むように存在する血管結合組織周囲にみられる。以下の亜群が存在する。

a) Undifferentiated type

小型ないし中型の未熟な神経芽細胞からなり、腫瘍細胞間に光顕上明らかな神経細線維この亜型に診断されると年齢に関連なく予後不良群にはいるので、診断は慎重にする必要がある。

b) Poorly differentiated type

神経細線維が増殖する腫瘍細胞間に明らかに介在する腫瘍をいう。腫瘍細胞は小型、裸核状である。時には好酸性の胞体と核小体が明瞭な交感神経節細胞への分化を窺わせる細胞が混入するか、これらの細胞は腫瘍組織全体として5%以下に止まる。なお、交感神経節細胞への分化傾向を示す細胞の形態学的基準として、①細胞の腫大 (核面積の2倍以上)、②胞体の好酸性の増加、③核が腫大すると同時に核小体が明瞭化する、と定められている。

c) Differentiating neuroblastoma type

腫瘍細胞の多くは、なお未熟な神経芽細胞であるか前述した交感神経節細胞へ分化傾向を示す細胞か腫瘍全体で5%を超える腫瘍をいう。

d) Mitosis karyorrhexis-Index (MKI)

Neuroblastoma では腫瘍細胞の増殖性を示し 予後とも密接に関連する組織学的所見として MKI の程度を必ず付記する。MKI はその出現頻度に従って高度 (high >4% >200 個/5000 細胞)、中等度 (intermediate、2-4% 100-200 個/5000 細胞)、軽度 (low、<2% 100 個

/5000 細胞) に分類される 神経芽腫の組織学的予後判定に重要な指標となるので、正確なカウントが必要である。

2)Ganglioneuroblastoma (GNB) , intermixed

成熟したシュワン様細胞が腫瘍組織の 50%以上を占め、その中に神経節細胞様の大型な腫瘍細胞や小型で未熟な神経芽細胞の増殖巣がする。

3)Ganglioneuroma (GN)

シュワン様細胞からなる間質が腫瘍の大部分を占めるもので、その他の構成細胞は分化したまたは分化途上にある交感神経節様細胞である。分化した神経節様細胞には外套細胞を伴う。以下の亜群が存在する。

a) Ganglioneuroma, maturing type

腫瘍のほとんどが神経節腫様組織から成るか、一部に神経細線維を伴った神経芽細胞が散在している腫瘍をいう。

b) Ganglioneuroma, mature type

成熟したシュワン様細胞から成る間質が腫瘍組織の殆どを占め、神経突起を伴った成熟した神経節細胞が散在性に存在する。未熟な神経芽細胞は認められない。

4)Ganglioneuroblastoma, nodular type (GNB, nodular)

肉眼的に神経節腫様組織から成る腫瘍で、その中に出血を伴う未熟神経芽細胞の増殖巣が結節状にみとめられる腫瘍をいう。すなわち、前者は後者とは明らかに異なるクローンから成ると考えられる。組織学的には未熟神経芽細胞の増殖巣(結節)と成熟した神経節腫様組織との間には明瞭な境界が存在する。また、予後の判定のため未熟神経芽細胞から成る胞巣の所見は neuroblastoma のそれに準じて評価する。

C) 発生年齢と組織分類から判断(推定)される神経芽腫の予後(Prognostic risk grouping)

(1)Neuroblastoma について

1) high MKI を示す腫瘍は、腫瘍細胞の分化度、

年齢に拘わらず常に予後不良グループである。

- ii) Undifferentiated NB は年齢に関連なく予後不良グループである
- iii) 15 歳以上の神経芽腫、poorly differentiate は予後不良グループである。
- iv) 15 歳以上で発生した中等度 MKI を示す神経芽腫は予後不良グループである
- v) 上記以外の腫瘍は予後良好群である

(2)GNB・nodular について

発生年齢と結節を形成する神経芽腫成分の分化度および MKI の程度によって予後が決定される。すなわち神経芽腫成分が上記(1)から(4)までに相当する際は予後不良であるが、それ以外は予後良好群である。

