

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

がんの臨床的特性に関する分子情報に基づく

がん診療法の開拓的研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉田 輝彦

平成18(2006)年4月

目 次

I. 総括研究報告	
がんの臨床的特性に関する分子情報に基づくがん診療法の開拓的研究	
吉田 輝彦	1
II. 分担研究報告	
1. 分子情報に基づく組織画像解析を基盤とする食道・頭頸部扁平上皮がんの予知医療の 確立を目指した基礎的及び臨床的研究	
落合 淳志	6
2. 遺伝子発現データを元にした白血病等の発症・悪性化に関わる分子経路の同定と臨床 応用の研究	
市川 仁	8
3. 遺伝情報に基づく発がん高危険度群補足とその臨床応用	
菅野 康吉	10
4. 固形がんに対する免疫遺伝子・細胞複合療法の臨床導入を実現する研究	
青木 一教	14
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	17

がんの臨床的特性に関する分子情報に基づくがん診療法の開拓的研究

主任研究者 吉田 輝彦 国立がんセンター研究所腫瘍ゲノム解析・情報研究部 部長

研究要旨 本研究の目的は、治療応答性や予後等の重要な臨床的特性を規定する分子情報を確定し、その知見に基づくがんの診断・治療の標的を同定、かつ実際の診療プロトコルを開拓・検証することにある。本年度の主な研究成果は以下の通り。①食道がん化学放射線療法の奏効性を予測する方法開発のため、既提供生検試料 35 例の遺伝子発現プロファイルに対し 6 種類の判別アルゴリズムを適用したところ、誤判別率は 0.17～0.34 で大半が non-CR 群であることから、元の試料数の偏りを反映したと考えられた。腫瘍内血管密を客観的に測定するための画像解析システムを確立し、食道がんの放射線治療奏効性と有意に相関する情報が得られることを示した。②造血幹細胞自己複製の促進が、t(8;21)-AML と inv(16)-AML の発症に関わる共通分子経路である可能性を示した。小児単球系 AML において、治療の層別化に有用な新たなサブタイプ分類の可能性を示した。③多重がんの罹患歴を主とする第一度近親内の家系情報と、発端者の初発がんの罹患時年齢から HNPCC の遺伝子検査で病的変異が認められる確率を推定する新たな指標を考案した。本法は第二度近親以遠の家系情報が不明であったり、あるいは血縁者の数が少ない場合にも適応可能であることから、日本人の HNPCC スクリーニングへの有用性が期待される。④腫瘍内同種 MHC class I 抗原遺伝子導入と同種造血幹細胞移植の複合により、GVHD を増悪することなく全身性の腫瘍特異的免疫反応が増強されること、CD4 陽性および CD8 陽性 CTL がエフェクターとして関与していること、移植後の免疫系再構築時に腫瘍抗原を暴露しておいても免疫寛容が誘導されることなく抗腫瘍効果が得られことを示した。

分担研究者

落合 淳志	国立がんセンター東病院 臨床開発センター 部長
市川 仁	国立がんセンター研究所 プロジェクトリーダー
菅野 康吉	栃木県立がんセンター研究所 副主幹・医長・特別研究員
青木 一教	国立がんセンター研究所 室長

臨床的特性を規定する因子を特に分子レベルで確定し、その知見に基づくがんの診断・治療の標的を同定、かつ実際の診療プロトコルを開拓・検証することにある。がんの分子情報を包括的かつ効率よく捕捉する技術や、細胞への遺伝子導入・発現技術を効果的に応用することで、がん診療の成績や質の革新的な向上が期待され、厚生労働行政的にも研究の必要性は高い。具体的な研究目的は以下のとおり。①食道がん・頭頸部がんの治療前生検組織の遺伝子発現情報並びに血管密度情報の画像解析により、治療法の選択に資する奏効性の予知法の確立を目指す。現在の食道がん手術療法と放射線化学療法の 5 年生存率はほ

A. 研究目的

本研究の目的は、治療応答性や予後等の重要な

ば同率であるが、本研究により各症例に適した治療法が選別可能になり、全体の治療成績の向上が期待される。②AMLの網羅的遺伝子発現解析から同定された染色体異常相関遺伝子・予後相関遺伝子を中心として、発症・悪性化に働く分子経路を解明する。特に、AML発症に関わる分子経路として造血幹細胞の自己複製経路、予後不良に関わる分子経路として単球系白血病の予後不良サブタイプに働いていると予想される経路について解析を行う。各々のAMLの個性を分子経路として把握する診断法が確立されれば、よりの確な治療法を選択できるとともに、新規治療標的分子の同定につながると期待される。③最も頻度の高い遺伝性腫瘍の一つとして、遺伝性非ポリポーシス大腸がん(HNPCC)はいまだ多くの症例が見逃されていると考えられる。しかるに、少子化や血縁者間のがん罹患情報共有の低下等により従来の診断基準では現代の日本人のHNPCCのスクリーニングとして感度が十分でないと考えられ、日本人のHNPCCの頻度を明らかにし、がん予防に有効な易罹患性評価の新たな指標・HNPCC診断基準を作成する。④腫瘍局所に同種MHCを導入・発現させて、細胞障害性T細胞(CTL)による拒絶反応を誘導、併せて腫瘍局所での腫瘍抗原の認識を促進して、腫瘍特異的CTLの誘導が可能である。しかし固形がんにおいては、局所での免疫寛容のために、臨床上有効な抗腫瘍免疫反応の誘導に至らないことが多い。このような免疫治療抵抗性の機序を打破するべく、同種造血幹細胞移植を併用してドナー免疫系による抗腫瘍効果を高めるとともに、Graft-versus-Host Disease (GVHD)を増悪させない免疫遺伝子・細胞複合療法を開発する。

B. 研究方法

上記4つの研究課題毎に以下の通り。

①食道がん等の予知医療開発：化学放射線治療施行前の食道がん生検組織の既提供試料35例のAffymetrix GeneChip HG-U95Av2による12,625遺伝子の発現プロファイルデータを用いた化学放

射線治療奏効性予知法の開発については、CR 24例、non-CR 11例の2群の supervised analysis による判別器の開発を目指した。今年度は代表的なアルゴリズムとして、Random Forests (RF)、Prediction Analysis for Microarrays (PAM)、Penalized Logistic Regression (PLR)、Support Vector Machine (SVM)、Diagonal Linear Discriminant Analysis (DLDA)、Generalized Partial Least Square (GPLS)の6種類について10-fold cross validationにより体系的に評価した。遺伝子選抜の過程を含むRandom ForestsとPAM以外については、t検定による上位50種の遺伝子を用いた。

一方、腫瘍内血管密度の客観的測定データに基づいて食道がん・頭頸部がんの放射線感受性を予知する方法の開発のため、組織学的画像解析システムを構築し、51症例の生検組織について、(a)腫瘍内血管密度、(b)腫瘍内血管周囲径総和、(c)血管から150 μ m離れた低酸素領域面積比、(d)Hot spot腫瘍血管密度と、放射線化学療法の治療反応性および予後との比較を行った。

