

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18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉田 輝彦

平成19（2007）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		
市川 仁	-----	9
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	-----	11
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、かつ実際的な診療プロトコルを開拓・検証することにある。①治療前生検組織の遺伝子発現情報に基づく食道がん化学放射線療法の前向き臨床研究に進み、奏効性を指標とした症例登録1年目時点での予備的解析に基づく判別器構築では、優れた予測性能が示唆された。開発を進めてきた組織画像の客観的解析システムによる放射線感受性予知を複数の他施設で行われた放射線治療前生検組織を用いて検証し、腫瘍内血管密度指標の評価による放射線治療感受性予知の可能性を示した。②白血病キメラ転写因子 AML1-MTG8、CBF β -MYH11 が多くの造血幹細胞特異的遺伝子の発現を亢進させること、特に自己複製促進能を有する HOXB2 の転写を直接制御していることを示した。小児単球系 AML の遺伝子発現には発症年齢依存的な差異が見られること、高年齢型プロファイルを示す症例群において MLL 遺伝子転座を有する場合の予後が極めて不良であることを見出した。③マイクロサテライト不安定性陽性の散発性大腸がんの原因と考えられる MLH1 遺伝子プロモーター領域のメチル化と、同領域周辺の遺伝子型あるいはハプロタイプが相関を示すことを見出した。④免疫遺伝子治療と造血幹細胞移植の複合療法の開発を進め、自家造血幹細胞移植マウスモデルにおいて、移植腫瘍に対する同種主要組織適合抗原遺伝子導入が明らかな有害事象を示すことなく全身性の腫瘍特異的免疫反応を誘導できることを明らかにした。

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

な臨床的特性を規定する因子を分子レベルで同定し、その知見に基づくがんの診断・治療の標的を探索すると共に、実際的な診療法を開拓・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予知診断の確立を目指す。現在の食道がん手術療法と放射線化学療法（CRT）の

A. 研究目的

本研究の目的は、治療応答性や予後等の重要

5年生存率はほぼ同率であるが、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。②急性骨髄性白血病（AML）臨床試料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する。③多重がんとの関連が疑われるマイクロサテライト不安定性

（MSI）陽性の散発性大腸がんにおいて、メチル化異常を生じやすい宿主の遺伝的素因を同定するため、MLH1 遺伝子プロモーター領域の異常メチル化と相関を示す遺伝子多型あるいはハプロタイプを探索する。④固形がんに対する安全性と有効性に優れた新しい免疫療法の開発を目的として、自家造血幹細胞移植と、免疫遺伝子治療の複合療法の検討を行う。自家造血幹細胞移植は、GVHD 発症の恐れがなく、かつ、担がん個体の抑制性免疫を破壊し免疫系を再設定する、あるいは移植前処置後の免疫系再構築における homeostatic proliferation の際に腫瘍抗原に暴露されることにより腫瘍特異的T細胞の増殖を促す等の免疫機序により抗腫瘍効果を高めることが期待できる。免疫遺伝子治療との複合により、固形がんに対して有効な治療法の基礎開発を行う。

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：前年度までのCRT 施行前の食道がん生検組織の既提供試料 35 例を用いた探索的発現プロファイル解析から有用な予知医療開発の可能性が示唆されたので、検証及び新たな発展的解析も盛り込んだ臨床試験を国立がんセンター東病院にて立ち上げた。マイクロアレイは先行する既提供試料の解析と合わせた Affymetrix GeneChip HG-U95Av2 に加えて、最新のアレイである HG-U133Plus2.0 も

用いることとし、生検後に手術が選択された症例の解析や、laser microdissection (LMD) によるがんと間質の比較解析も一部の症例で追加施行するプロトコールとした。集積中の症例に対して、前年度までの検討で確立した判別器構築・検証アルゴリズムを用いて予備的な解析を行った。

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については、昨年度までに開発した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の再現性を、多施設で検討した。1991年から1996年の間に愛知県がんセンター、慶應義塾大学医学部附属病院、大阪成人病センターにおいて放射線治療を受けた120例の声門扁平上皮がん患者治療前生検組織を用い、総血管密度 (TN/TA) および総血管周囲径 (TP/TA) を画像解析し、無増悪生存期間との相関を検索した。Cut off 値は国立がんセンター東病院における55例の早期喉頭癌症例の解析から決めた TN/TA:30/mm²、TP/TA: 2mm/mm² を採用した。Kaplan-Meier 法による再発までの経時的な変化を検討した。