(3)GNB intermixed type, GN は年齢にかかわらず予後良好群である。

E 結論

- 1)平成 15 年度はマススクリーニングが休止されたにもかかわらず 192 例の神経芽腫検体の登録がなされた。第 3 回目のフォローアップ調査を行った。
- 2)新たな cDNA マイクロアレイによる神経芽腫の予後診断体制が整備されつつある。
- 3)第 3 回、第 4 回の「神経芽腫研究会」が開催され、難治性神経芽腫トランスレーショナルリサーチのための領域を超えた体制作りが進展した。

F 健康危険情報

本研究により人の健康に危険となるようなことは考えられない。

G 研究発表

論文発表

- 1, Fukuma, M, Hata, J and Umezawa, A Upregulation of Id2, an oncogenic helix-loop-helix protein, is mediated by the chimeric EWS/ets protein in ewing sarcoma *Oncogene*, 22 1-9, 2003
- 2, Fukuma, M, Abe, H, Okita, H, Yamada, T, Hata, J Monoclonal antibody, 4C4-mAb specifically recognize keratan sulfate proteoglycan on human embryonic

- carcinoma cells **J Pathol** 201 90-98, 2003
- 3, Fukuzawa, R, Eccles, MR, Ikeda, M, Hata, J Embryonal hyperplasia of Bowmann's capsular epithelium in patients with *WT1* mutations **Pediatr Nephrol** 18 9-13, 2003
 - 4, Shibata, R, Umezawa, A, Takehara, K, Aoki, D, Nozawa, S, Hata, J Primary carcinosarcoma of the vagina **Pathol Int** 53106-110, 2003
 - 5, Shibata, R, Takata, A, Hashiguchi, A, Umezawa, A, Yamada, T, Hata, J Responsiveness of chemotherapy based on the histological type and Wilms' tumor suppressor gene mutation in bilateral Wilms' tumor **Pathol Int** 53 214-220, 2003
 - 6, Shibata, R, Okita, H, Shimoda, M, Asakura, H, Murai, M, Sakamoto, M, Hata, J Primary carcinoid tumor in a polycystic kidney **Pathol Int** 53 317-322, 2003
 - 7, Fukuzawa, R, Hata, J, Hayashi, Y, Ikeda, H, Reeve, AE Beckwith-Wiedemann syndrome-associated hepatoblastoma wnt signal activation occurs later in tumorigenesis in patients with 11p15.5 uniparental disomy **Pediatr Develop Pathol** 6 299-306, 2003
 - 8, Peuchmaur, M, d'Amore, ESG, Joshi, VV, Hata, J, Roald, B, Dehner, LP, Gerbing, RB, Stram, RB, Lukens, JN, Matthay, KK, Shimada, H Revision of the international neuroblastoma pathology classification based on confirmation of favorable and unfavorable prognostic subsets of ganglioneuroblastoma, nodular by applying the age-linked morphologic criteria to its neuroblastic components **Cancer** 98 2274-2281, 2003

H 知的所有権の取得状況

特になし。

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
Tomioka N, Kobayashi H, Kageyama H, Ohira M, Nakamura Y, Sasaki F, Todo S, Nakagawara A, Kaneko Y	Chromosomes that show partial loss or gain in near-diploid tumors coincide with chromosomes that show whole loss or gain in near-triploid tumors Evidence suggesting the involvement of the same genes in the tumorigenesis of high- and low-risk neuroblastomas	Genes Chromosomes Cancer	36	139-150	2003
Tomizawa M, Watanabe K, Saisho H, Nakagawara A, Tagawa M	Down-regulated expression of the CCAAT/enhancer binding protein a and b genes in human hepatocellular carcinoma a possible prognostic marker	Anticancer Res	23	351-354	2003
Kawamoto T, Ohira M, Hamano S, Horii T, Nakagawara A	High expression of the novel endothelin-converting enzyme genes, <i>Nbla03145/ECEL1α</i> and β , is associated with favorable prognosis in human neuroblastomas	Int J Oncol	22	815-822	2003
Saito-Ohara F, Imoto I, Inoue J, Nakagawara A, Sugimoto T, Inazawa J	PPM1D is a potential target for 17q gain in neuroblastoma	Cancer Res	63	1876-1883	2003
Sakiyama S, Yu L, Tomizawa M, Shimada H, Kadomatsu K, Muramatsu T, Ikematsu S, Nakagawara A, Tagawa M	Utilization of the promoter region of the midkine gene as a tool to drive therapeutic genes in a tumor specific manner	Advan Enzyme Regul	43	57-66	2003
Carninci P, Waki K, Shiraki T, Konno H, Shibata K, Itoh M, Aizawa K, Arakawa T, Ishii Y, Sasaki D, Bono H, Kondo S, Sugahara Y, Saito R, Osato N, Fukuda S, Sato K, Watahiki A, Hirozane-Kishikawa T, Nakamura M, Shibata Y, Yasunishi A, Kikuchi N, Yoshiki A, Kusakabe M, Gustincich S, Beisel K, Pavan W, Aizunis V, Nakagawara A, Held W A, Iwata H, Kono T, Nakauchi H, Lyons P, Wells C, Hume D A, Fagiolini M, Hensch T K, Brinkmeier M, Camper S, Muramatsu M, Okazaki Y, Kawai J, Hayashizaki Y	Targeting a complex transcriptome The construction of the mouse full-length cDNA encyclopedia	Genome Res	13	1273-1289	2003

