

MSI陽性例に対してはさらに標的遺伝子のフレームシフト変異をPCRにて解析した。HNPCC症例においては、DNAミスマッチ修復遺伝子 (hMLH1, hMSH2) の変異をSSCP、sequencingで解析し、さらに免疫組織染色を行った。また、RASSF1A遺伝子のメチル化をMSPにより解析した。

2. 大腸がんにおける網羅的遺伝子発現の解析

大腸がん組織より抽出したRNAを用いて、cDNAアレイ解析を行った。cDNAのラベリング、ハイブリダイゼーション、化学発光による検出を行い、得られた画像は解析ソフトを用いて検討した。興味ある発現変化を示した遺伝子については semi-quantitative RT-PCR法を用いてさらに解析した。

3. 食道がんにおけるMMP-26の解析

食道がんの進展に関わる遺伝子発現の網羅的解析結果からMMP-26に注目した。RT-PCRおよび免疫組織染色による発現解析、zymographyを用いたMMP-9活性化との関連の検討、食道がん細胞株における遺伝子導入、in vitro invasion assayを用いた浸潤実験等を系統的に行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子の検索、成果の発表においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守した。すなわち、提供者から十分なインフォームド・コンセントを得ることとし、人間の尊厳及び人権を尊重し、実施試料等提供者やその家族、血縁者の人権を科学的、社会的な利益より優先し、適正に研究を行った。

C. 研究結果

1. 大腸がんにおけるRAS/RAF異常

BRAF遺伝子変異は、散发性MSI陽性大腸がん206例中82例 (40%) で、hot spot変異であるコドン599のバリンからグルタミン酸へのミスセンス変異 (V599E変異) を認めた。一方、hMLH1あるいはhMSH2のgermline変異を検出した112例およびhMSH2の染色異常を認めた45例の計157例のHNPCCでは、BRAF遺伝子変異を検出しなかった。さらに、hMSH6遺伝子germline変異陽性の14例、アムステルダム基準を満たすが、hMLH1、hMSH2、hMSH6遺伝子いずれにも変異を認めない13例、さらにBethesda基準のみ満たす臨床的HNPCCの計37例においてもBRAF遺伝子変異を検出しなかった。

K-ras遺伝子変異を系統的に解析したところ、散发性MSI陰性大腸がんの34%に比べ、散发性MSI陽性大腸がんでは22%と頻度が低かった。一方、HNPCCでは、40%に変異を検出し、散发性MSI陽性大腸がんには比べ、有意に高頻度であった。HNPCCでgermline変異別にK-ras遺伝子変異の頻度を検討すると、hMLH1変異陽性例で32%、hMSH2変異陽性例で48%、hMSH6変異陽性例で83%と有意な差を認めた。さらに変異型を調べると、散发性MSI陰性大腸がんでは、G to A変異 (62%)、G to T変異 (31%) が多く、散发性MSI陽性大腸がんでも、G to A変異 (76%)、G to T変異 (14%) が多く、同様の傾向を認めた。一方、HNPCCでは、G to A変異 (81%) に次いで、G to C変異 (13%) が多いのが特徴であった。さらに、詳細に検討した結果、散发性MSI陰性大腸がんでは、G12D変異 (45%)、G12V変異 (23%) が多く、散发性MSI陽性大腸がんでは、G12D変異 (54%)、G13D変異 (22%) が多く、MSIの有無で特徴があった。一方、HNPCCでは、G13D変異 (51%)、G12D変

異 (30%) と散発性と比べて、G13D変異が多いのが特徴であった。

RASSF1A遺伝子のメチル化をMSPにより解析した。RASSF1A遺伝子メチル化は、散発性MSI陽性大腸がんでは52%、HNPCCでは30%で陽性であった。散発性MSI陽性大腸がんの36%で、RASSF1Aメチル化とK-rasあるいはBRAF遺伝子変異を認めた。一方、HNPCCでは、8%においてのみRASSF1Aメチル化とK-ras遺伝子変異を認め、2つ以上の分子異常を認める頻度は、散発性MSI陽性大腸がんに比べ有意に低かった。また、RASSF1Aのメチル化は低分化度と関連した。

