

- Clin Cancer Res, 11: 6177-6185, 2005.
2. Katoh H, Shibata T, Kokubu A, Ojima H, Loukopoulos P, Kanai Y, Kosuge T, Fukayama M, Kondo T, Sakamoto M, Hosoda F, Ohki M, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S. Genetic profile of hepatocellular carcinoma revealed by array-based comparative genomic hybridization: identification of genetic indicators to predict patient outcome. J Hepatol, 43: 863-874, 2005.
 3. Peng W-X, Shibata T, Katoh H, Kokubu A, Matsuno Y, Asamura H, Tsuchiya R, Kanai Y, Hosoda F, Sakiyama T, Ohki M, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S. Array-based comparative genomic hybridization analysis of high-grade neuroendocrine tumors of the lung. Cancer Sci, 96: 661-667, 2005.
 4. Yoshida Y, Shibata T, Kokubu A, Tsuta K, Matsuno Y, Kanai Y, Asamura H, Tsuchiya R, Hirohashi S. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in atypical adenomatous hyperplasia and bronchioloalveolar carcinoma of the lung. Lung Cancer, 50: 1-8, 2005.
 5. Katoh H, Shibata T, Kokubu A, Ojima H, Fukayama M, Kanai Y, Hirohashi S. Epigenetic instability and chromosomal instability in hepatocellular carcinoma. Am J Pathol, in press.
 6. 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, 11: 2531-2539, 2005.
 7. Nishizawa A, Nakanishi Y, Yoshimura K, Sasajima Y, Yamazaki N, Yamamoto A, Hanada K, Kanai Y, Hirohashi S. Clinicopathologic significance of dysadherin expression in cutaneous malignant melanoma: Immunohistochemical analysis of 115 patients. Cancer, 103: 1693-1700, 2005.
 8. Naishiro Y, Yamada T, Idogawa M, Honda K, Takada M, Kondo T, Imai K, Hirohashi S. Morphological and transcriptional responses of

- untransformed intestinal epithelial cells to an oncogenic β -catenin protein. *Oncogene*, 24: 3141-3153, 2005.
9. Idogawa M, Yamada T, Honda K, Sato S, Imai K, Hirohashi S. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 is a component of the oncogenic T-cell factor-4/ β -catenin complex. *Gastroenterology*, 128: 1919-1936, 2005.
 10. 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. *Gastroenterol*, 128: 51-62, 2005.
 11. Hayashida Y, Honda K, Idogawa M, Ino Y, Ono M, Tsuchida A, Aoki T, Hirohashi S, Yamada T. E-cadherin regulates the association between β -catenin and actinin-4. *Cancer Res*, 65: 8836-8845, 2005.
 12. Sato S, Idogawa M, Honda K, Fujii G, Kawashima H, Takekuma K, Hoshika A, Hirohashi S, Yamada T. β -catenin interacts with the FUS proto-oncogene product and regulates pre-mRNA splicing. *Gastroenterol*, 129: 1225-1236, 2005.
 13. Yanagihara K, Takigahira M, Tanaka H, Komatsu T, Fukumoto H, Koizumi F, Nishio K, Ochiya T, Ino Y, Hirohashi S. Development and biological analysis of peritoneal metastasis mouse models for human scirrhus stomach cancer. *Cancer Sci*, 96: 323-332, 2005.
 14. Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Yamada T, Iwatsuki K, Hirohashi S. Proteomic study of human hepatocellular carcinoma using two-dimensional difference gel electrophoresis with saturation cysteine dye. *Proteomics*, 5: 1411-1422, 2005.
 15. Seike M, Kondo T, Fujii K, Okano T, Yamada T, Matsuno Y, Gemma A, Kudoh S, Hirohashi S. Proteomic signatures for histological types of lung cancer. *Proteomics*, 5: 2939-2948, 2005.
 16. Mori Y, Kondo T, Yamada T, Tsuchida A, Aoki T, Hirohashi S. Two-dimensional electrophoresis database of fluorescence-labeled proteins of colon cancer cells. *J Chromatography B*, 823: 82-97, 2005.

17. Hara T, Honda K, Ono M, Naito K, Hirohashi S, Yamada T. Identification of 2 serum biomarkers of renal cell carcinoma by surface enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry. *J Urol*, 174: 1213-1217, 2005.
18. Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Yamada T, Matsuno Y, Iwatsuki K, Hirohashi S. Protein expression pattern distinguishes different lymphoid neoplasms. *Proteomics*, 5: 4274-4286, 2005.
19. Hayashida Y, Honda K, Osaka Y, Hara T, Umaki T, Tsuchida A, Aoki T, Hirohashi S, Yamada T. Possible prediction of chemoradiosensitivity of esophageal cancer by serum protein profiling. *Clin Cancer Res*, 11: 8042-8047, 2005.
20. Honda K, Hayashida Y, Umaki T, Okusaka T, Kosuge T, Kikuchi S, Endo M, Tsuchida A, Aoki T, Itoi T, Moriyasu F, Hirohashi S, Yamada T. Possible detection of pancreatic cancer by plasma protein profiling. *Cancer Res*, 65: 10613-10622, 2005.
21. Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Okano T, Yamada M, Yamada T, Iwatsuki K, Hirohashi S. Database of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of proteins labeled with CyDye DIGE Fluor saturation dye. *Proteomics*, 6: 1640-1653, 2006.
22. Takada H, Imoto I, Tsuda H, Nakanishi Y, Ichikura T, Mochizuki H, Mitsufuji S, Hosoda F, Hirohashi S, Ohki M, Inazawa J. ADAM23, a possible tumor suppressor gene, is frequently silenced in gastric cancers by homozygous deletion or aberrant promoter hypermethylation. *Oncogene*, 24: 8051-8060, 2005.
23. Misawa A, Inoue J, Sugino Y, Hosoi H, Sugimoto T, Hosoda F, Ohki M, Imoto I, Inazawa J. Methylation-associated silencing of the nuclear receptor 112 gene in advanced-type neuroblastomas, identified by bacterial artificial chromosome array-based methylated CpG island amplification. *Cancer Res*, 65: 10233-10242, 2005.
24. Saigusa K, Hashimoto N, Tsuda H, Yokoi S, Maruno M, Yoshimine T, Aoyagi M, Ohno K, Imoto I, Inazawa J. Overexpressed Skp2