②AMLの発症・悪性化の分子経路の同定：54症例の小児AMLの遺伝子発現データ及び新たに解析する数十症例の遺伝子発現データから、染色体異常相関遺伝子及び予後相関遺伝子を統計的手法により抽出し、発症・悪性化に関わる分子経路を推定、さらに細胞株等を用いて機能解析を行う。

③新しいHNPCCのスクリーニング指標の開発：遺伝相談外来受診例を対象とする多施設共同研究によりHNPCCの遺伝子検査を行う対象として、以下の症例選択基準を設定した。(1)Amsterdam診断基準合致例、(2)大腸癌研究会の臨床診断基準A群およびB群に合致する症例、(3)上記の診断基準に合致しないVariant群として、a)大腸、胃、子宮体部、卵巣、膵臓等の多重多発がんの既往を有する症例、b)40才以下の若年発症大腸癌あるいは子宮体がん、c)切除腫瘍組織の検査でマイクロサテライト不安定性(MSI)が認められた症例。遺伝子検査はMSH2、MLH1、MSH6の全エクソン領

域の RT-PCR によるスクリーニングと、Multiplex Ligaton-dependent Probe Amplification (MLPA) による大領域欠失・重複の解析を行った。その結果と臨床情報から遺伝子検査で変異が認められるリスクを解析した。

④固形がんの免疫遺伝子・細胞複合療法の開発：造血幹細胞移植モデルは昨年度確立した DBA/2 マウスをドナー、BALB/c マウスをレシピエントとする系を用いた。遠隔転移のモデルとして、移植したマウスの両脚皮下に CT26 大腸がん細胞を移植し、一方の腫瘍に対してのみ、同種 MHC class I 抗原である H-2K^b 発現プラスミドをリポソーム (DMRIE/DOPE) と混合して直接注入し、同種造血幹細胞移植と同種 MHC 遺伝子導入の複合療法の固形がんに対する全身性の抗腫瘍効果を検証した。また、抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体、抗アシアロ GM1 抗体を用いて、抗腫瘍免疫反応を担うエフェクターを同定した。

(倫理面への配慮)

ヒト試料の生殖細胞系列の遺伝子解析が含まれる研究については「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、動物実験については施設の動物実験倫理規程など、それぞれの研究の種類に応じて求められる国や施設の指針・規程に従い、適宜施設の倫理審査委員会の審査や機関の長の承認を受けて研究を行った。

C. 研究結果

①食道がん等の予知医療開発：マイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルに基づく 6 種の判別アルゴリズムの誤判別率は、RF=0.31、PAM=0.34、PLR=0.17、SVM=0.31、DLDA=0.23、GPLS=0.29 とほぼ横並びであった。しかし DLDA を除くほとんどのアルゴリズムで、nonCR の誤判別率の方が明らかに高かった。一方、本年度開発した組織画像解析システムにより、これまで主観的であった血管密度等の指標を客観化することに成功した。放射線化学療法が行われた症例の解析から、腫瘍内血管密度および腫瘍内血管周囲径総

和は腫瘍の大きさおよびリンパ節転移とは独立した組織学的放射線化学療法感受性予知因子であることが明らかになった。

②AML の発症・悪性の分子経路の同定：昨年度明らかにした t(8:21)-AML と inv(16)-AML の遺伝子発現における共通性を基に、それぞれの白血病のキメラ転写因子が造血幹細胞の幹細胞性に与える影響を検討した。その結果、AML1-MTG8 に加えて CBF β -MYH11 も臍帯血 CD34⁺造血幹細胞の自己複製を促進すること、これらのキメラ転写因子の共通下流標的遺伝子の一つである HOXB2 が、造血幹細胞の自己複製を促進することを見出した。また、計 62 症例の小児 AML 臨床検体の遺伝子発現データを解析した結果、単球系 AML (FAB 分類 M4/M5、28 症例) には遺伝子発現によりはじめて分類される二つのサブグループがあり、大きく治療成績が異なる (3 年無病生存率 21% vs 64%) ことを見出した。

③新しい HNPCC のスクリーニング指標の開発：遺伝子検査を施行した 150 症例の 58 例 (38.7%) に病的変異が認められた。その内訳は、Amsterdam 診断基準合致例の 76.2% (32/42 例)、臨床診断基準 A・B 群 26.0% (13/50)、Variant 群 22.4% (13/58 例) であった。そこで発端者の初発がんの罹患年齢と、発端者を含む第一度近親内の HNPCC 関連腫瘍の発生数から、遺伝子検査で病的変異が認められる頻度を推測する分類法を考案したところ、遺伝子検査で病的変異が認められるリスクが非常に高い群 (70%以上) から低い群 (0%) まで 4 群に分類可能であった。例えば、発端者の初発がんの発症年齢が 40 代である群では 100% (4/4 例)、第一度近親内の HNPCC 関連腫瘍の発生数が 4 個あるいは 5 個以上の場合には 74% (17/23 例) に病的変異が認められた。一方、発端者の初発がんの発症が 50 才以上であり、第一度近親内の HNPCC 関連腫瘍の発生数が 3 個以内の症例では病的変異は 1 例も認められなかった。

④固形がんの免疫遺伝子・細胞複合療法の開発：H-2K^b 遺伝子を腫瘍に導入することにより、

移植片対宿主病(GVHD)を増悪することなく、皮下腫瘍の増殖を有意に抑制したが、この抑制効果は、遺伝子導入を行わない遠隔皮下腫瘍においても認められた。また、移植後マウスからCD4陽性およびCD8陽性T細胞の両者を除去すると抗腫瘍効果が全く消失するが、いずれか一方を除去しても有意な抗腫瘍効果を示した。実際の臨床病態に即したモデルとして、移植後の免疫系再構築時に腫瘍抗原を暴露しておいても、本複合療法により、免疫寛容が誘導されることなく有効な抗腫瘍効果が得られことを明らかにした。

D. 考察

①食道がんの予知医療開発：生検組織の発現プロファイルに基づく判別器の開発では、CR/nonCRの試料数を揃えなければ、誤判別率を正しく求められない可能性があるため、今後シミュレーション実験によりその点を確認する予定である。また、今回用いた方法において、どのような遺伝子が高頻度選ばれてくるのかを検討するとともに、t検定以外の遺伝子選択法や、判別器に入力する遺伝子数を変化させてみる必要がある。

また、今年度画像解析システムを確立できたことにより、客観的に生検組織における放射線感受性を検索可能になった。今後、多施設の症例を用いた前向き試験を試み、生検組織を用いた放射線化学療法感受性との相関を検討する予定である。

②AMLの発症・悪性の分子経路の同定：AML1-MTG8とCBFβ-MYH11はともにAML1-CBFβ転写因子複合体の機能を阻害するが、本研究により、幹細胞の自己複製促進がその共通作用であることが示唆され、新たな治療標的の同定につながると期待される。一方、小児単球系AMLに、遺伝子発現プロファイルから見出された予後の異なるサブグループは従来のFAB分類や染色体異常からは捕捉できなかったものであり、現在高リスク群にも低リスク群にも分類できない中間群として扱われている症例に対する個別化医療開発の基礎的情報を提供した。