2. 大腸がんにおける網羅的遺伝子発現の解析

同一ステージのがんの比較において、MSI陽性がんと陰性がんは、それぞれ特徴的な遺伝子発現パターンを示し、大きく2つのクラスターに分けられた。また、MSI陰性がん比べ、MSI陽性がんは、よりhomogenousな発現パターンを示した。MSI陽性がんでは、発現の亢進している遺伝子として、特に免疫系の調節に関わる遺伝子が特徴であった。一方、発現の低下している遺伝子として、hMLH1やフレームシフト変異標的遺伝子のTGF- β receptor IIなどが特徴であった。この他、個々の遺伝子発現変化に加え、特定の遺伝子群の発現から算出したスコアが予後因子となりうることを示唆され、比較的予後良好とされるMSI陽性大腸がんにおいて、予後不良を示す一群を明らかにすることができた。

3. 食道がんにおけるMMP-26の解析

MMP-26 mRNAのがん部における過剰発現は48%、蛋白質過剰発現は46%においてみられ、腫瘍浸潤先進部のがん細

胞において、強く発現する傾向がみられた。MMP-26発現は、がんの深達度、リンパ節および遠隔転移、病理学的TNM病期、再発、不良な予後との相関を認めた。MMP-26発現は、多変量解析においても、不良な予後と相関する因子であった。食道がん組織において、MMP-26発現は、MMP-9発現および活性化と関連した。MMP-26遺伝子導入食道がん細胞株においては、MMP-9の活性化をみとめ、その浸潤能はコントロールに比べ、有意に亢進していたが、MMP-9インヒビターによりコントロールとの差は消失した。

D. 考察

がんに関連する遺伝子異常のひとつとしてMSIについて大腸がんを対象に、genetic、epigeneticな異常を系統的に解析した。BRAF遺伝子変異は、RAS遺伝子変異との相補性が示唆されており、K-ras遺伝子変異の低いMSI陽性大腸がんにおける関わりが注目された。実際、BRAF遺伝子変異は、散発性MSI陽性大腸がん206例中82例 (40%) で検出され、散発性MSI陽性大腸がんにおいて重要な役割を果たしていると考えられた。

散発性MSI陽性大腸がんHNPCCは、DNAミスマッチ修復遺伝子の不活化機構が異なり、前者が主にhMLH1遺伝子のメチル化、後者が主にhMLH1あるいはhMSH2遺伝子の変異によるが、他のphenotypeや遺伝子異常は共通している点が多い。このことが逆に、両者の鑑別診断を困難にしている要因のひとつである。本研究では、hMLH1、hMSH2あるいはhMSH6のgermline変異陽性例、hMSH2の染色異常例など計194例のHNPCC、臨床的HNPCCを解析したが、BRAF遺伝子は全く検出しなかった。フレームシフト変異の標的遺伝子など

多くの共通性を有する散発性MSI陽性大腸がん、HNPCCにおいて、BRAF遺伝子変異の関わりについて著明な差を認めたことは、多段階発がんの分子機序の解明だけでなく、臨床的にもHNPCCのスクリーニング診断に用いることができるため、極めて重要な新知見である。

さらに、散発性MSI陰性大腸がん、散発性MSI陽性大腸がん、HNPCCのそれぞれにおいて、K-ras遺伝子の変異の頻度や変異型に特徴があることを明らかにした。不良な予後と相関するといわれているG12V変異が、散発性MSI陽性大腸がんやHNPCCでは頻度が低く、これらのがんの比較的良好な予後との関連も示唆され、非常に興味深い。散発性と遺伝性の違いや各germline変異によるK-ras遺伝子変異の特徴には、MGMTのメチル化やbase excision修復異常なども関連している可能性がある。これらの分子異常も含めて、今後、BRAF/K-ras遺伝子変異の分子機序の解析やRAS/RAF/MAPK pathwayの他の分子の異常を解析することにより大腸発がん機構の詳細が一層明らかになり、効果的なchemopreventionの開発等への発展性も期待できる。一方、BRAF遺伝子とK-ras遺伝子変異の逆相関とは対照的に、RASSF1A遺伝子メチル化異常は、両遺伝子変異とは独立したepigeneticな異常であると考えられた。

大腸がんにおける網羅的遺伝子発現の解析で、MSI陽性がん、MSI陰性がんは、それぞれ特徴的な遺伝子発現パターンを示し、大きく2つのクラスターに分けられた。このことは、MSI陽性発がん、MSI陰性発がんがそれぞれ独立した発がんpathwayであることを支持する所見である。MSI陽性がん、発現の亢進している遺伝子として、免