- within 5p amplification detected by array-based comparative genomic hybridization is associated with poor prognosis of glioblastomas. *Cancer Sci*, 96: 676-683, 2005.
25. Tanami H, Tsuda H, Okabe S, Iwai T, Sugihara K, Imoto I, Inazawa J. Involvement of cyclin D3 in liver metastasis of colorectal cancer, revealed by genome-wide copy-number analysis. *Lab Invest*, 85: 1118-1129, 2005.
26. Izumi H, Inoue J, Yokoi S, Hosoda H, Shibata T, Sunamori M, Hirohashi S, Inazawa J, Imoto I. Frequent silencing of DBC1 is by genetic or epigenetic mechanisms in non-small cell lung cancers. *Hum Molec Genet*, 14: 997-1007, 2005.
27. Takada H, Imoto I, Tsuda H, Sonoda I, Ichikura T, Mochizuki H, Okanoue T, Inazawa J. Screening of DNA copy-number aberrations in gastric cancer cell lines by array-based comparative genomic hybridization. *Cancer Sci*, 96: 100-110, 2005.
28. Imoto I, Izumi H, Yokoi S, Hosoda H, Shibata T, Hosoda F, Ohki M, Hirohashi S, Inazawa J. Frequent silencing of the candidate tumor suppressor PCDH20 by epigenetic mechanism in non-small cell lung cancers. *Cancer Res*, in press.
29. Oikawa T, Ojima H, Yamasaki S, Takayama T, Hirohashi S, Sakamoto M. Multistep and multicentric development of hepatocellular carcinoma: histological analysis of 980 resected nodules. *J Hepatol*, 42: 225-229, 2005.
30. Nakanishi K, Sakamoto M, Yamasaki S, Todo S, Hirohashi S. Akt phosphorylation is a risk factor for early disease recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 103: 307-312, 2005.
31. Koide N, Yamada T, Shibata R, Mori T, Fukuma M, Yamazaki K, Aiura K, Shimazu M, Hirohashi S, Nimura Y, Sakamoto M. Establishment of perineural invasion models and analysis of gene expression revealed an invariant chain (CD74) as a possible molecule involved in perineural invasion in pancreatic cancer. *Clin Cancer*

- Res, in press.
32. Masuda M, Kikuchi S, Maruyama T, Sakurai-Yageta M, Williams YN, Ghosh HP, Murakami Y. TSLC (tumor suppressor in lung cancer)1 suppresses epithelial cell scattering and tubulogenesis. *J Biol Chem*, 280: 42164-42171, 2005.
 33. Murakami Y. Involvement of a cell adhesion molecule, TSLC1/IGSF4, in human oncogenesis. *Cancer Sci*, 96: 543-552, 2005.
 34. 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*, 11: 2954-2961, 2005.
 35. Yamada D, Kikuchi S, Williams YN, Sakurai-Yageta M, Masuda M, Maruyama T, Tomita K, Gutmann DH, Kakizoe T, Kitamura, T, Kanai Y, Murakami Y. Promoter hypermethylation of the potential tumor suppressor DAL-1/4.1B gene in renal clear cell carcinoma. *Int J Cancer*, 118: 916-923, 2006.
 36. Yamada D, Yoshida M, Williams YN, Fukami T, Kikuchi, S, Masuda M, Maruyama M, Ohta T, Nakae D, Maekawa A, Kitamura T, Murakami Y. Disruption of spermatogenic cell adhesion and male infertility in mice lacking TSLC1/IGSF4, an immunoglobulin superfamily cell adhesion molecule. *Mol Cell Biol*, in press.
 37. Kikuchi S, Yamada D, Fukami T, Maruyama T, Ito A, Asamura H, Matsuno Y, Onizuka M, Murakami Y. Hypermethylation of the TSLC1/IGSF4 promoter is associated with tobacco smoking and a poor prognosis in primary non-small cell lung cancer. *Cancer*, in press.
 38. Akino K, Toyota M, Suzuki H, Mita H, Sasaki Y, Ohe-Toyota M, Issa JP, Hinoda Y, Imai K, Tokino T. The Ras effector RASSF2 is a novel tumor-suppressor gene in human colorectal cancer. *Gastroenterology*, 129: 156-169, 2005.
 39. 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*, 54: 591-600, 2005.
40. Kurokawa S, Arimura Y, Yamamoto H, Adachi Y, Endo T, Sato T, Suga T, Shinomura Y, Imai K. Tumor matrilysin expression predicts metastatic potential of stage I (pT1) colon and rectal cancers. *Gut*, 54: 1751-1758, 2005.
41. Noshō K, Yoshida M, 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*, 26: 892-899, 2005.
42. 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*, 92: 1193-1200, 2005.
43. Murai M, Toyota M, Suzuki H, Satoh A, Sasaki Y, Akino K, Ueno M, Takahashi F, Kusano M, Mita H, Yanagihara K, Endo T, Hinoda Y, Tokino T, Imai K. Aberrant methylation and silencing of the BNIP3 gene in colorectal and gastric cancer. *Clin Cancer Res*, 11: 1021-1027, 2005.
44. Ushijima T, Watanabe N, Shimizu K, Miyamoto K, Sugimura T, Kaneda A. Decreased fidelity in replicating CpG methylation patterns in cancer cells. *Cancer Res*, 65: 11-17, 2005.
45. Ushijima T, Okochi-Takada E. Aberrant methylations in cancer cells: Where do they come from? *Cancer Sci*, 96: 206-211, 2005.
46. Ushijima T. Detection and interpretation of altered methylation patterns in cancer cells. *Nat Rev Cancer*, 5: 223-231, 2005.
47. Miyamoto K, Ushijima T. Diagnostic and therapeutic applications of epigenetics. *Jpn J Clin Oncol*, 35: 293-301, 2005.
48. Miyamoto K, Fukutomi T, Akashi-Tanaka S, Hasegawa T, Asahara T, Sugimura T, Ushijima