②AMLの発症・悪性化の分子経路の同定：百数十症例の小児AML臨床検体のマイクロアレイ解析データから、t(8;21)とinv(16)の染色体異常関連遺伝子及び予後関連遺伝子を統計学的手法により抽出し、発症・悪性化に関わる分子経路の推定を行った。遺伝子発現プロファイルにより定義される新たなサブタイプを探索し、リスク分類としての有用性を検討した。発症・悪性化に関わると予測された遺伝子について機能解析を行った。

③散発性大腸がんの原因遺伝子のメチル化異常を規定する遺伝素因探索：散発性大腸がん210例についてMSIとMLH1遺伝子のプロモーター領域のメチル化を解析し、MLH1遺伝子領域1.3Mbpに位置する5カ所のマイクロサテライト多型を用いて遺伝子型を解析した。次に、

同遺伝子から上流約 600kb の領域に存在する 9 カ所の 1 塩基多型 (SNP) の遺伝子型とハプロタイプを解析し、メチル化の有無との相関解析を行なった。

④自家造血幹細胞移植と同種 MHC 遺伝子治療の複合療法開発: BALB/c マウス (H-2d) に致死量 (9Gy) の放射線を照射後、BALB/c マウスの骨髄細胞と T 細胞を静注する自家骨髄移植モデルを用いた。骨髄移植したマウスの両脚に同系の CT26 大腸がん細胞を移植し、その片方に同種 MHC class I 抗原である H-2Kb 発現プラスミドをリポソームと混合して直接注入、全身性の抗腫瘍効果を検討した。マウスの脾細胞を ELISPOT や intracellular cytokine staining により解析し、抗腫瘍免疫反応のエフェクター細胞を同定した。

(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新たに立ち上げた食道がん CRT の奏効性及び予後を治療前生検組織の遺伝子発現解析による予知する臨床研究は、1 年目で CRT 施行 43 症例、手術症例 18 例の登録を達成した。CRT の奏効率は CR 27 例 (61%)、nonCR 17 例 (39%) であった。前年度までの検討の結果、CR と nonCR を予測する判別器構築において、両クラスの症例数を揃えることの重要性が示されたので、17 例ずつを選んで前年度選択した 5 アルゴリズムによる判別器の交叉検証を行ったところ、CR は 70-100%、nonCR は 65-70% の正解率を得た。また、食道がん生検組織に対する LMD 検体からの RNA 抽出・マイクロアレイ解析のプロトコ

ルを確立し、3mm 角凍結標本の 9mm 切片 5 枚以上があれば十分な質のデータ取得を可能にした。

腫瘍血管画像解析システムについては、その有用性を国立がんセンター東病院以外の複数施設の治療前検体を用いて検証した。多変量解析により放射線療法感受性に相関する因子を調べたところ、TP/TA ならびに T stage が独立した感受性予知因子である事が示された。Kaplan-Meier 法による再発までの経時的な変化を検討し、TP/TA の値ならびに T1/T2 での分類法により、有意に放射線治療後の再発予測が可能になる事が示された。

②t(8;21)の AML1-MTG8、inv(16)の CBF β -MYH11 キメラ転写因子が多く発現する造血幹細胞特異的遺伝子、特に造血幹細胞ニッチとの相互作用に働く遺伝子群の発現を亢進させること、造血幹細胞特異的に発現する HOX ファミリー遺伝子である HOXB2 遺伝子プロモーターには直接結合して作用することを明らかにした。また、前年度までに明らかにした、小児単球系 AML

(t(8;21)症例、inv(16)症例を除く FAB 分類 M4/M5 症例) に予後の異なるサブクラスが存在するとの知見を検体数を増やして検証を進めた。40 症例の解析から、遺伝子発現プロファイルにより低年齢型、中間年齢型、高年齢型の 3 サブタイプに分類できること、高年齢型は予後不良であることを明らかにした。さらに、小児単球系 AML の約半数に見られる MLL 遺伝子転座は、高年齢型症例においてのみ異なる遺伝子発現パターンと相関し、予後は極めて不良であることを見出した。

③MLH1 遺伝子の 0.6Mbp 以内の SNP の一つがアレルモデルでメチル化と有意な相関を示した (P=0.007)。性別や腫瘍の局在部位等のメチル化と有意な相関を示す臨床的因子を加えた多変量解析を行なったところ、この多型をホモ接合で持つ個体は他の遺伝子型を持つ個体に対して、メチル化の有無のオッズ比は 2.87 であ