疫系の調節に関わる遺伝子が特徴であったが、MSI陽性がんはミスマッチ修復機構の異常により、多くの変異を生じ、これらが抗原となり、生体の免疫系が活性化されていることを示唆する所見である。このことがMSI陽性大腸がんが良好な予後を示す主要な一因である可能性があり、MSI陽性がんの分子機序の解明において重要な新知見である。一方、発現の低下している遺伝子として、hMLH1やフレームシフト変異標的遺伝子のTGF- β receptor II遺伝子などが特徴であった。多くの標的遺伝子候補の中から、真の標的遺伝子を明らかにする点においても極めて重要な新知見である。

食道がんの解析では、MMP-26が、主にMMP-9の活性化を介してがんの進展に、重要な役割を果たしていることが示唆された。本知見を基盤としてさらなるがん進展の分子機序の解明や診断、治療などの臨床応用が期待される。

本研究成果は、MSI陽性がんの多段階発がん分子病態の解明において大きな意義がある。明らかにした個々の分子異常例えば、BRAF遺伝子変異解析は、新規HNPCCスクリーニング法などに応用可能で臨床的にも大きな意義がある。今後、さらなる、分子診断や分子標的治療への応用や、他のがん種の多段階発がん機構の解明へと発展性が期待でき、がんの予防・診断・治療に亘り臨床医学における新局面が拓かれることが期待できる。がん克服、国民福祉の向上、医療費の抑制など厚生労働行政に与えるインパクトは極めて大きいと考えられる。

E. 結論

MSI陽性大腸がんにおける遺伝性の有無およびHNPCCにおける生殖細胞変異の違いにより、蓄積する遺伝子異常

に特徴があることをRAS/RAF/MAPK pathwayを中心に明らかにした。さらに、大腸がんにおいて、MSIの有無により、遺伝子発現プロファイルに特徴があり、がんのphenotypeと関連していることを明らかにした。食道がんの進展に細胞外基質分解酵素が重要な働きをしていることを明らかにした。以上の成績は、ヒト多段階発がん機構の解明において大きな意義がある。診断や分子標的治療への臨床応用や、他のがん種の多段階発がん機構の解明へと発展性が期待でき、がん克服へ向けた重要な新知見であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto H, Taniguchi H, Noshō K, Adachi Y, Imai K. BRAF-V600E is not involved in the colorectal tumorigenesis of HNPCC patients with functional MLH1 and MSH2 genes. *Oncogene*, in press.
- 2) Yamamoto H, Taniguchi H, Noshō K, Seruca R, Schwartz S Jr, Imai K. Concomitant RASSF1A hypermethylation and KRAS/BRAF mutations occur preferentially in MSI sporadic colorectal cancer. *Oncogene*, in press.
- 3) Oliveira C, Westra JL, Arango D, Ollikainen M, Domingo E, Ferreira A, Velho S, Niessen R, Lagerstedt K, Alhopuro P, Laiho P, Veiga I, Teixeira MR, Ligtenberg M, Kleibeuker JH, Sijmons RH, Plukker JT, Imai K, Lage P, Hamelin R, Albuquerque C, Schwartz S Jr, Lindblom A, Peltomäki P, Yamamoto H, Aaltonen LA, Seruca R, Hofstra RM. Distinct patterns of KRAS mutations in colorectal carcinomas according to germline mismatch repair defects and hMLH1 methylation status. *Hum Mol Genet*, 13: 2303-2311, 2004.
- 4) Domingo E, Espín E, Armengol M, Oliveira C, Pinto M, Duval A, Brennetot C, Seruca R, Hamelin R, Yamamoto H, Imai K, Schwartz S Jr. Activated BRAF targets proximal colon tumors with mismatch repair deficiency and MLH1 inactivation. *Genes Chromosomes Cancer*, 39: 138-142, 2004.
- 5) Domingo E, Laiho P, Ollikainen M, Pinto M, Wang L, French AJ, Westra J, Frebourg T, Espín E, Armengol M, Hamelin R, Yamamoto H, Imai K, Hofstra RMW, Seruca R, Lindblom A, Peltomäki P, Thibodeau SN, Aaltonen LA, Schwartz S Jr. Braf screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. *J Med Genet*, 41: 663-667, 2004.
- 6) Noshō K, Yamamoto H, Taniguchi H, Adachi Y, Yoshida Y, Arimura Y, Endo T, Hinoda Y, Imai K. Interplay of IGF-II, IGF-I, IGF-I receptor, COX-2, and MMP-7 plays key roles in the early stage of colorectal carcinogenesis. *Clin Cancer Res*, 10: 7950-7957, 2004.
- 7) Yamamoto H, Horiuchi S, Adachi Y, Taniguchi H, Noshō K, Min Y, Imai K. Expression of ets-related transcriptional factor E1AF is associated with tumor progression and overexpression of matrilysin in human gastric cancer. *Carcinogenesis*, 25: 325-332, 2004.
- 8) Yamamoto H, Vinitketkumnuen A, Adachi Y, Taniguchi H, Hirata T, Miyamoto M, Noshō K, Imsumran A, Fujita M, Hosokawa M, Hinoda Y, Imai K. Association of matrilysin-2 (MMP-26) expression with tumor progression and activation of MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*, 25: 2353-2360, 2004.
- 9) Noshō K, Yamamoto H, Taniguchi H, Adachi Y, Hinoda Y, Imai K. Association of Ets-related transcriptional factor E1AF