- T. Identification of 20 genes aberrantly methylated in human breast cancers. *Int J Cancer*, 116: 407-414, 2005.
49. Abe M, Ohira M, Kaneda A, Yagi Y, Yamamoto S, Kitano Y, Takato T, Nakagawara A, Ushijima T. CpG island methylator phenotype is a strong determinant of poor prognosis in neuroblastomas. *Cancer Res*, 65: 828-834, 2005.
50. Okochi-Takada E, Nakazawa K, Wakabayashi M, Mori A, Ichimura S, Yasugi T, Ushijima T. Silencing of the UCHL1 gene in human colorectal and ovarian cancers. *Int J Cancer*, in press.
51. Imura M, Yamashita S, Cai LY, Furuta JI, Wakabayashi M, Yasugi T, Ushijima, T. Methylation and expression analysis of 15 genes and three normally-methylated genes in 13 ovarian cancer cell lines. *Cancer Lett*, in press.
52. 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.
53. 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*, 173: 1767-1771, 2005.
54. Peng D-F, Kanai Y, Sawada M, Ushijima S, Hiraoka N, Kosuge T, Hirohashi S. Increased DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein expression in precancerous conditions and ductal carcinomas of the pancreas. *Cancer Sci*, 96: 403-408, 2005.
55. Chihara Y, Sugano K, Kobayashi A, Kanai Y, Yamamoto H, Nakazono A, Fujimoto H, Kakizoe T, Fujimoto K, Hirohashi S, Hirao Y. Loss of blood group A antigen expression in bladder cancer caused by allelic loss and/or methylation of the ABO gene. *Lab Invest*, 85: 895-907, 2005.
56. Arai E, Kanai Y, Ushijima S, Fujimoto H, Mukai K, Hirohashi S. Regional DNA hypermethylation and DNA methyltransferase (DNMT)

l protein overexpression in both renal tumors and corresponding non-tumorous renal tissues. Int J Cancer, in press.

57. Peng D-F, Kanai Y, Sawada M, Ushijima S, Hiraoka N, Kitazawa S, Hirohashi S. DNA methylation of multiple tumor-related genes in association with overexpression of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) during multistage

carcinogenesis of the pancreas. Carcinogenesis, in press.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
特願 2005-309921 「がん抑制剤」
2005. 10. 25、発明人：稲澤譲治・
井本逸勢・三沢あき子・井上純
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

諸臓器のがんの臨床病理学的特性の基盤となる蛋白発現異常の
網羅的解析・研究の総括

分担研究者 広橋 説雄 国立がんセンター研究所所長

研究要旨 高密度 BAC アレイによる比較ゲノムハイブリダイゼーション解析により、諸臓器のがんで高頻度にコピー数の減少・増加を示す微小染色体領域を新規に多数見出した。諸臓器のがんの臨床病理学的因子とよく相関するゲノム構造異常プロファイルを同定した。 β -カテニンが核内でFUSと相互作用し、プレmRNA スプライシングに関わる可能性を示した。ディスアドヘリン等細胞接着・運動能に関与する複数の機能分子の抗体パネルにより、大腸がんの肝転移を予測しうる新しいスコアシステムを確立した。

A. 研究目的

本研究では、がんの遺伝子型と表現型の相関 (genotype-phenotype correlation) を明らかにして、ヒトの諸臓器における多段階発がん過程のシナリオの理解をすすめることを目的とする。具体的には高精度ゲノムアレイシステムを用いて多数のがん臨床検体を解析し、潜在的がん特異的ゲノム異常を探索することで、がん細胞の遺伝的変化を網羅的に俯瞰し、新規がん関連遺伝子の単離を目指す。個々のがんにおける多様な遺伝的変化を病態に対応づけて整理し、病態診断・予後予測・治療法選択の指針とすることを目指す。大腸の発がん機構の全体像を把握し、治療や予防の標的となる候補分子を同定することを目的とし、 β -カテニンを含む核内複合体構成蛋白をプロテオーム解析技術を用いて網羅的に探索する。大腸がんの既知の分子生物学的な予後因子の抗体パネルにより、大腸がんの肝転移を予測しうる新し

いスコアシステムを確立する。

B. 研究方法

1) ゲノム構造異常の網羅的解析

がん克服戦略研究事業において開発してきたしてきた、がん関連遺伝子を網羅的に含む「がん個性診断」アレイ (MCG Cancer Array-800) を用い、比較ゲノムハイブリダイゼーション (CGH) 法を施行した。肝がん (87 症例)、膵がん (44 症例)、肺内分泌性腫瘍 (58 症例) の臨床検体において、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション法を用いて腫瘍組織からがん細胞のみを選別し、DNA を抽出後、アダプターライゲーション法により増幅し、解析した。得られたゲノム構造異常の全体像を俯瞰し、臨床病理学的な特徴と相関するゲノム構造異常の抽出を行った。肝細胞がん検体においては、複数の CpG アイランドにおける DNA メチル化の状態を、メチル化特異的 PCR 法ならびにバイサルファイト変換制限酵素処理法によ

って評価し、ゲノム構造異常等との
相関の有無を検討した。

2) 大腸がん発生の分子機構の解明と 診断システムの確立

大腸がん細胞より核蛋白質を抽出
し、抗 β -カテニン抗体を用いた免疫
沈降法と質量分析により、 β -カテニ
ンを含む核内複合体の構成蛋白質を
網羅的に同定した。

大腸がん肝転移予測システムを確
立するため、Dukes B/C 期大腸がん
150 症例の手術検体（学習セット）・
同施設で異なる時期に切除された 190
症例（第 1 検証セット）ならびに他施
設で切除された 99 症例（第 2 検証セ
ット）の手術検体において、従来大腸
がんの予後因子であるとの報告のあ
る β -カテニン・シクロオキシゲナー
ゼ-2・ディスアドヘリン・E-カドヘ
リン・Ki-67・マトリライシン・
p53・ラミニン 5 γ 2 鎖・MUC-1 の 9 分
子の発現を評価した。腫瘍浸潤最深
部を含む腫瘍最大断面のホルマリン
固定パラフィン包埋標本において、
免疫組織化学的検討を施行した。