Ozaki T, Watanabe K, Nakagawa T, Miyazaki K, Takahashi M, <u>Nakagawara A</u>	Function of p73, not of p53, is inhibited by the physical interaction with RACK1 and its inhibitory effect is counteracted by pRB	Oncogene	22	3231-3242	2003
Okamoto Y, Ozaki T, Miyazaki K, Aoyama M, Miyazaki M, <u>Nakagawara A</u>	UbcH10 is the cancer-related E2 ubiquitin conjugating enzyme	Cancer Lett	197	63-68	2003
Ikematsu S, <u>Nakagawara A</u> , Nakamura Y, Sakuma S, Wakai K, Muramatsu T, Kadomatsu K	Correlation of elevated level of serum midkine with poor prognostic factors of human neuroblastomas	Br J Cancer	88	1522-1526	2003
Nakagawa T, Takahashi M, Ozaki T, Watanabe K, Hayashi S, Hosoda M, Todo S, <u>Nakagawara A</u>	Negative autoregulation of p73 and p53 by Δ Np73 in regulating differentiation and survival of human neuroblastoma cells	Cancer Lett	197	105-109	2003
Ohira M, Morohashi A, Nakamura Y, Isogai E, Furuya K, Hamano S, Machida T, Aoyama M, Fukumura M, Miyazaki K, Suzuki Y, Sugano S, Hirato J, <u>Nakagawara A</u>	Neuroblastoma Oligo-capping cDNA Project Toward the Understanding of the Genesis and Biology of Neuroblastoma	Cancer Lett	197	63-68	2003
Ohira M, Morohashi A, Inuzuka H, Shishikura T, Kawamoto T, Kageyama H, Nakamura Y, Isogai E, Takayasu H, Sakiyama S, Suzuki Y, Sugano S, Goto T, Sato S, <u>Nakagawara A</u>	Expression profiling and characterization of 4,200 genes cloned from primary neuroblastomas. Identification of 305 genes differentially expressed between favorable and unfavorable subsets	Oncogene	22	5525-5536	2003
Miyazaki K, Ozaki T, Kato C, Hanamoto T, Fujita T, Irino S, Watanabe K, Nakagawa T, <u>Nakagawara A</u>	A novel HECT-type E3 ubiquitin ligase, NEDL2, stabilizes p73 and enhances its transcriptional activity	Biochem Biophys Res Commun	308	106-113	2003
Nakamura Y, Ozaki T, Koseki H, <u>Nakagawara A</u> , Sakiyama S	Accumulation of p27 ^{KIP1} is associated with BMP2-mediated growth arrest and neuronal differentiation of human neuroblastoma-derived cell lines	Biochem Biophys Res Commun	307	206-213	2003
<u>Nakagawara A</u>	Neural crest development and neuroblastoma the genetic and biological link In NGF and Related Molecules in Health and Disease, Ed By Luigi Aloe and Laura Calza.	Progress in Brain Research	146	233-242	2004
Miyazaki K, Fujita T, Ozaki T, Kato C, Kurose Y, Sakamoto M, Kato S, Goto T, Itoyama Y, Aoki M, <u>Nakagawara A</u>	NEDL1, a Novel Ubiquitin-protein Isopeptide Ligase for Dishevelled-1, Targets Mutant Superoxide Dismutase-1	J Biol Chem	279	11327-11335	2004
<u>Nakagawara A</u> , Ohira M	Comprehensive genomics linking between neural development and cancer Neuroblastoma as a model In Special Issue Neural development and cancer	Cancer Lett		in press	2004