expression with overexpression of matrix metalloproteinases, COX-2 and iNOS in the early stage of colorectal carcinogenesis. Carcinogenesis, in press.

10) Noshō K, Yamamoto H, Adachi Y, Endo T, Hinoda Y, Imai K. Gene expression profiling of colorectal adenomas and early invasive carcinomas by cDNA array analysis. Br J Cancer, in press.

11) Min Y, Adachi Y, Yamamoto H, Imsumran A, Arimura Y, Endo T, Hinoda Y, Lee C-T, Nadaf S, Carbone DP, Imai K. Insulin-like growth factor-I receptor blockade enhances chemotherapy and radiation responses and inhibits tumour growth in human gastric cancer xenografts. Gut, in press.

12) Kurokawa S, Arimura Y, Yamamoto H, Adachi Y, Endo T, Yabana T, Imamura A, Sato T, Suga T, Hosokawa M, Imai K. Refined evaluation of metastatic potential of colon and rectal cancers by tumor matrilysin. J Clin Oncol, in press.

2. 学会発表

1) Hirata T, Yamamoto H, Taniguchi H, Noshō K, Miyamoto N, Oki M, Adachi Y, Sasaki S, Arimura Y, Itoh F, Endo T, Imai K. Molecular epidemiological analysis of alterations in the RAS/RAF/MAPK signal pathway in HNPCC and sporadic gastrointestinal cancers with MSI. The 63rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2004, Fukuoka.

2) Yamamoto H, Imai K. Alterations of RAS/RAF signal in carcinogenesis by microsatellite instability. The 41st Meeting of the Japanese Society of Molecular Medicine, 2004, Fukuoka.

3) Hirata T, Yamamoto H, Taniguchi H, Noshō K, Miyamoto N, Oki M, Adachi Y, Arimura Y, Endo T, Imai K. Molecular analysis of alterations

in the RAS/RAF/MAPK signal pathway in HNPCC and sporadic gastrointestinal cancers with MSI. The 15th Annual Meeting of the Japanese Society for Gastroenterological Carcinogenesis, 2004, Sapporo.

4) Yamamoto H, Taniguchi H, Noshō K, Hirata T, Adachi Y, Arimura Y, Endo T, Imai K. Molecular epidemiological analysis of alterations in the RAS/RAF/MAPK signal pathway in HNPCC and sporadic gastrointestinal cancers with MSI. The 5th Annual Meeting of the Japanese Society of Cancer Molecular Epidemiology, 2004, Sapporo.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
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
Shibata T, Kokubu A, Sekine S, <u>Kanai Y</u> , <u>Hirohashi S</u> .	Cytoplasmic p120ctn regulates the invasive phenotypes of E-cadherin-deficient breast cancer. Am. J. Pathol., 164: 2269-2278, 2004.
Honda K, Yamada T, Seike M, Hayashida Y, Idogawa M, Kondo T, Ino Y, <u>Hirohashi S</u> .	Alternative splice variant of actinin-4 in small cell lung cancer. Oncogene, 23: 5257-5262, 2004.
Yanagihara K, Tanaka H, Takigahira M, Ino Y, Yamaguchi Y, Toge T, Sugano K, <u>Hirohashi S</u> .	Establishment of two cell lines from human gastric scirrhous carcinoma that possess the potential to metastasize spontaneously in nude mice. Cancer Sci., 95: 575-582, 2004.
Yokoo H, Kondo T, Fujii K, Yamada T, Todo S, <u>Hirohashi S</u> .	Proteomic signature corresponding to alpha fetoprotein expression in liver cancer cells. Hepatology, 40: 609-617, 2004.
Seike M, Kondo T, Fujii K, Yamada T, Gemma A, Kudoh S, <u>Hirohashi S</u> .	Proteomic signature of human cancer cells. Proteomics, 4: 2776-2788, 2004.
Shimamura T, Yasuda J, Ino Y, Gotoh M, Tsuchiya A, Nakajima A, <u>Sakamoto M</u> , <u>Kanai Y</u> , <u>Hirohashi S</u> .	Dysadherin expression facilitates cell motility and metastatic potential of human pancreatic cancer cells. Cancer Res., 64: 6989-6995, 2004.
Sekine S, Shimoda T, Nimura S, Nakanishi Y, Akasu T, Katai H, Gotoda T, Shibata T, <u>Sakamoto M</u> , <u>Hirohashi S</u> .	High-grade dysplasia associated with fundic gland polyposis in a familial adenomatous polyposis patient, with special reference to APC mutation profiles. Mod. Path., 17: 1421-1426, 2004.