倫理面への配慮)

平成 15 年厚生労働省告示第 255 号
「臨床研究に関する倫理指針」に従い、
倫理面に充分配慮して研究を進めた。
手術材料の残余の組織の研究利用に
つき、患者に対してあらかじめ説明
し文書で同意を得た。患者の治療方
針決定のための病理組織標本を迅速
に作製して残余の組織を採取するこ
とにより、患者への不利益を生じさ
せないようにした。患者の臨床情報

のうち本研究に必要なものは、別に
診療録より調査しておき、解析の過
程では無記名として検体番号のみで
取り扱う等の細心の注意を払い、患
者のプライバシーを遵守した。所属
施設の倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1) ゲノム構造異常の網羅的解析

昨年度までに肝細胞がん臨床検体
について、MCG Cancer Array-800 を
用いたゲノム構造異常の検索を行い、
以下の結果を得ている。すなわち、
高頻度に染色体欠失を示す領域とし
て、1p36, 4q21-25, 4q34-35, 8p23-11,
13q14, 16p13, 16q22-24, 17p13 を、
染体重複領域として、1q21-44,
2q21, 2q34, 3q11, 5p14, 5q13-14,
7p22, 7p14, 7q21, 7q22, 7q34,
8q12-24, 17q23 を同定した。さらに
高頻度染色体増幅領域として、1q25,
8q11, 11q11 を、新規の染色体ホモ欠
失領域として 14q32 領域を検出した。
ゲノム構造異常の程度と腫瘍の臨床
病理像を比較したところ、構造異常
の蓄積の程度は、腫瘍の分化度・B 型
肝炎ウイルス感染・腫瘍細胞の悪性
度（門脈浸襲、肝内転移）と有意に相
関した。さらに患者予後と相関する
染色体異常を検索したところ、
17p13.3 領域の欠失と 8q11 領域の重
複が他の臨床病理学的因子（病期・門
脈浸襲・肝内転移）と独立した予後予
測因子になることを見いだした。更
に本年度は、肝がんにおけるゲノム
構造異常と DNA メチル化異常の蓄積の
関係について検討した。その結果、B
型・C 型肝炎ウイルスの感染とジェネ
ティック・エピジェネティックな異
常には有意な相関があること、ゲノ
ム構造異常とエピジェネティックな
異常は必ずしも相補的ではないこと、

ジェネティックな異常よりもむしろエピジェネティックな異常の程度が強い一群の腫瘍があること、エピジェネティックな異常と強く相関するゲノム構造異常があること、などを見いだした。

膵がん臨床検体における MCG Cancer Array-800 を用いたゲノム構造異常の探索でも、多数の構造異常領域を同定した。遺伝子増幅領域については、遺伝子発現プロファイルとの比較により、増幅領域に含まれるがん関連候補遺伝子の絞り込みを行った。

極めて予後不良であることが知られている肺の内分泌性腫瘍(小細胞がん並びに内分泌性大細胞がん)におけるゲノム構造異常の全体像を明らかにした。患者の予後と有意に相関する特徴的なゲノム構造異常を見いだした。

2) 大腸がん発生の分子機構の解明と診断システムの確立

ヒト大腸がん細胞の核抽出物の免疫沈降により β -カテニン/TCF-4 複合体には FUS (fusion/TLS: translocated in liposarcoma) などの種々の RNA 結合タンパク質が含まれ、 β -カテニン/TCF-4 複合体がプレ mRNA スプライシングの制御に関わることが明らかになった。これに関連して、大腸がん細胞に β -カテニンを過剰発現させると、一般型のエストロゲン受容体- β に対しドミナントネガティブに転写活性を抑制する新規スプライスバリエントが発現することを示した。

肝転移予測システム構築のための免疫組織化学的検討では、大腸がん学習セット 150 例における単変量解

析で、ディスアドヘリン (p=0.0060)・E-カドヘリン (p=0.0016)・マトリライシン (p=0.0162)・ラミニン 5 γ 2 鎖 (p=0.0284) が肝転移再発と有意な相関を示した。多変量解析では、ディスアドヘリン (p=0.0013)・E-カドヘリン (p=0.004) が肝転移再発と有意な相関を示した。ロジスティック回帰分析を用いた変数選択では、ディスアドヘリン・E-カドヘリン・マトリライシンの 3 分子が選択された。

ロジスティック回帰分析に基づき肝転移再発予測式; 肝転移再発 (Immunohistochemical Metastatic Point)=3x ディスアドヘリン+ 4 x E-カドヘリン+ 2 x マトリライシンを確立した。5 点以上が高危険群, 4 点以下を低危険群とした時、この式を用いた肝転移の予測は感度 85.7% (18/21)・特異度 58.9% (76/129)であった。評価者をかえて学習セット 150 例を再評価し、ディスアドヘリン・E-カドヘリン・マトリライシンの 3 分子の発現はいずれも肝転移再発と有意に相関することを確認した。第 1 検証セットでは感度 87.0% (20/23)・特異度 66.5% (111/167)、第 2 検証セットでは感度 80% (4/5)・特異度 59.6% (56/94)であった。

D. 考察

1) ゲノム構造異常の網羅的解析

高精度・高密度のゲノムアレイの利用により従来法では検出困難であった、数 100kb レベルの欠失や重複のゲノムコピー数異常を検出できるようになった。諸臓器のがんの臨床検体等におけるゲノム構造異常の全体像が俯瞰できた。新規がん関連遺伝子の単離に必要な、高頻度染色体異常領域の狭小化が達成された。今

後、網羅的な遺伝子あるいは蛋白の発現解析の結果を参照しながら候補遺伝子の絞り込みを行い、さらに遺伝子異常を効率良く多数検体で検索することで、新規がん遺伝子・がん抑制遺伝子の単離を目指す。また臨床病理像との対応の結果、予後予測因子といった臨床的に重要な遺伝子異常の候補領域を抽出することができた。今後この結果をさらに多数検体で検証し、ゲノム構造異常に基づくがんの個性診断アレイの作成・実用化を目指したい。