③新しいHNPCCのスクリーニング指標の開発：Amsterdam診断基準合致例では76.2% (32/42例)と高率に変異が認められたが、今回の解析で認められた病的変異陽性例の45%(26/58例)はAmsterdam非合致例であった。Amsterdam診断基準に合致する症例は全大腸がんの0.2%程度と低率であることが報告されており、核家族化が進んだ現在の日本では、血縁者のがん罹患情報が得られないことが多い。今回作成した新たなHNPCCスクリーニング指標は多重多発がんの罹患歴を主とする第一度近親内の家系情報と、発端者の初発がんの罹患年齢のみで遺伝子変異の有無についてのリスク評価が可能であり、第二度近親以遠の家系情報が不明であったり、あるいは血縁者の数が少ない核家族の場合にも適応可能であることから、現代の日本人のHNPCCのよりの確な捕捉に適しているものと考えられる。今後はこの指標を用い前向き試験によりHNPCCの遺伝子検査を行ない、その有用性を評価する必要がある。

④固形がんの免疫遺伝子・細胞複合療法の開発：固形がんに対して、同種MHC遺伝子導入と同種造血幹細胞移植を複合することにより、GVHDを増悪することなく全身性の抗腫瘍免疫反応を増強できるという本治療法のrationaleを確立することができた。今後、本研究成果をもとに、同種MHC発現ベクターを用いてpreimmunizationを行うなどしてGVT効果をさらに促進する可能性、サイトカインを用いた遺伝子治療と同種造血幹細胞移植の複合療法、自家造血幹細胞移植との組み合わせ等の検討を行い、臨床に応用可能な治療法の開発・改良に進む。

E. 結論

①食道がん化学放射線療法の奏効性を予測する方法開発のため、既提供生検試料35例の発現プロファイルに対し6種類の判別アルゴリズムを比較し、誤判別率は0.17~0.34で大半がnon-CR群であることから、元のサンプル数の偏りを反映したと考えられた。腫瘍内血管密を客観的に測定

するための画像解析システムを確立し、食道がんの放射線治療奏効性と有意に相関する情報が得られることを示した。

②造血幹細胞自己複製の促進が、t(8;21)-AMLとinv(16)-AMLの発症に関わる共通分子経路である可能性を示した。小児単球系AMLにおいて、治療の層別化に有用な新たなサブタイプ分類の可能性を示した。

③多重がんの罹患歴を主とする第一度近親内の家系情報と、発端者の初発がんの罹患時年齢からHNPCCの遺伝子検査で病的変異が認められる確率を推定する新たな指標を考案した。本法は第二度近親以遠の家系情報が不明であったり、あるいは血縁者の数が少ない場合にも適応可能であることから、日本人のHNPCCスクリーニングへの有用性が期待される。

④腫瘍内同種MHC class I抗原遺伝子導入と同種造血幹細胞移植の複合により、GVHDを増悪することなく全身性の腫瘍特異的免疫反応が増強されること、CD4陽性およびCD8陽性CTLがエフェクターとして関与していること、移植後の免疫系再構築時に腫瘍抗原を暴露しておいても免疫寛容が誘導されることなく抗腫瘍効果が得られることを示した。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

別添5の通り。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

米国特許出願中(60/565, 526)：「膵がんに対するインターフェロン α 遺伝子治療」

2. 実用新案登録

無し。

3. その他

無し。

分子情報に基づく組織画像解析を基盤とする食道・頭頸部扁平上皮がんの予知医療の確立を目指した基礎的及び臨床的研究

分担研究者 落合淳志 国立がんセンター東病院臨床開発センター臨床腫瘍病理部 部長

研究要旨 組織画像解析を用いた食道がん・頭頸部がんの放射線感受性予知を生検組織で行うために、本年度は、腫瘍内血管密を客観的に測定するための画像解析システムの作成を試み、これまで主観的であった生検組織を用いた画像解析システムを客観化することに成功した。

A. 研究目的

食道がん、早期頭頸部がんは現在放射線化学療法ならびに放射線治療を第一治療とする場合が多く、放射線治療への感受性を治療前生検組織で判断することは予知医療の確立には必須と考えられる。組織画像解析を用いた食道がん・頭頸部がんの放射線感受性予知を生検組織で行うために、腫瘍内血管密度を客観的に測定するための画像解析システムを作成した。

B. 研究方法

本年度は腫瘍血管 Hot spot における腫瘍血管密度を客観的に測定するための組織学的画像解析システムを構築した。実際に放射線治療が行われた食道がん生検組織 5 1 症例によりこれまでに作成した生検組織における腫瘍血管の画像解析システムである、1) 腫瘍内血管密度、2) 腫瘍内血管周囲径総和、3) 血管から 150 μ m 離れた低酸素領域面積比と、今回作成した 4) Hot spot 腫瘍血管密度を測定し、放射線化学療法の治療反応性および予後との比較を行ったところ、放射線治療反応性は腫瘍血管密度および腫瘍内血管周囲径総和が大きい症例において有意に高いことが示された。

(倫理面への配慮)

ヒト生検組織を用いた検討であり、国立がんセンター倫理指針に準じ、患者情報の保護に十分な注意を払い研究を行った。特に今年度は画像解析システムの作成が研究の主体であるために実際のヒト切除材料はこれまでに既に匿名化され過去に腫瘍血管密度について検討された症例を用いて検討を行っており、個人情報には注意を払った。

C. 研究結果

本年度は、一般に悪性度と相関するとされる腫瘍内血管密を客観的に測定するための画像解析システムの作成を試み、これまで主観的であった生検組織を用いた画像解析システムを客観化することに成功した。また、放射線化学療法が行われた症例を用いて、生検組織血管画像解析と治療感受性、患者予後を比較検討し、腫瘍内血管密度および腫瘍内血管周囲径総和は腫瘍の大きさおよびリンパ節転移とは独立した組織学的放射線化学療法感受性予知因子であることが明らかになった。

b) 研究により得られた成果の今後の活用・提供
食道がん、早期頭頸部がんは現在放射線化学療法ならびに放射線治療を第一治療とする場合が多く、放射線治療への感受性を治療前生検組織で判断することは予知医療の確立には必須と考えら

れる。今年度の結果として画像解析システムができたことにより、客観的に生検組織における放射線感受性を検索可能になったと考えられ、今後、多施設の症例を用いた前向き試験を試み、生検組織を用いた放射線化学療法感受性との相関を検討する予定である。

c) 研究の実施経過

腫瘍血管 Hot spot における腫瘍血管密度を客観的に測定するための組織学的画像解析システムを構築した。Hot spot 腫瘍血管密度の計測法を用いて既存の方法と比較したところ、既存の方法により測定された Hot spot 法による血管密度測定法と強い相関があること、また再現性をもって測定可能であることが示された。実際に放射線治療が行われた食道がん生検組織 51 症例を用いて、これまでに作成した生検組織における腫瘍血管の画像解析システムである、1) 腫瘍内血管密度、2) 腫瘍内血管周囲径総和、3) 血管から 150 μm 離れた低酸素領域面積比と、今回作成した 4) Hot spot 腫瘍血管密度を測定し、血管画像と治療反応性および患者予後の比較を行ったところ、放射線治療反応性は腫瘍血管密度および腫瘍内血管周囲径総和が大きい症例において有意に高いことが示された。