Hamano S, Ohira M, Isogai E, Nakada K, <u>Nakagawara A</u>	Identification of Novel Human Neuronal Leucine-Rich Repeat (hNLRR) Family Genes and Inverse Association of Expression of <i>Nbla10449/hNLRR-1</i> and <i>Nbla10677/hNLRR-3</i> with the Prognosis of Primary Neuroblastomas	Int J Oncol		in press	2004
Wang YQ, Seimiya M, Kawamura K, Yu L, Ogi T, Takenaga K, Shishikura T, <u>Nakagawara A</u> , Sakiyama S, Tagawa M and O-Wang J	Elevated expression of DNA polymerase κ in human lung cancer is associated with p53 inactivation, negative regulation of POLK promoter activity by p53	Int J Oncol		in press	2004
Yamada S, Ohira M, Horie H, Ando K, Takayasu H, Suzuki Y, Sugano S, Matsunaga T, Hiyama E, Hayashi Y, Watanabe Y, Suita S, Kaneko M, Sasaki F, Hashizume K, Ohnuma N, <u>Nakagawara A</u>	Expression profiling and differential screening between hepatoblastomas and the corresponding normal livers. Identification of high expression of the <i>Plk1</i> oncogene as a poor-prognostic indicator of hepatoblastomas	Oncogene		in press	2004
Ando K, Ozaki T, Yamamoto H, Furuya K, Hosoda M, Hayashi S, Fukuzawa M, <u>Nakagawara A</u>	Polo-like kinase 1 (Plk1) inhibits p53 function by physical interaction and phosphorylation	J Biol Chem		in press	2004
Fukuma M, <u>Hata J</u> and Umezawa A	Upregulation of Id2, an oncogenic helix-loop-helix protein, is mediated by the chimeric EWS/ets protein in ewing sarcoma	Oncogene	22	1-9	2003
Fukuma M, Abe H, Okita H, Yamada T, <u>Hata J</u>	Monoclonal antibody, 4C4-mAb, specifically recognizes keratan sulfate proteoglycan on human embryonal carcinoma cells	J Pathol	201	90-98	2003
Fukuzawa R, Eccles MR, Ikeda M, <u>Hata J</u>	Embryonal hyperplasia of Bowman's capsular epithelium in patients with <i>WT1</i> mutations	Pediatr Nephrol	18	9-13	2003
Shibata R, Umezawa A, Takehara K, Aoki D, Nozawa S, <u>Hata J</u>	Primary carcinosarcoma of the vagina	Pathol Int	53	106-110	2003
Shibata R, Takata A, Hashiguchi A, Umezawa A, Yamada T, Hata J	Responsiveness of chemotherapy based on the histological type and Wilms' tumor suppressor gene mutation in bilateral Wilms' tumor	Pathol Int	53	214-220	2003
Shibata R, Okita H, Shimoda M, Asakura H, Murai M, Sakamoto M, <u>Hata J</u>	Primary carcinoid tumor in a polycystic kidney	Pathol Int	53	317-322	2003
Fukuzawa R, <u>Hata J</u> , Hayashi Y, Ikeda H, Reeve AE	Beckwith-Wiedemann syndrome-associated hepatoblastoma wnt signal activation occurs later in tumorigenesis in patients with 11p15.5 uniparental disomy	Pediatr Develop Pathol	6	299-306	2003
Peuchmaur M, d'Amore ESG, Joshi VV, <u>Hata J</u> , Roald B, Dehner LP, Gerbing RB, Stram RB, Lukens JN, Matthay KK, Shimada H	Revision of the international neuroblastoma pathology classification based on confirmation of favorable and unfavorable prognostic subsets of ganglioneuroblastoma, nodular by applying the age-linked morphologic criteria to its neuroblastic components	Cancer	98	2274-2281	2003

20030777

以降は雑誌/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。