2) 大腸がん発生の分子機構の解明と診断システムの確立

分担研究者らは、質量分析機を低流速多次元液体クロマトグラフィーと直接接続して蛋白質の高感度検出を可能にし、蛋白質の機能複合体の構成成分の網羅的な同定や発現解析等に応用している。免疫沈降法と質量分析法を用いた結合蛋白質の検索は、2ハイブリッド法等の人工的な結合を検出する方法に比べ、特異的な結果が得られる可能性が高いと考えられる。大腸の前発がん病変である腺腫の形成予防は、大腸がん予防の現実的な戦略であるが、本年度プレmRNA スプライシングに関わることを示したように、 β -カテニンの腺腫形成への寄与はTCF/LEFの転写活性化以外にも数多くあると考えられる。今後も、多様な創薬標的の同定のため、 β -カテニン結合蛋白の同定を効率的に継続する予定である。

従来までの報告には見られない多数の症例と複数のマーカーを用いて、大腸がん根治術後の肝転移再発予測式を確立した。学習セット・第1検証セットおよび第2検証セットい

れにおいても、従来のリンパ節転移の有無に基づく肝転移再発予測よりも高精度な結果が得られた。臨床検体においてマイクロアレイ解析を施行し肝転移再発を予測しようとするような他の研究者の試みとことなり、本予測式に用いた免疫染色法は、確立された手技で広く一般の病院の臨床検査部において安価で施行が可能であることから、術後化学補助療法施行の指標としてあるいは定期外来経過観察の期間を考慮する際に有用と期待される。

E. 結論

諸臓器のがんにおける遺伝子異常を網羅的に解析し、臨床病理学的因子との相関を詳細に検討することで、がんの遺伝子型と表現型の相関 (genotype-phenotype correlation) を明らかにし、ヒトの諸臓器における多段階発がん過程のシナリオの全貌の解明に近づくことを目的として研究をすすめた。具体的には、高密度アレイを用いてアレイCGH解析を行い、がんで高頻度にコピー数の減少・増加を示す微小染色体領域を多数同定した。諸臓器のがんの臨床病理学的因子とよく相関するゲノム構造異常を見出した。 β -カテニンが核内でFUS等のRNA結合蛋白質と相互作用し、細胞間接着や遺伝子転写制御といった従来知られている β -カテニンの機能以外に、プレmRNAスプライシングにも関わることを示した。がんの生物学的特性の決定に寄与する複数の機能分子の免疫組織化学的発現結果の組み合わせにより、大腸がん術後の肝転移再発を高精度で予測する新しいスコアシステムを確立した。今後更に、がんの病理像と遺伝子・分子・細胞レベルの変化との対応を明らかにし、革新的ながん診断

の指標あるいは新しいがん予防・治療の標的の同定に結びつくよう、諸臓器における多段階発がん過程の分子機構の全貌の解明を推進する予定である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Shibata T, Uryu S, Kokubu A, Hosoda F, Ohki M, Sakiyama T, Matsuno Y, Tsuchiya R, Kanai Y, Kondo T, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S. Genetic classification of lung adenocarcinoma based on array-based comparative genomic hybridization analysis: its association with clinicopathological features. *Clin Cancer Res*, 11: 6177-6185, 2005.
2. Katoh H, Shibata T, Kokubu A, Ojima H, Loukopoulos P, Kanai Y, Kosuge T, Fukayama M, Kondo T, Sakamoto M, Hosoda F, Ohki M, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S. Genetic profile of hepatocellular carcinoma revealed by array-based comparative genomic hybridization: identification of genetic indicators to predict patient outcome. *J Hepatol*, 43: 863-874, 2005.
3. Peng W-X, Shibata T, Katoh H, Kokubu A, Matsuno Y, Asamura H, Tsuchiya R, Kanai Y, Hosoda F, Sakiyama T, Ohki M, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S. Array-based comparative genomic hybridization analysis of high-grade neuroendocrine tumors of the lung. *Cancer Sci*, 96: 661-667, 2005.
4. Yoshida Y, Shibata T, Kokubu A, Tsuta K, Matsuno Y, Kanai Y, Asamura H, Tsuchiya R, Hirohashi S. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in atypical adenomatous hyperplasia and bronchioloalveolar carcinoma of the lung. *Lung Cancer*, 50: 1-8, 2005.
5. Katoh H, Shibata T, Kokubu A, Ojima H, Fukayama M, Kanai Y, Hirohashi S. Epigenetic instability and chromosomal instability in hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol*, in press.
6. 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*, 11: 2531-2539, 2005.
7. Nishizawa A, Nakanishi Y, Yoshimura K, Sasajima Y, Yamazaki N, Yamamoto A, Hanada K, Kanai Y, Hirohashi S. Clinicopathologic significance of dysadherin expression in cutaneous malignant melanoma: Immunohistochemical analysis of 115 patients. *Cancer*, 103: 1693-1700, 2005.
8. Naishiro Y, Yamada T, Idogawa M, Honda K, Takada M, Kondo T, Imai K, Hirohashi S. Morphological and transcriptional responses of untransformed intestinal epithelial cells to an oncogenic β -catenin protein. *Oncogene*, 24: 3141-3153, 2005.
9. Idogawa M, Yamada T, Honda K,