D. 考察

食道がん、早期頭頸部がんは現在放射線化学療法ならびに放射線治療を第一治療とする場合が多く、放射線治療への感受性を治療前生検組織で判断することは予知医療の確立には必須であり、今年度の結果として画像解析システムができたことにより、客観的に生検組織における放射線感受性を検索可能になったと考えられ、今後、実際の症例の生検組織を用いて放射線化学療法感受性との相関を検討する予定である。

E. 結論

腫瘍内血管密度を客観的に測定するための画像解析システムの作成を試み、これまで主観的であつ

た生検組織を用いた画像解析システムを客観化することに成功した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 別添 5 のとおり。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

遺伝子発現データを基にした白血病等の発症・悪性化に関わる分子経路の同定と臨床応用の研究

分担研究者 市川 仁 国立がんセンター研究所 腫瘍発現解析プロジェクトリーダー

研究要旨 急性骨髄性白血病（AML）における t(8;21)、inv(16) 相関遺伝子の解析と、これらの染色体転座の産物 AML1-MTG8、CBFβ-MYH11 キメラ転写因子の下流標的遺伝子の解析を通して、これらのキメラ転写因子が造血幹細胞の自己複製を亢進させることを示した。さらに、この自己複製亢進に働く下流遺伝子の一つとして、HOXB2 を同定した。また、小児単球系 AML において、遺伝子発現により分類され、予後の異なる二つのサブタイプが存在することを見出した。

A. 研究目的

本研究は、急性骨髄性白血病（AML）の治療向上のため、臨床検体の網羅的遺伝子発現データから AML の発症・悪性化に働く分子経路を明らかにし、その知見を基に個々の症例に最も適した治療法を選択できる遺伝子診断法の開発を行うこと、新たな治療標的分子・分子経路を同定することを目的としている。

B. 研究方法

既に取得している 54 症例の小児 AML の遺伝子発現データ及び新たに解析する数十症例の遺伝子発現データから、染色体異常相関遺伝子及び予後相関遺伝子を統計学的手法により抽出するとともに、データベース検索等により発症・悪性化に関わる分子経路の推定を行う。発症・悪性化に関わることが予測された遺伝子について、造血幹細胞での強制発現、白血病細胞株での RNAi による発現抑制等を用いて機能解析を行う。機能的に重要だと判断された遺伝子については、マウスモデルを用いて白血病発症・悪性化への寄与を評価するとともに、遺伝子診断の有用性と治療標的としての可能性を検討する。

（倫理面への配慮）

AML 臨床検体の解析は、国立がんセンター倫理審査委員会の承認の下、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠して行う。

C. 研究成果

1) t(8;21)-AML と inv(16)-AML の発症に関わる分子経路の研究

昨年度までに明らかになった、t(8;21)-AML と inv(16)-AML の遺伝子発現における共通性と、AML1-MTG8 及び CBFβ-MYH11 の下流遺伝子解析の結果を基に、これらのキメラ転写因子が造血幹細胞の幹細胞性（多分化能及び自己複製能）に与える影響を検討した。その結果、これまで報告のあった AML1-MTG8 だけでなく、CBFβ-MYH11 も臍帯血 CD34⁺造血幹細胞の in vitro における自己複製を促進することを明らかにした。また、これらのキメラ転写因子の共通下流標的遺伝子の一つ HOXB2 が、やはり造血幹細胞の自己複製を促進することを見出した。

2) 小児単球系 AML の予後不良に関わる分子経路の研究

新規症例を加えた計 62 症例の小児 AML 臨床検体の遺伝子発現データを解析した結果、単球系 AML (FAB 分類 M4/M5、28 症例) には遺伝子発現に

より分類される二つのサブグループがあり、大きく治療成績が異なる（3年無病生存率 21% vs 64%）ことを見出した。このサブグループ間の違いは、FAB分類の他、11q23 転座、FLT3-ITD 等の既知の染色体異常・遺伝子変異とは無関係であり、新規のものと考えられた。

D. 考察

AML1-MTG8 と CBF β -MYH11 はともに AML1-CBF β 転写因子複合体の機能を阻害することから、白血病発症においても共通の作用を持つと予想されていたが、その実態は不明であった。本研究の成果は、幹細胞の自己複製促進がその共通作用である可能性を示唆している。この自己複製促進に働く分子経路の解明は、新たな治療標的の同定につながることで期待される。一方、小児単球系 AML に見出された予後の異なるサブグループの存在は、遺伝子発現解析により初めて見出されたものである。現在の小児 AML のリスク分類においては、これらの症例は高リスク群にも低リスク群にも分類できない中間群として扱われており、今後有用なリスク分類となる可能性がある。

E. 結論

造血幹細胞自己複製の促進が、t(8;21)-AML と inv(16)-AML の発症に関わる共通分子経路である可能性を示した。また、小児単球系 AML において、治療の層別化に有用な新たなサブタイプ分類の可能性を示した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

J. Zou, et al.: The oncogenic TLS-ERG fusion protein exerts different effects in hematopoietic cells and fibroblasts. *Mol. Cell. Biol.* 25, 6235-6246 (2005).

Y. Shen, et al.: Src utilizes Cas to suppress Fhl1 in order to promote nonanchored growth and migration of tumor cells. *Cancer Res.* 66, 1543-1552 (2006).

2. 学会発表

市川 仁他：遺伝子発現から見える t(8;21) 転座白血病と inv(16) 逆位白血病の共通性、第 64 回日本癌学会学術総会

道下正貴他：t(8;21) 及び inv(16) 急性骨髄性白血病における HOXB2 の役割、第 28 回日本分子生物学会年会

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

遺伝情報に基づく発がん高危険度群捕捉とその臨床応用

分担研究者 菅野康吉 栃木県立がんセンター研究所

がん遺伝子研究室・がん予防研究室 副主幹・医長・特別研究員

研究要旨 遺伝相談外来を受診し遺伝性非ポリポーシス大腸癌(HNPCC)が疑われて遺伝カウンセリングを実施した150症例について、MSH2、MLH1 および MSH6等のミスマッチ修復遺伝子の生殖細胞系列変異を解析したところ、58例(38.7%)にナンセンス変異、フレームシフト変異、スプライシング異常あるいはゲノム欠失等の病的変異が認められ、家系内の大腸癌罹患患者数に基づいて判定する従来の診断基準では見落とされる症例が多数存在することが明らかとなった。そこで発端者の初発癌の罹患年齢と、発端者を含む第一度近親内のHNPCC関連腫瘍の発生数から、遺伝子検査で病的変異が認められる頻度を推測する分類法を考案した。その結果、遺伝子検査で病的変異が認められるリスクが非常に高い群(70%以上)から低い群(0%)まで4群に分類可能であった。本法は発端者と第一度近親のがん罹患状況のみで遺伝子検査で変異が認められるリスクを推定可能であり、日本人を対象としたHNPCCの遺伝子診断の適応を判定するための指標としての有用性が期待される。