Sekine S,
Takata T,
Shibata T,
Mori M,
Morishita Y,
Noguchi M,
Uchida T,
Kanai Y,
Hirohashi S.

Expression of enamel proteins and LEF1 in adamantinomatous craniopharyngioma: evidence for its odontogenic epithelial differentiation. *Histopathology*, 45: 573-579, 2004.

Nakanishi Y,
Akimoto S,
Sato Y,
Kanai Y,
Sakamoto M,
Hirohashi S.

Prognostic significance of dysadherin expression in tongue cancer: immunohistochemical analysis of 91 cases. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.*, 12: 323-328, 2004.

Takamura M,
Ichida T,
Matsuda Y,
Kobayashi M,
Yamagiwa S,
Genda T,
Shioji K,
Hashimoto S,
Nomoto M,
Hatakeyama K,
Ajioka Y,
Sakamoto M,
Hirohashi S.
Aoyagi Y.

Reduced expression of liver-intestine cadherin is associated with progression and lymph node metastasis of human colorectal carcinoma. *Cancer Lett.*, 212: 253-259, 2004.

Honda K,
Yamada T,
Hayashida Y,
Idogawa M,
Sato S,
Hasegawa F,
Ino Y,
Ono M,
Hirohashi S.

Actinin-4 increases cell motility and promotes lymph node metastasis of colorectal cancer. *Gastroenterology*, 128: 51-62, 2005.

Nitori N,
Ino Y,
Nakanishi Y,
Yamada T,
Honda K,
Yanagihara K,
Kosuge T,
Kanai Y,
Kitajima M,
Hirohashi S.

Prognostic significance of tissue factor in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.*, in press.

Nishizawa A,
Nakanishi Y,
Yoshimura K,
Sasajima Y,
Yamazaki N,
Yamamoto A,
Kanai Y,
Hirohashi S.

Clinicopathologic significance of dysadherin expression in cutaneous malignant melanoma: Immunohistochemical analysis of 115 cases. *Cancer*, in press.

Chuma M,
Saeki N,
Yamamoto Y,
Ohta T,
Asaka M,
Hirohashi S,
Sakamoto M.

Expression profiling in hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis: identification of high-mobility group I(Y) protein as a molecular marker of hepatocellular carcinoma metastasis. *Keio J. Med.*, 53: 90-97, 2004.