- Sato S, Imai K, Hirohashi S. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 is a component of the oncogenic T-cell factor-4/ β -catenin complex. *Gastroenterology*, 128: 1919-1936, 2005.
10. 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. *Gastroenterol*, 128: 51-62, 2005.
11. Hayashida Y, Honda K, Idogawa M, Ino Y, Ono M, Tsuchida A, Aoki T, Hirohashi S, Yamada T. E-cadherin regulates the association between β -catenin and actinin-4. *Cancer Res*, 65: 8836-8845, 2005.
12. Sato S, Idogawa M, Honda K, Fujii G, Kawashima H, Takekuma K, Hoshika A, Hirohashi S, Yamada T. β -catenin interacts with the FUS proto-oncogene product and regulates pre-mRNA splicing. *Gastroenterol*, 129: 1225-1236, 2005.
13. Yanagihara K, Takigahira M, Tanaka H, Komatsu T, Fukumoto H, Koizumi F, Nishio K, Ochiya T, Ino Y, Hirohashi S. Development and biological analysis of peritoneal metastasis mouse models for human scirrhous stomach cancer. *Cancer Sci*, 96: 323-332, 2005.
14. Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Yamada T, Iwatsuki K, Hirohashi S. Proteomic study of human hepatocellular carcinoma using two-dimensional difference gel electrophoresis with saturation cysteine dye. *Proteomics*, 5: 1411-1422, 2005.
15. Seike M, Kondo T, Fujii K, Okano T, Yamada T, Matsuno Y, Gemma A, Kudoh S, Hirohashi S. Proteomic signatures for histological types of lung cancer. *Proteomics*, 5: 2939-2948, 2005.
16. Mori Y, Kondo T, Yamada T, Tsuchida A, Aoki T, Hirohashi S. Two-dimensional electrophoresis database of fluorescence-labeled proteins of colon cancer cells. *J Chromatography B*, 823: 82-97, 2005.
17. Hara T, Honda K, Ono M, Naito K, Hirohashi S, Yamada T. Identification of 2 serum biomarkers of renal cell carcinoma by surface enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry. *J Urol*, 174: 1213-1217, 2005.
18. Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Yamada T, Matsuno Y, Iwatsuki K, Hirohashi S. Protein expression pattern distinguishes different lymphoid neoplasms. *Proteomics*, 5: 4274-4286, 2005.
19. Hayashida Y, Honda K, Osaka Y, Hara T, Umaki T, Tsuchida A, Aoki T, Hirohashi S, Yamada T. Possible prediction of chemoradiosensitivity of esophageal cancer by serum protein profiling. *Clin Cancer Res*, 11: 8042-8047, 2005.
20. Honda K, Hayashida Y, Umaki T, Okusaka T, Kosuge T, Kikuchi S, Endo M, Tsuchida A, Aoki T, Itoi T, Moriyasu F, Hirohashi S, Yamada T. Possible detection of pancreatic cancer by plasma protein profiling. *Cancaer Res*, 65: 10613-10622, 2005.

21. Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Okano T, Yamada M, Yamada T, Iwatsuki K, Hirohashi S. Database of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of proteins labeled with CyDye DIGE Fluor saturation dye. Proteomics, 6: 1640-1653, 2006.

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 |

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

諸臓器のがんの臨床病理学的特性の基盤となる遺伝子発現異常の網羅的解析

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：本研究では膵がん、肺がん、肝がんそして卵巣がん、皮膚がんなどを対象として、網羅的遺伝子発現解析を行うことで、各臓器がんの多彩な病理像の背景の分子基盤を明らかにするとともに、新しい診断・治療法への応用の可能性につき検討した。平成17年度の具体的な成果としては、皮膚基底細胞がんで過剰発現し、Sonic Hedgehog シグナル伝達系の下流で発現すると考えられる新規遺伝子の同定・解析を行った。また、肝細胞がんの悪性化に伴って発現亢進するアクチン結合蛋白 Cyclase-associated protein 2 (CAP2)を同定し、ヒトのがんで初めて同分子の過剰発現を示した。

A. 研究目的

ヒトのがん組織は、多段階発がん過程により、あるいはがん間質相互作用などの多様な細胞間相互作用により、多彩な病理像を示す。そして、各臓器がんの病理学的特性は、臨床的特性と対応することが示されてきている。本研究では、臓器がんにおける網羅的遺伝子発現解析を行うことで、多彩な病理像の背景の分子基盤を明らかにすることを目的とする。具体的には、厚生労働行政上も緊急の課題である難治がんの代表である膵がん、肺がん、肝がんそして卵巣がん、皮膚がんなどを対象として、個々の臨床病理学的特性と対応させた遺伝子発現異常の解析を行い、その本態の解明と、得られた成果の診断・治療への応用を目指す。DNA マイクロアレイに代表される網羅的遺伝子発現解析技術は、医学の診断や治療に大きな影響をもたらすことが期待されているが、病理診断との対応のみに留まる結果が多く、実際の臨床に応用されている成果は極めて少ない。本研究が目指す、個々の臓器がんの特有な病理像に着目した遺伝子発現解析研究は、新しい疾患概念の確立、病態の理解に留まらず、診断・治療の標準化、臨床応用可能な新しい診断・治療法の開発につながるものと期待され、今後国家レベルで推進が期待されるトランスレーショナルリサーチの基盤となると考えられる。

B. 研究方法

多彩なヒトの病理材料を対象に、がんの病態解明を目指す本研究課題にあつては、以下の3つのアプローチを統合的に行う。

(1) 病理材料に発現する遺伝子の網羅的解析。(2) 病理像を忠実に反映するヒトがんの増殖転移モデル開発と、それを用いた発現解析ならびに機能解析(3) 臨床材料におけるレトロスペクティブ・プロスペクティブな大規模検討による有用性の検証。

(1)の遺伝子発現解析には、DNA マイクロアレイを用いるが、得られた遺伝子群は、in situ hybridization、免疫組織化学による組織での発現の局在、病理像との対応を詳細に検討し病態との関連を絞り込む。臨床材料では、検体量が十分得られず、機能解析が行えない等の欠点もあるため、それを補う手段として(2)モデル系の開発は不可欠であり、免疫不全マウスを用いたがん細胞ないしがん組織の同所移植による増殖転移モデルを開発する。モデルの腫瘍組織を用いて(1)と同様に網羅的遺伝子発現解析を行う。また(1)で同定された遺伝子を導入あるいはknock-downし、in vitro と in vivo での機能解析を行うことで、分子の病態への直接的関与を明らかにする。このモデルを用いた転移の抑制などの治療実験は、前臨床試験として有用であるのみならず、分子の病態への関与をより明らかにすることが期待される。以上の解