A. 研究目的

遺伝性非ポリポーシス大腸癌(HNPCC)は家系内に大腸癌、子宮体癌、卵巣癌、腎盂尿管癌、胃癌、脳腫瘍、皮膚癌等の多種類の固形腫瘍が発症する常染色体優性遺伝性疾患であり、全大腸癌の2-5%を占めるものと推測されている。HNPCCの原因遺伝子としてMSH2、MLH1 および MSH6等のミスマッチ修復遺伝子の生殖細胞系列変異が報告されている。HNPCCは若年発症、多重多発がんへの罹患等の特徴を示し、遺伝子検査によって発端者における二次がんの早期発見や家系内の未発症保因者のがん予防の推進が期待される。本研究では日本人のHNPCCの頻度を明らかにし、がん予防に有効な易罹患性評価の指標を作成することを目的とする。

B. 研究方法

遺伝相談外来受診例を対象とする多施設共同研究によりHNPCCの原因遺伝子であるMSH2、MLH1 および MSH6等のミスマッチ修復遺伝子の生殖細胞系列変異を解析した。

遺伝子検査の対象となる症例選択基準として下記の条件に合致する症例を対象として行った。

- 1) Amsterdam 診断基準合致例(家系内に3名以上の大腸癌の罹患を認め、その内の2名は他の1名に対して第一度近親であること、2世代におよぶ罹患、少なくとも1名は50才未満で発症していること)
- 2) 大腸癌研究会の臨床診断基準A群およびB群に合致する症例。
- 3) 上記の診断基準に合致しないVariant群として、下記の症例を対象とした。
① 大腸、胃、子宮体部、卵巣、膵臓等の多重多発癌の既往を有する症例

② 40才以下の若年発症大腸癌あるいは子宮体癌
③ 切除腫瘍組織の検査でマイクロサテライト不安定性(Microsatellite Instability: MSI)が認められた症例

4) 1)から3)の条件に合致する発端者にHNPCCの原因遺伝子の異常が確認された場合の20才以上の血縁者。ただし、未成年でも十分な判断能力を有し、すべての親権者の同意が得られている場合には適格とする。

遺伝子検査の方法としては、末梢血をピューロマイシン処理後に抽出したRNAからのRT-PCR/全塩基配列直接解析法によるスクリーニングと異常が認められた場合にゲノムDNAよりPCR/直接塩基配列解析法により変異を確定した。またゲノム欠失あるいは重複等の検出をMultiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)法とLD-PCR法を併用して行った。遺伝子検査の結果と臨床情報から遺伝子検査で変異が認められるリスクを解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は『ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針』、『遺伝学的検査に関するガイドライン』等を遵守して行う。本研究は原則として遺伝性腫瘍を対象とする遺伝相談外来を実施している医療機関、臨床遺伝専門医あるいは遺伝性腫瘍の診療に十分な経験を有する医師によって行われ、遺伝学的検査の実施に際しては検査の前後に遺伝カウンセリングを実施し、説明と同意を取得している。

C. 研究結果

遺伝相談外来を受診し、遺伝性非ポリポーシス大腸癌(HNPCC)が疑われて遺伝カウンセリングを実施した150症例について、MSH2, MLH1 およびMSH6等のミスマッチ修復遺伝子の生殖細胞系列変異を解析したところ、58例(38.7%)にナンセンス変異、フレームシフト変異、スプライシング異常あるいはゲノム欠失等の病的変異が認められた。このうち、Amsterdam診断基準合致例では病的

変異が76.2%(32/42例)に認められたのに対して、適格条件が比較的緩やかな臨床診断基準A群あるいはB群を用いた場合でも26.0%(13/50)、Variant群でも22.4%(13/58例)の症例で病的変異が認められた。発端者の初発癌の罹患年齢と、発端者を含む第一度近親内のHNPCC関連腫瘍の発生数から、遺伝子検査で病的変異が認められる頻度を推測する分類法を考案した。すなわち、発端者の初発癌の罹患年齢を10才代から50代以上まで10才刻みに5段階に分類し、発端者およびその第一度近親内の発生したHNPCC関連腫瘍の個数を1個から5個以上まで5段階に分類すると、全部で25通りの組み合わせが作成される。これまでに登録された症例をこの組み合わせに従って分類したところ、遺伝子検査で病的変異が認められるリスクが非常に高い群(70%以上)から低い群(0%)まで4群に分類可能であった。例えば、最もリスクの高い群は、発端者の初発癌の発症年齢が40代であり、第一度近親内のHNPCC関連腫瘍の発生数が4個あるいは5個以上の場合であり、それぞれに該当する症例のうち、前者では100%(4/4例)、後者では74%(17/23例)に病的変異が認められた。一方、発端者の初発癌の発症が50才以上であり、第一度近親内のHNPCC関連腫瘍の発生数が3個以内の症例では病的変異は1例も認められなかった。

D. 考察

従来用いられているHNPCCの診断基準のうち、最も厳しい診断基準と考えられるAmsterdam診断基準では家系内のHNPCC関連腫瘍の罹患者数、初発大腸癌発症年齢、二世代におよぶ癌罹患歴の有無等の要件を満足することが必要とされている。しかし、この条件に合致する大腸癌症例は全大腸癌の0.2%程度と低率であることが報告されている。核家族化が進んだ現在の日本では、血縁者の癌罹患情報が得られないことが多く、従来の診断基準に合致しない症例が多数存在するものと推測される。実際、Amsterdam診断基準合致例では

76.2% (32/42 例) と高率に変異が認められたが、これは今回の解析で認められた病的変異陽性例の55%(32/58 例)を占めるに過ぎず、残りの45%はAmsterdam 診断基準に合致しない症例に認められたものであった。特に従来の診断基準に合致しないVariant 群においても22.4%(13/58 例)の症例で病的変異が認められたことから、HNPCCの原因遺伝子変異が検出されるリスクを判定するための、従来の診断基準とは異なる新しい指標が必要と考えられる。今回作成した分類法は多重多発癌の罹患歴を主とする第一度近親内の家系情報と、発端者の初発がんの罹患年齢のみで遺伝子変異の有無についてのリスク評価が可能であり、第二度近親以遠の家系情報が不明であったり、あるいは血縁者の数が少ない核家族の場合にも適応可能であることから、日本人のHNPCCの診断に適しているものと考えられる。遺伝性腫瘍の遺伝子検査は非常に高額な検査であり、臨床応用を考えた場合、遺伝カウンセリングで病歴と家族歴を詳細に検討し、遺伝子検査の適応を正確に評価することが重要と考えられる。今後はこの指標を用いてProspective studyによりHNPCCの遺伝子検査を行ない、その有用性を評価する予定である。

E. 結論

多重多発癌への罹患歴を主とする第一度近親内の家系情報と、発端者の初発がんの罹患時年齢からHNPCCの遺伝子検査で病的変異が認められる確率を推定する指標を考案した。本法は第二度近親以遠の家系情報が不明であったり、あるいは血縁者の数が少ない場合にも適応可能であることから、日本人のHNPCC診断への有用性が期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Iwata T, Sugano K, et al., Frequent immune responses to a cancer/testis antigen, CAGE, in patients with microsatellite

instability-positive endometrial cancer. Clin Cancer Res, 11(10): 3949-57, 2005

Chihara Y, Sugano K et al., Loss of blood group A antigen expression in bladder cancer caused by allelic loss and/or methylation of the ABO gene. Lab Invest, 85(7): 895-907, 2005

Aoki M, Sugano K et al., A genetic variant in the gene encoding the stress70 protein chaperone family member STCH is associated with gastric cancer in the Japanese population. Biochem Biophys Res Commun, 335: 566-74, 2005.