<p>Loukopoulos P, Kanetaka K, Takamura M, Shibata T, Sakamoto M, <u>Hirohashi S.</u></p>	<p>Orthotopic transplantation models of pancreatic adenocarcinoma derived from cell lines and primary tumors and displaying varying metastatic activity. <i>Pancreas</i>, 29: 193-203, 2004.</p>
<p>Chuma M, <u>Sakamoto M.</u> Yasuda J, Fujii G, Nakanishi K, Tsuchiya A, Ohta T, Asaka M, <u>Hirohashi S.</u></p>	<p>Overexpression of cortactin is involved in motility and metastasis of hepatocellular carcinoma. <i>J. Hepatol.</i>, 41: 629-636, 2004.</p>
<p>Nakanishi K, <u>Sakamoto M.</u> Yamasaki S, Todo S, <u>Hirohashi S.</u></p>	<p>Akt phosphorylation is a risk factor for early disease recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. <i>Cancer</i>, 103: 307-312, 2005.</p>
<p>Oikawa T, Ojima H, Yamasaki S, Takayama T, Hirohashi S, <u>Sakamoto M.</u></p>	<p>Multistep and multicentric development of hepatocellular carcinoma: histological analysis of 980 resected nodules. <i>J. Hepatol.</i>, 42: 225-229, 2005.</p>
<p>Izumi H, Inoue J, Yokoi S, Hosoda H, Shibata T, Sunamori M, <u>Hirohashi S.</u> <u>Inazawa I.</u> Imoto I.</p>	<p>Frequent silencing of DBC1 is by genetic or epigenetic mechanisms in non-small cell lung cancers. <i>Hum. Mol. Genet.</i>, in press.</p>
<p>Takada H, Imoto I, Tsuda H, Sonoda I, Okanoue T, <u>Inazawa I.</u></p>	<p>Array-based comparative genomic hybridization (CGH-array) analysis for genome-wide screening of DNA copy-number aberrations in gastric cancer cell lines. <i>Cancer Sci.</i>, 96: 100-110, 2005.</p>
<p>Sanada T, Yokoi S, Arii S, Yasui K, Imoto I, <u>Inazawa I.</u></p>	<p>Skp2 Overexpression is a p27Kip1- independent poor prognosticator in patients with biliary tract cancers. <i>Cancer Sci.</i>, 95: 969-976, 2004.</p>
<p>Tanami H, Imoto I, Hirasawa A, Yuki Y, Sonoda I, Inoue J, Yasui K, Misawa- Furihata A, Kawakami Y, <u>Inazawa I.</u></p>	<p>Involvement of overexpressed wild-type BRAF in the growth of malignant melanoma cell lines. <i>Oncogene</i>, 23: 8796-8804, 2004.</p>
<p>Misawa A, Hosoi H, Imoto I, Iehara T, Sugimoto T, <u>Inazawa I.</u></p>	<p>Translocation (1;22)(p36;q11.2) with concurrent del(22)(q11.2) resulted in homozygous deletion of SNF5/INI1 in a newly established cell line derived from extrarenal rhabdoid tumor. <i>J. Hum. Genet.</i>, 49: 586-589, 2004.</p>

Yokoi S,
Yasui K,
Mori M,
Iizasa T,
Fujisawa T,
Inazawa J.

Amplification and overexpression of SKP2 are associated with metastasis of non-small-cell lung cancers to lymph nodes. Am. J. Pathol., 165: 175-180, 2004.

Inoue J,
Otsuki T,
Hirasawa A,
Imoto I,
Matsuo Y,
Shimizu S,
Taniwaki M,
Inazawa J.

Overexpression of PDZK1 within the 1q12-q22 amplicon is likely to be associated with drug-resistance phenotype in multiple myeloma. Am. J. Pathol., 165: 71-81, 2004.

Yuki Y,
Imoto I,
Imaizumi M,
Hibi S,
Kaneko Y,
Amagasa T,
Inazawa J.

Identification of a novel fusion gene in a pre-B acute lymphoblastic leukemia with t(1;19)(q23;p13). Cancer Sci., 95: 503-507, 2004.

Sonoda I,
Imoto I,
Inoue J,
Shibata T,
Shimada Y,
Chin K,
Imamura M,
Amagasa T,
Gray JW,
Hirohashi S.
Inazawa J.

Frequent silencing of low density lipoprotein receptor-related protein 1B (LRP1B) expression by genetic and epigenetic mechanisms in esophageal squamous-cell carcinoma. Cancer Res., 64: 3741-3747, 2004.

Yasui K,
Mihara S,
Zhao C,
Okamoto H,
Saito-Ohara F,
Tomida A,
Funato T,
Yokomizo A,
Naito S,
Imoto I,
Tsuruo T,
Inazawa J.

Alteration in copy-numbers of genes as a mechanism for acquired drug resistance. Cancer Res., 64: 1403-1410, 2004.

Kikuchi S,
Yamada D,
Fukami T,
Masuda M,
Sakurai-
Yageta M,
Williams YN,
Maruyama T,
Asamura H,
Matsuno Y,
Onizuka M,
Murakami Y.

Promoter methylation of the DAL-1/4.1B predicts poor prognosis in non-small cell lung cancer. Clin. Cancer Res., in press.

Sasaki H,
Nishikata I,
Shiraga T,
Akamatsu E,
Ishida Y,
Fukami T,
Hidaka T,
Kubuki Y,
Okayama A,
Hamada K,

Overexpression of a cell adhesion molecule, TSLC1, as a possible molecular marker for acute type of adult T-cell leukemia. Blood, 105: 1204-1213, 2005.