析で同定された分子群について病態の解明と診断・治療への応用の検討を行うために、

(3) 実際の臨床材料を用いた大規模解析を行う。最終的にヒトがんの病態への関与が示された新規分子については、その分子生物学的解析を進め、その生物学的機能を一層解明する。また臨床的意義が確認されたものについては、実際の臨床応用を目指す。治療への応用としては、遺伝子操作以外に、特異的阻害剤、抗体などの利用につき検討する。

(倫理面への配慮)

本研究計画では、がん組織で新たに生じた遺伝子の変化、発現の変化を解析することを目的としており、三省合同指針にあるヒトゲノム・遺伝子解析研究は含まれない。ヒト由来の組織を用いた研究に当たっては、三省合同による「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」及び科学技術会議生命倫理委員会により制定された「ヒトゲノム研究に関する基本原則について」を遵守すると共に、当大学の倫理審査委員会の承認を得て実施する。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」を遵守する。

C. 研究結果

1. 基底細胞がんの遺伝子発現解析

基底細胞がんは主として中高年者の顔面領域の皮膚に生じ、皮膚がんの中では最も発症率が高いとされているがんである。基底細胞がんは Sonic Hedgehog シグナル伝達経路の異常により生じる事が明らかとなっているが、そのシグナル伝達経路の下流より発現する遺伝子については未解明なものが多い。そこで DNA マイクロアレイによる解析で、基底細胞がんに有意に発現する遺伝子 X を同定した。その後、約 20 例の基底細胞がん検体より抽出した RNA をもとに定量的 RT-PCR を施行のうえ、全ての検体においてこの遺伝子が正常皮膚に対して約 10~650 倍量発現している事を確認した。また、

本遺伝子の各検体における発現パターンが、既に Sonic Hedgehog シグナル伝達経路の下流より発現するとされている遺伝子の発現パターンと比較的近似していた。

2. 肝細胞がんの遺伝子発現解析

肝細胞がんの多くは慢性肝炎、肝硬変を背景に腺腫様過形成、早期肝細胞がん(早期型)から結節内結節型肝細胞がん(結節内結節型:早期型の内部に脱分化した進行がん結節を有する結節)そして進行がんへと多段階の発がん様式を示すことが明らかにされてきている。今回 7 症例の結節内結節型を用いて背景の非腫瘍部肝組織、早期型領域、進行がん領域での micro array 解析を行いリストアップされた遺伝子

Cyclase-associated protein 2 (CAP2) の解析を行った。定量 PCR の結果、がんの進行に伴い発現の上昇を認めた。さらに抗体を作成し、蛋白発現解析を行った結果、肝細胞がん細胞株と肝細胞がん組織に明瞭な発現を認め、一方、非腫瘍部にはわずかな発現のみであった。次に肝細胞がん 7 2 例

(早期型:29, 結節内結節型:10, 進行がん:33)、腺腫様過形成 7 例、および背景肝組織を免疫組織化学染色により検討した。その結果、非腫瘍部、腺腫様過形成ではほとんど発現は認められずがんの進行に伴い強い陽性所見を認め、CAP2 は肝細胞がん多段階発がんに関連した分子であることが明らかとなった。また診断が困難な早期肝細胞がん症例の病理診断において有用であることが示唆された。

D. 考察

1. 基底細胞がんの遺伝子発現解析

今回の結果は、遺伝子 X が Sonic Hedgehog シグナル伝達経路の下流より発現している可能性を示唆している。そこで、両者の関連性を調べるために現在細胞株を用いた発現誘導および抑制実験、レポーターアッセイ等を施行中である。今後この遺伝子の機能をより詳細に解明することにより、将来的にこの遺伝子を対象とした標的治療の可能性も生じると考えられる。また、肺小細胞がん、前立腺がん、膵管がんなかでも前

がん病変 (PanIN) においても SHh 経路が亢進していることが報告され、他のがんの発生にも関わっていることが示唆されることから、これらのがんにおける意義も合わせて解析する。

2. 肝細胞がんの遺伝子発現解析

CAP2は、がんでの報告は全くなく、16年度の成果として報告した膵管がんにおけるCAP1の研究と併せて、今後大きな展開が期待されると考えられる。CAPは酵母での研究は進んでいるが、哺乳動物での研究は殆ど成されて居らず、今後、CAPの過剰発現ががん細胞の生物学特性に如何に関わっているのか、遺伝子導入、RNAi等を用い、in vitro, in vivoでの機能解析を行う。あわせて、がんにおいてCAPがどのような分子と相互作用をしているのかを明らかにする。

E. 結論

本研究では膵がん、肺がん、肝がんそして卵巣がん、皮膚がんなどを対象として、網羅的遺伝子発現解析を行うことで、各臓器がんの多彩な病理像の背景の分子基盤を明らかにすることを目的としている。17年度までの研究で、初期肺腺がん特異的な発現を示す分子の同定、卵巣明細胞腺がん分子マーカーの細胞診断への応用、膵がんで過剰発現する新規分子の同定に加えて皮膚基底細胞がんで過剰発現しSHhの下流で発現すると考えられる新規遺伝子の同定・解析、肝細胞がんの悪性化に伴って発現亢進するCAP2の同定・解析を行った。今後も、個々の臨床病理学的特性と対応させた遺伝子発現異常の解析を継続して行い、その本態の解明と、得られた成果の診断・治療への応用を目指す。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nakanishi K, Sakamoto M, Yamasaki S, Todo S, Hirohashi S: Akt Phosphorylation

is a risk factor for early disease recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005, 103:307-312.

2) Oikawa T, Ojima H, Yamasaki S, Takayama T, Hirohashi S, Sakamoto M. Multistep and multicentric development of hepatocellular carcinoma: histological analysis of 980 resected nodules. *J Hepatol* 2005, 42: 225-229.

3) Yoh Z, Aishima S, Ajioka Y, Haratake J, Kage M, Kondo F, Nimura Y, Sakamoto M, Sasaki M, Shimamatsu K, Wakasa K, Young N.P, Ming F.C, Atomi Y, Nakanuma Y: Proposal of histological criteria for intraepithelial atypical/proliferative biliary epithelial lesions of the bile duct in hepatolithiasis with respect to cholangiocarcinoma: Preliminary report based on interobserver agreement. *Pathol Int* 2005, 55:180-188.