2. 学会発表

権田憲士、菅野康吉： Multiplex

Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法によるMSH2およびMLH1 遺伝子のゲノム欠失および重複の検出 第8回東北家族性腫瘍研究会 学術集会 平成17年1月29日 仙台国際センター (仙台)

菅野康吉：『遺伝性腫瘍の診療と研究』（講演） 第8回東北家族性腫瘍研究会学術集会 平成17年1月29日 仙台国際センター (仙台)

菅野康吉：急性間欠性ポルフィリン症の発症前診断 第29回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 平成17年5月28日 はまぎんホール(横浜)

菅野康吉：成人に発症する癌の易罹患性検査（ランチョンセミナー） 第29回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 平成17年5月29日 はまぎんホール (横浜)

権田憲士、菅野康吉、他： Multiplex

Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法によるMSH2およびMLH1 遺伝子のゲノム欠失および重複の検出 第11回日本家族性腫瘍学会学術集会 平成17年6月24日 コラッセ福島 (福島)

Sugano K et al. : Multiinstitutional study for hereditary nonpolyposis colorectal cancer

based on genetic counseling clinic in Japan.
International Society for Gastrointestinal
Hereditary Tumours Hilton Newcastle Gateshead
(Newcastle)

菅野康吉、千原良友、他：膀胱がんにおける A 型
血液型抗原の発現と ABO 遺伝子プロモーター領域
のメチル化の検討 第 25 回日本分子腫瘍マーカ
ー研究会 平成 17 年 9 月 13 日 北海道厚生年金
会館 (札幌)

権田憲士、菅野康吉、他：アムステルダム基準に
合致する遺伝性非ポリポーシス大腸癌症例にお
ける MSH2 および MLH1 遺伝子のゲノム構造異常の
解析 (ポスター) 第 64 回日本癌学会学術総会
平成 17 年 9 月 14 日 札幌プリンスホテル国際館
パミール (札幌)

菅野康吉、他：癌の遺伝カウンセリング実施施設
の連携による遺伝性非ポリポーシス大腸癌
(HNPCC) の遺伝子診断に関する多施設共同研究
(ワークショップ) 第 64 回日本癌学会学術総
会 平成 17 年 9 月 15 日 札幌市教育文化会館 (札
幌)

前田耕史、菅野康吉：Allelic imbalance に対する
遺伝子検査においてゲノム DNA 量が検査精度に及
ぼす影響 (ポスター) 第 64 回日本癌学会学術
総会 平成 17 年 9 月 15 日 札幌プリンスホテル
国際館パミール (札幌)

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

固形がんに対する免疫遺伝子・細胞複合療法の臨床導入を実現する研究

分担研究者 青木一教 国立がんセンター研究所がん宿主免疫研究室 室長

研究要旨 同種主要組織適合抗原遺伝子の腫瘍への導入による自然免疫及び獲得免疫の強化と、同種造血幹細胞移植を併用して、ドナー免疫系による腫瘍特異的免疫反応を高める免疫遺伝子・細胞複合療法の開発を行う。平成17年度には、本複合療法が、臨床病態に即した腫瘍モデルにおいて相乗的抗腫瘍効果を誘導し、全身性の腫瘍特異的免疫反応を増強することを明らかとした。

A. 研究目的

固形がんに対する免疫治療として、同種主要組織適合抗原 (major histocompatibility antigen: MHC) やサイトカイン遺伝子を腫瘍に導入することにより、宿主免疫系による腫瘍抗原等の認識を強化させる遺伝子治療の臨床開発が進んでいる。中でも、同種 MHC 遺伝子を腫瘍局所に導入・発現させて、アロ細胞障害性 T 細胞 (CTL) による拒絶反応を誘導、併せて局所での腫瘍抗原の認識を促進する遺伝子治療は、臨床第Ⅲ相試験（悪性黒色腫）まで進んでいる数少ない遺伝子治療戦略である。しかし固形がんにおいては、局所での免疫寛容のために、臨床上有効な抗腫瘍免疫反応の誘導に至らないことが多い。そこで、本研究では、このような免疫治療抵抗性の機序を打破する戦略として、同種造血幹細胞移植を併用してドナー免疫系による抗腫瘍効果を高める免疫遺伝子・細胞複合療法の開発を目的とし、臨床病態に即した腫瘍モデルを用いて、効果と安全性に関する前臨床研究を行った。近年進歩著しい遺伝子導入・発現制御などの生命科学技術を、より優れたがん診療の実現に結びつけることは、最先端の厚労科学の重要課題であると考えられる。

B. 研究方法

昨年度に確立した、DBA/2 マウスをドナー、BALB/c マウスをレシピエントとする造血幹細胞移植モデルを用いた。遠隔転移のモデルとして、移植したマウスの両足に CT26 大腸がん細胞を移植し、一方の皮下腫瘍に対してのみ、同種 MHC class I 抗原である H-2K^b 発現プラスミドをリポソーム (DMRIE/DOPE) と混合して直接注入し、同種造血幹細胞移植と同種 MHC 遺伝子導入の複合療法の固形がんに対する全身性の抗腫瘍効果を検証した。また、抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体、抗アシアロ GM1 抗体を用いて、抗腫瘍免疫反応を担うエフェクターを同定した。

(倫理面への配慮)

国立がんセンター研究所の動物実験倫理規定に基づいて、動物実験を行った。動物愛護に配慮して、研究の目的に必要な動物数のみを実験に使い、実験終了後は速やかに苦痛軽減の措置をとった。

C. 研究結果

1) H-2K^b 遺伝子を腫瘍に導入することにより、移植片対宿主病 (GVHD) を増悪することなく、皮下腫瘍の増殖を有意に抑制できることを確認した。さらに、この抑制効果は、遺伝子導入を行わない遠隔皮下腫瘍においても認められることを示し、

本複合療法が全身性の抗腫瘍免疫反応を誘導することを明らかとした。

2) また、レシピエントマウスから CD4 陽性 T 細胞あるいは CD8 陽性 T 細胞等を除去した後、皮下腫瘍に H-2K^b 遺伝子導入したところ、CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞の両者を除去すると抗腫瘍効果が全く消失するが、いずれか一方を除去しても有意な抗腫瘍効果が認められることから、本複合療法のエフェクターとして、CD4 陽性および CD8 陽性 CTL の両者が関与していることを明らかとした。

3) さらに、実際の臨床病態に即したモデルとして、移植後の免疫系再構築時に腫瘍抗原を暴露しておいても、本複合療法により、免疫寛容が誘導されることなく有効な抗腫瘍効果が得られことを明らかとした。