Okabe H,
Murakami Y,
Tsubouchi H,
Morishita K.

Surace EI,
Murakami Y,
Scheithauer BW,
Perry A,
Gutmann DH.

Lung H-L,
Cheng Y,
Kumaran MK,
Liu ET-B,
Murakami Y,
Chan C-Y,
Yau W-L,
Stanbridge EJ,
Lung ML.

Saino M,
Maruyama T,
Sekiya T,
Kayama T,
Murakami Y.

Murakami Y,
Isogai K,
Tomita H,
Sakurai-
Yageta M,
Maruyama T,
Hidaka A,
Nose K,
Sugano K,
Kaneko A.

Miyamoto K,
Fukutomi T,
Akashi-
Tanaka S,
Hasegawa T,
Asahara T,
Sugimura T,
Ushijima T.

Abe M,
Ohira M,
Kaneda A,
Yagi Y,
Yamamoto S,
Kitano Y,
Takato T,
Nakagawara A,
Ushijima T.

Ushijima T.

Ushijima T,
Watanabe N,
Shimizu K,
Miyamoto K,
Sugimura T,
Kaneda A.

Tumor suppressor in lung cancer-1 (TSLC1) expression is lost in sporadic meningioma.
J. Neuropathol. Exp. Neurol., 63: 1015-1027, 2004.

Fine mapping of 11q22-23 tumor suppressive region and involvement of TSLC1 in nasopharyngeal carcinoma.
Int. J. Cancer, 112: 628-635, 2004.

Inhibition of angiogenesis in human glioma cell lines by antisense RNA from the soluble guanylate cyclase genes, GUCY1A3 and GUCY1B3.
Oncol. Rep., 12: 7-52, 2004.

Detection of allelic imbalance in the gene expression of hMSH2 or RB1 in lymphocytes from pedigrees of hereditary non-polyposis colorectal cancer and retinoblastoma by an RNA difference plot.
J. Hum. Genet., 49: 635-641, 2004.

Identification of 20 genes aberrantly methylated in human breast cancers.
Int. J. Cancer, in press.

CpG island methylator phenotype is a strong determinant of poor prognosis in neuroblastomas.
Cancer Res., 65: 828-834, 2005.

Detection and interpretation of altered methylation patterns in cancer cells.
Nat. Rev. Cancer, 5: 223-231, 2005.

Decreased fidelity in replicating CpG methylation patterns in cancer cells.
Cancer Res., 65: 11-17, 2005.

<p>Furuta J, Umebayashi Y, Miyamoto K, Kikuchi K, Otsuka F, Sugimura T, Ushijima T.</p>	<p>Promoter methylation profiling of 30 genes in human malignant melanoma. <i>Cancer Sci.</i>, 95: 962-968, 2004.</p>
<p>Hagihara A, Miyamoto K, Furuta J, Hiraoka N, Wakazono K, Seki S, Fukushima S, Tsao MS, Sugimura T, Ushijima T.</p>	<p>Identification of 27 5' CpG islands aberrantly methylated and 13 genes silenced in human pancreatic cancer. <i>Oncogene</i>, 23: 8705-8710, 2004.</p>
<p>Kaneda A, Wakazono K, Tsukamoto T, Watanabe N, Yagi Y, Tatematsu M, Kaminishi M, Sugimura T, Ushijima T.</p>	<p>Lysyl oxidase is a tumor suppressor gene inactivated by methylation and loss of heterozygosity in human gastric cancers. <i>Cancer Res.</i>, 64: 6410-6415, 2004.</p>
<p>Okochi- Takada E, Ichimura S, Kaneda A, Sugimura T, Ushijima T.</p>	<p>Establishment of a detection system for demethylating agents using an endogenous promoter CpG island. <i>Mutat. Res.</i>, 568: 187-194, 2004.</p>
<p>Takada T, Yagi Y, Maekita T, Imura M, Nakagawa S, Tsao SW, Miyamoto K, Yoshino O, Yasugi T, Taketani Y, Ushijima T.</p>	<p>Methylation-associated silencing of the Wnt antagonist SFRP1 gene in human ovarian cancers. <i>Cancer Sci.</i>, 95: 741-744, 2004.</p>
<p>Etoh T, Kanai Y, Ushijima S, Nakagawa T, Nakanishi Y, Sasako M, Kitano S, Hirohashi S.</p>	<p>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.</p>
<p>Nam J-S, Ino Y, Kanai Y, Sakamoto M, Hirohashi S.</p>	<p>5-Aza-2'-deoxycytidine restores the E-cadherin system in E-cadherin-silenced cancer cells and reduces cancer metastasis. <i>Clin. Exp. Metas.</i>, 21: 49-56, 2004.</p>
<p>Kanai Y, Saito Y, Ushijima S, Hirohashi S.</p>	<p>Alterations in gene expression associated with the overexpression of a splice variant of DNA methyltransferase 3b, DNMT3b4, during human hepatocarcinogenesis. <i>J. Cancer Res. Clin. Oncol.</i>, 130: 636-644, 2004.</p>