4) Horinaga M, Okita H, Nakashima J, Kanao K, Sakamoto M, Murai M: Clinical and pathological significance of activation of signal transducer and activator of transcription 3 in prostate cancer. *Urology* 2005, 66: 671-675.

5) Miyake I, Hakomori Y, Misu Y, Nakadate H, Matsuura N, Sakamoto M, Sakai R: Domain-specific function of ShcC docking protein in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2005, 24: 3206-3215.

6) Koide N, Yamada T, Shibata R, Mori T, Fukuma M, Yamazaki K, Aiura K, Shimazu M, Hirohashi S, Nimura Y, Sakamoto M. Establishment of Perineural Invasion Models and Analysis of Gene Expression Revealed an Invariant Chain (CD74) as a Possible Molecule involved in Perineural Invasion in Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res*, in press.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

厚生労働科学研究費補助金第3次対がん総合戦略研究事業
分担研究報告書

諸臓器のがんにおけるゲノム構造異常の網羅的解析

分担研究者 稲澤 譲治 東京医科歯科大学難治疾患研究所・教授

研究要旨：各種のがんにおいてゲノム構造異常や機能的DNAエレメントを染色体ワイドに検出するシステムを開発し、これを用いてがんの発症や進展に関わる微細ゲノムコピー数異常や機能的DNAエレメントを探索した。加えて遺伝子発現や蛋白機能の解析を行った。その結果、いくつかのがん病型において「phenotype/genotype correlation」を示すがん関連遺伝子座とその標的遺伝子を見出した。これらの新規のがん関連遺伝子は、個々人のがんの性質を区別するための新しい診断法のバイオマーカーとして、あるいは個別化医療の実現に向けた治療法の開発のシーズとして期待できる。

A. 研究目的

ポストゲノム時代に入り、ゲノム情報に基づいてがんの分子病態を包括的に理解し、がん医療に資する成果を上げることが強く望まれている。このことから、高精度ゲノムアレイシステムによる潜在的がん特異的ゲノム異常の探索研究を実施して、新規のがん関連遺伝子を同定するとともに難治性がんの画期的診断、治療、予防法を開発することを目的に研究を実施する。

B. 研究方法

各種のがんにおいて微細ゲノム構造異常や機能的DNAエレメントをゲノムワイドに検出するシステムを開発し、これを用いて潜在的ゲノム構造異常

や機能的DNAエレメントの探索を行う。併せて遺伝子の網羅的発現解析を行い、これら統合的解析結果に基づき、各種がんにおいて「phenotype/genotype correlation」を包括的に理解する。特に治療法開発に直結する難治性がんの病態解明を目的とする。今年度は、ゲノムアレイの応用により、DNAメチル化領域の探索法や特定タンパクの結合DNAエレメントの検出などの方法を確立する。

(倫理面への配慮)

今回の研究の遂行にあたっては「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(2004年12月28日文部科学省、厚生労働省、経済産業省、倫理指針ならびに個人情報保護ガイドライ

ン)を遵守すると共に、東京医科歯科大学をはじめ各研究機関に設置された倫理委員会の承認を得て実施する体制を整えている。

C. 研究結果

1) 大腸がん関連遺伝子の同定

大腸癌(CRC)の肝転移は予後を左右する最大の因子とって過言でない。CRC原発巣と同一患者の肝転移巣の間でのゲノム変化の差をサブトラクティブCGH法で比較し第6番染色体短腕6p過剰を見出した。次にCGHアレイによりCRC細胞株のゲノム構造異常をスクリーニングし2細胞株で6p21の高度増幅を検出し、同領域の標的遺伝子がサイクリンD3(CCND3)であることを明らかにした。(Tanami et al., Lab Invest, 2005)

2) 胃がん関連遺伝子の同定

MCG Whole Genome Array-4500/Cancer Array-800を用いて胃癌細胞株32例のCGHアレイ解析を行った。新規増幅のCDK6(7q21.2)に検出した。(Takada et al., Cancer Sci. 2005)

さらに、MCG Whole Genome Array-4500で新規の2q33.3ホモ欠失を見出し、標的遺伝子ADAM23を明らかにした。マイクロダイセクションで採取した胃癌外科摘出サンプル39例の検討でもその1例でADAM23ホモ欠失を確認した。ADAM23がジェネティック・エピジェネティックな機構により機能消失する胃癌抑制遺伝子の候補であることを明らかにした。(Takada et al., Oncogene, 2005)

3) 肺癌の新規がん関連遺伝子の同定
肺非小細胞癌細胞株のCGHアレイ解析で検出した9q33の新規ホモ欠失領域から、ホモ欠失あるいはプロモーターCpGアイランド領域のメチル化により高頻度に発現消失を認める肺癌特性遺伝子候補DBC1を同定した。(Izumi et al., Hum Molec Genet, 2005)

また、Whole Genome Array-4500を用いてSCLCの20細胞株のゲノム異常スクリーニングを行い新規13q21.2ホモ欠失を検出し、標的遺伝子Protocadherin 20(PCDH20)を明らかにした。(Imoto et al., Cancer Res, in press)

4) 神経芽細胞腫のがん関連遺伝子の同定

BAMCA法を用いて(Stage I, II)と(Stage III, IV)の間でDNAメチル化の差を検索し、予後不良群において特異的にメチル化を受ける癌抑制遺伝子候補の核内受容体型転写因子NR1I2を同定した。NR1I2はNB悪性度を知るバイオマーカーのみならず分化誘導療法薬剤のスクリーニングを知る上でも非常に良い生体指標となる。(Misawa et al., Cancer Res, 2005)

5) その他の研究成果

グリオーマの5p増幅の標的がSKP2であることを明らかにした。(Saigusa et al., Cancer Sci, 2006)

また、水谷修紀博士と共同でトポイソメラーゼII阻害薬エトポシドによって惹起される染色体異常の生成機構を明らかにした。(Nakada et al., J Clin Invest, 2005)