4) 現在、最終的な本複合療法の臨床開発を目指し、まずは段階的な臨床試験として、同種 MHC 遺伝子治療単独の臨床導入に関して臨床家と協議を行い、第 I 相臨床プロトコルを策定している。

D. 考察

本研究結果により、固形がんに対して、同種 MHC 遺伝子導入と同種造血幹細胞移植を複合することにより、移植片対宿主反応を増悪することなく全身性の抗腫瘍免疫反応を増強できるという、本治療法の rationale を確認することができた。今後、本研究結果をもとに、同種 MHC 発現ベクターを用いて preimmunization を行うなどして GVT 効果をさらに促進することが可能であるか検討する、サイトカインを用いた遺伝子治療と同種造血幹細胞移植の複合療法の検討を行うなど、臨床に応用可能な治療法の開発・改良に取り組む。一方、実際の臨床において、同種造血幹細胞移植は GVHD 発症など重篤な有害事象を引き起こす。そこで、担がん個体の抑制性免疫を破壊し免疫系を再設定する、アジュバント効果を引き出す、免疫系が再構築される際に腫瘍抗原を暴露することにより腫瘍抗原反応性の T 細胞の増殖を

促す (homeostatic lymphoproliferation)、といった機序により抗腫瘍効果を高めることが期待できる自家造血幹細胞移植と、同種 MHC 遺伝子導入との複合療法の開発研究を行う必要があると考える。

E. 結論

腫瘍内同種 MHC 遺伝子導入と同種造血幹細胞移植の複合により、GVHD を増悪することなく、全身性の腫瘍特異的免疫反応を増強することを明らかとした。今後、標準的治療に抵抗性を示す固形がんに対して、最終的な本複合療法の臨床応用を目指し、段階的な臨床試験のプロトコルとして、同種 MHC 遺伝子治療単独の臨床導入を、臨床家と協議と続け積極的に進めていく。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. M. Ohashi, K. Yoshida, M. Kushida, Y. Miura, S. Ohnami, Y. Ikarashi, Y. Kitade, T. Yoshida and K. Aoki. Adenovirus-mediated interferon α gene transfer induces regional direct cytotoxicity and possible systemic immunity against pancreatic cancer. *Br. J. Cancer* 93; 441-449, 2005.

2. M. Ohashi, A. Kobayashi, H. Hara, Y. Miura, K. Yoshida, M. Kushida, Y. Ikarashi, M. Mandai, M. Kitajima, T. Yoshida and K. Aoki. Allogeneic major histocompatibility complex gene transfer enhances antitumor activity of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation without exacerbating graft-versus-host disease. *Clin. Cancer Res.* (in press)

3. 大浪俊平、青木一教、吉田輝彦、ras 遺伝子、膵癌・胆道癌の診断と治療、32-35、2006.

4. 小林昭彦、青木一教、がん細胞と宿主免疫応答機構、総合臨床、55; 425-429, 2006.

2. 学会発表

1. Kazunori Aoki, Masaki Ohashi, Miwa Kushida, Kimiko Yoshida, Masaki Mandai, Gary J Nabel, Teruhiko Yoshida. Combination of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and allogeneic MHC gene transfer against solid cancers. *The American Society of Gene Therapy's 8th Annual Meeting.*

2. Masaki Ohashi, Miwa Kushida, Kimiko Yoshida, Masaki Mandai, Teruhiko Yoshida, Kazunori Aoki. Combination of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and allogeneic MHC gene transfer against solid cancers. The 11th Annual Meeting, The Japan Society of Gene Therapy.

3. 三浦慶昭、畑中一映、吉田貴三子、大浪俊平、吉田輝彦、浅香正博、青木一教、キャプシド蛋白質改変アデノウイルス・ライブラリーを用いた、がん特異的アデノウイルスベクターの開発、第64回日本癌学会学術総会

4. 大橋真記、櫛田美和、三浦慶昭、吉田貴三子、万代昌紀、吉田輝彦、青木一教、同種主要組織適合抗原遺伝子導入と同種造血幹細胞移植の相乗的抗腫瘍効果、第64回日本癌学会学術総会

5. 吉田貴三子、大橋真記、櫛田美和、大浪俊平、吉田輝彦、青木一教、腫瘍内インターフェロン α 遺伝子導入の、遠隔転移巣に対する抗腫瘍効果の検討、第64回日本癌学会学術総会

6. 大橋真記、吉田貴三子、大浪俊平、吉田輝彦、青木一教、膵がんに対するインターフェロン-a 遺伝子導入は、直接的細胞障害効果と免疫学的抗腫瘍効果を誘導する、日本外科学会第106回定期学術集会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

米国特許出願中(60/565, 526)

「膵がんに対するインターフェロン α 遺伝子治療」

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

○研究成果の刊行に関する一覧表

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
	Otani T, Iwasaki M, Hanaoka T, Kobayashi M, Ishihara J, Natsukawa S, Shaura K, Koizumi Y, Kasuga Y, Yoshimura K, Yoshida T, Tsugane S.	Folate, Vitamin B6, Vitamin B12, Vitamin B2 Intake, Genetic Polymorphisms of Related Enzymes, and Risk of Colorectal Cancer in a Hospital-based Case-control Study in Japan.	Nutrition and Cancer	53	42-50	2005
	Morikawa S, Sakiyama T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda A, Kurane I, Maeno G, Kimura J, Hirama C, Yoshida T, Asahi-Ozaki Y, Sata T, Kurata T, Kojima A.	An attenuated LC16m8 smallpox vaccine: analysis of full-genome sequence and induction of immune protection.	J Virol	78(18)	11873-91	2005
	Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Shibata T, Sakiyama T, Yoshida T, Tamura T.	Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer.	J Clin Oncol	23(28)	6829-37	2005
	Nishigaki M, Aoyagi K, Danjoh I, Fukaya M, Yanagihara K, Sakamoto H, Yoshida T, Sasaki H.	Discovery of aberrant expression of R-RAS by cancer-linked DNA hypomethylation in gastric cancer using microarrays.	Cancer Res	65(6)	2115-24	2005
	Liu Y, Yoshimura K, Hanaoka T, Ohnami S, Ohnami S, Kohno T, Yoshida T, Sakamoto H, Sobue T, Tsugane S.	Association of habitual smoking and drinking with single nucleotide polymorphism (SNP) in 40 candidate genes: data from random population-based Japanese samples.	J Hum Genet	50	62-8	2005
	Kobayashi, Y., Yokose, T., Kawamura, K, Iwasaki, S., Murata, Y., Onuma, S., Hasebe, T., Nagai, K., Sasaki, S., Ochiai, A.	Cytological factors associated with prognosis with peripheral adenocarcinoma of the lung or less in diameter.	Cancer Cytopathol.	105	44-51	2005
	Shiono, S., Ishii, G., Nagai, K., Yoshida, J., Nishimura, M., Murata, Y., Tsuta, K., Nishiwaki, Y., Kodama, T., Ochiai, A.	Histopathological prognostic factors in resected colorectal lung metastases.	Annals Thoracic Surgery	79	278-282	2005
	Sangai, T., Ishii, G., Kodama, K., Miyamoto, S., Aoyagi, Y., Itoh, T., Magae, J., Nagashima, T., Miyazaki, M., Ochiai, A.	Effect of differences in cancer cells and tumor growth sites on recruiting bone marrow-derived endothelial cells and myofibroblasts in cancer-induced stroma	Int J Cancer	115	885-892	2005
	Shiono, S., Ishii, G., Nagai, K., Yoshida, J., Nishimura, M., Murata, Y., Tsuta, K., Nitadori, J., Kodama, T., Ochiai, A.	Predictive factors for local recurrence of resected colorectal lung metastases.	Ann Thorac Surg	80	1040-5	2005
	Hasebe, T., Sasaki, S., Imoto, S., Ochiai, A.	Primary tumor-vessel tumor-nodal tumor classification for patients with invasive ductal carcinoma of the breast- a prospective study.	Br J Cancer	95	847-856	2005
	Takahashi, Y., Kondo K., Hirose T., Nakagawa H., Tsuyuguchi M., Hashimoto M., Sano T., Ochiai, A., Monden Y.	Microsatellite instability and protein expression of the DNA mismatch repair gene, hMLH1, of lung cancer in chromate-exposed workers.	Mol. Carcinogenesis	42	150-158	2005
	Tsuta, K., Ishii, G., Kim, E., Shiono, S., Nishiwaki, Y., Endoh, Y., Kodama, T., Nagai, K., Ochiai, A.	Primary lung adenocarcinoma with massive lymphocytes infiltration.	Am J Clin Pathol	28	868-874	2005
	Kanomata, N., Yokose, T., Kamijo, T., Yonou, H., Hasebe, T., Itano, N., Kimata, K., Ochiai, A.	Hyaluronan synthase expression in pleural malignant mesothelioma.	Virchows Arch.	446	246-250	2005
	Ishii, G., Sangai, T., Sugiyama K, Ito, T., Hasebe, T., Endoh, Y, Magae J, Ochiai, A.	In vivo characterization of bone marrow-derived fibroblasts recruited into fibrotic lesions.	Stem cells	23	699-706	2005