Nakagawa T,
Kanai Y,
Ushijima S,
Kitamura T,
Kakizoe T,
Hirohashi S.

DNA hypomethylation on pericentromeric satellite regions significantly correlates with loss of heterozygosity on chromosome 9 in urothelial carcinomas.
J. Urol., 173: 243-246, 2005.

Nakagawa T,
Kanai Y,
Ushijima S,
Kitamura T,
Kakizoe T,
Hirohashi S.

DNA hypermethylation on multiple CpG islands associated with increased DNA methyltransferase DNMT1 protein expression during multistage urothelial carcinogenesis.
J. Urol., in press

Chihara Y,
Sugano K,
Kobayashi A,
Kanai Y,
Yamamoto H,
Nakazono A,
Fujimoto H,
Kakizoe T,
Fujimoto K,
Hirao Y,
Hirohashi S.

Loss of blood group A antigen expression in bladder cancer caused by allelic loss and/or methylation of the ABO gene.
Lab. Invest., in press.

Yamamoto H,
Taniguchi H,
Nosho K,
Adachi Y,
Imai K.

BRAF-V600E is not involved in the colorectal tumorigenesis of HNPCC patients with functional MLH1 and MSH2 genes.
Oncogene, in press.

Yamamoto H,
Taniguchi H,
Nosho K,
Seruca R,
Schwartz S Jr,
Imai K.

Concomitant RASSF1A hypermethylation and KRAS/BRAF mutations occur preferentially in MSI sporadic colorectal cancer.
Oncogene, in press.

Nosho K,
Yamamoto H,
Taniguchi H,
Adachi Y,
Yoshida Y,
Arimura Y,
Endo T,
Hinoda Y,
Imai K.

Interplay of IGF-II, IGF-I, IGF-I receptor, COX-2, and MMP-7 plays key roles in the early stage of colorectal carcinogenesis.
Clin. Cancer Res., 10: 7950-7957, 2004.

Yamamoto H,
Horiuchi S,
Adachi Y,
Taniguchi H,
Nosho K,
Min Y,
Imai K.

Expression of ets-related transcriptional factor E1AF is associated with tumor progression and overexpression of matrilysin in human gastric cancer.
Carcinogenesis, 25: 325-332, 2004.

Yamamoto H,
Vinitketkumnuen A,
Adachi Y,
Taniguchi H,
Hirata T,
Miyamoto M,
Nosho K,
Imsumran A,
Fujita M,
Hosokawa M,
Hinoda Y,
Imai K.

Association of matrilysin-2 (MMP-26) expression with tumor progression and activation of MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma.
Carcinogenesis, 25: 2353-2360, 2004.

Nosho K,
Yamamoto H,
Taniguchi H,
Adachi Y,
Hinoda Y,
Imai K.

Association of Ets-related transcriptional factor E1AF expression with overexpression of matrix metalloproteinases, COX-2 and iNOS in the early stage of colorectal carcinogenesis. Carcinogenesis, in press.

Nosho K,
Yamamoto H,
Adachi Y,
Endo T,
Hinoda Y,
Imai K.

Gene expression profiling of colorectal adenomas and early invasive carcinomas by cDNA array analysis. Br. J. Cancer, in press.

Min Y,
Adachi Y,
Yamamoto H,
Imsumran A,
Arimura Y,
Endo T,
Hinoda Y,
Lee C-T,
Nadaf S,
Carbone DP,
Imai K.

Insulin-like growth factor-I receptor blockade enhances chemotherapy and radiation responses and inhibits tumour growth in human gastric cancer xenografts. Gut, in press.

Kurokawa S,
Arimura Y,
Yamamoto H,
Adachi Y,
Endo T,
Yabana T,
Imamura A,
Sato T,
Suga T,
Hosokawa M,
Imai K.

Refined evaluation of metastatic potential of colon and rectal cancers by tumor matrilysin. J. Clin. Oncol., in press.