○研究成果の刊行に関する一覧表

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
	Ishii G, Sangai T, Ito T, Hasebe T, Endoh Y, Sasaki H, Harigaya K, <u>Ochiai A.</u>	In vivo and in vitro characterization of human fibroblasts recruited selectively into human cancer stroma.	Int J Cancer	117	212-20	2005
	Kodama, K., Ishii, G., Miyamoto, S., Goya, M., Zhang, S., Sangai, T., Yoshikawa, T., Hasebe, T., Hitomi, Y.I, Izumi, K., <u>Ochiai, A.</u>	Lamina 5 expression protects against anoikis at aerogenous spread and lepidic growth of human lung adenocarcinoma.	Int J Cancer	116	876-884	2005
	Kanomata, N., Nakahara, R., Oda, T., Aoyagi, Y., Ishii, G., Yokose, T., Hasebe, T., Nagai, K., Yokozaki, H., <u>Ochiai, A.</u>	Expression and localization of mRNAs for matrix metalloproteinases and their inhibitors in mixed bronchioloalveolar carcinomas with invasive components.	Mod Pathol	18	828-837	2005
	Miyamoto, S., Nakamura, M., Shitara, K., Nakamura, K., Ohki, Y., Ishii, G., Goya, M., Sangai, T., Maeda, H., Zhang, S-C, Chiba, T., <u>Ochiai, A.</u>	Blockage of paracrine supply of Insulin-like growth factors using neutralizing antibodies suppresses the liver metastasis of human colorectal cancers.	Clin Cancer Res.	11	3494-3502	2005
	Hasebe, T., Konishi, M., Iwasaki, M., Endoh, Y., Nakagohri, T., Takahashi, S., Kinoshita, T., <u>Ochiai, A.</u>	Histological characteristics of tumor cells and stromal cells in vessels and lymph nodes are important prognostic parameters of extra-hepatic bile duct carcinoma: a prospective study.	Human Pathol	36	655-664	2005
	Lu J., Imamura, K., Nomura, S., Mafune, K., Nakajima, A., Kadowaki, T., Kubota, N., Terauchi, Y., Ishii, G., <u>Ochiai, A.</u> , Esumi, H., Kaminishi, M.	Chemopreventive Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor {gamma} on Gastric Carcinogenesis in Mice.	Cancer Res	65	4769-74	2005
	Kobayashi, A., Hasebe, T., Endo, Y., Sasaki, S., Konishi, M., Sugito, M., Kinoshita, T., Saito, N., <u>Ochiai, A.</u>	Primary gastric choriocarcinoma: two case reports and a pooled analysis of 53 patients.	Gastric Cancer	8	178-185	2005
	Sano, Y., Maeda, N., Kanzaki, A., Fujii, T., <u>Ochiai, A.</u> , Takenoshita, S., Takebayashi, Y.	Angiogenesis in colon hyperplastic polyp.	Cancer Lett	218	223-8	2005
	Shimizu, K., Ishii, G., Nagai, K., Yokose, T., Ishizawa, K., Tamaru, J., Yoshida, J., Nishimura, M., <u>Ochiai, A.</u>	Extranodal Marginal Zone B-cell Lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT lymphoma) in the thymus: Report of four cases.	Jpn J Clin Oncol	35	412-6	2005
	Yano, T., Sano, Y., Iwasaki, J., Fu K-I., Yoshino, T., Kato, S., Mera, K., <u>Ochiai, A.</u> , Fujii, T., Yoshida, S.	Distribution and prevalence of colorectal hyperplastic polyps using magnifying pan-mucosal chromoendoscopy and its relationship with synchronous colorectal cancer: Prospective study	J Gastroenterol Hepathol	20	1572-1577	2005
	Wada, N., Imoto, S., Yamauchi, C., Hasebe, T., <u>Ochiai, A.</u> , Ebihara, S.	Correlation between concordance of tracers, order of harvest, and presence of metastases in sentinel lymph nodes with breast cancer.	Ann Surg Oncol.	12	497-503	2005
	Nakamura, M., Miyamoto, S., Maeda, H., Ishii, G., Hasebe, T., Chiba, T., Asaka, M., <u>Ochiai, A.</u>	Matrix metalloproteinase-7 degrades all insulin-like growth factor binding proteins and facilitates insulin-like growth factor bioavailability.	Biochem Biophys Res Commun.	333	1011-6	2005
	Nagashima F, Boku N, Ohtsu A, Yoshida S, Hasebe T, <u>Ochiai A.</u> , Sakata Y, Saito H, Miyata Y, Hyodo I, Ando M.	Biological Markers as a Predictor for Response and Prognosis of Unresectable Gastric Cancer Patients Treated with Irinotecan and Cisplatin.	Jpn J Clin Oncol	35	714-719	2005
	Mitsunaga S, Hasebe T, Iwasaki M., Kinoshita T., <u>Ochiai A.</u> , Shimizu N.	Important prognostic histological parameters for patients with invasive ductal carcinoma of the pancreas.	Cancer Science	96	858-65	2005