った。周辺の SNP を加えた関連解析の結果、メチル化と有意な相関を示すハプロタイプを見出した。

④BALB/c マウスに致死量の放射線照射後、自家骨髄を静注すると、放射線を照射せずに同量の T 細胞のみを投与した群と比べて、明らかに BALB/c 由来大腸がん CT26 細胞の皮下腫瘍の増殖は抑制され、自家造血幹細胞移植により抗腫瘍効果が得られることを明らかにした。次に、腫瘍の免疫原性を強化し腫瘍特異的免疫の誘導を促進するために、自家造血幹細胞移植後早期の免疫系の再構築時期に、腫瘍局所への同種 MHC 遺伝子導入を併用した。遺伝子導入した皮下腫瘍の増殖を著明に抑制するのみならず、遺伝子導入を行っていない離れた部位の皮下腫瘍においても増殖抑制効果が長期間にわたって認められ、マウスの生存率を明らかに延長した。対照群の自家造血幹細胞移植単独あるいは同種 MHC 遺伝子導入単独では、腫瘍の抑制効果は認められるが、腫瘍細胞移植後急速に腫瘍径は増大し、最終的にはマウスの生存率を延長されなかった。免疫学的検索により、*in vivo* での抗腫瘍効果と一致して CT26 腫瘍細胞特異的な CD4+ および CD8+ T 細胞、活性化した NK 細胞が顕著に誘導されていることを見出した。

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、新規に前方視的に収集した試料に対する 1 年目の予備的解析でも、優れた奏効性判別器構築の可能性が示唆された。2 年目時点で合計 86 症例が集積されることが予測され、判別器構築において重要な検証セットとして 20 例を確保可能と見こまれる。この新規臨床研究には LMD を用いた解析も組み込んであり、実際の臨床導入を図る際にも、がん-間質の個別及び相互作用に関する情報を利用した診断法開発のための基礎的情報入手が期待される。

腫瘍血管画像解析システムについては、国立がんセンター東病院症例の生検組織を用いた開発の成果が、他の施設における喉頭がん放射線治療感受性予知にも適用可能であることを示しており、今後生検組織を用いての治療感受性予知法開発のための良いマーカーになりうると考えられた。今後、声門扁平上皮がん以外の症例における反応についても検討し、放射線化学療法に感受性のある症例抽出の診断基準作成が必要である。

②ともに AML1・CBF β 転写因子複合体の機能を阻害する AML1-MTG8 と CBF β -MYH11 による白血病発症機構が、造血幹細胞様自己複製促進にあることを提唱してきたが、本年度は転写制御機構や造血幹細胞ニッチの遺伝子群との関係など、さらにその仮説を支持する実験的証拠を積み重ねた。一方、現在の小児 AML のリスク分類においては、t(8;21) 症例、inv(16) 症例以外の FAB 分類 M4/M5 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いる。本研究において明らかになった高年齢型 MLL 遺伝子転座症例は、高リスク群として治療方針を検討すべきであると考えられた。しかしこのサブタイプは発症年齢だけでは特定できないため、今後簡便な臨床検査法を開発することが必要である。

③腫瘍細胞における体細胞エピゲノム異常としての遺伝子プロモーター領域の異常メチル化は多種類のがん関連遺伝子について報告されているが、若年発症の散发性大腸がんでは片側のアレルに局限して MLH1 遺伝子プロモーター領域の広範なメチル化が生殖細胞系列に生じている症例を見出し報告した。個体のメチル化感受性を高める要因として、加齢や環境要因以外に、遺伝素因が関与していることが考えられたが、本研究により実際に MLH1 遺伝子のプロモーター部位のメチル化に対する感受性を規定する遺伝素因としての SNP とそのハプロタイプが同定された。MSI 陽性大腸がんの高リスクグループ

の絞り込みへの応用も考えられ、多重がんや、最近増加が指摘される高齢女性の右側結腸がんへの罹患リスクの推定等への活用が期待される。

④昨年度の同種造血幹細胞移植モデルでの解析に引き続き、自家造血幹細胞移植でも、固形がんに対して、同種 MHC 遺伝子導入との複合により、全身性の腫瘍特異的免疫反応を増強・維持できることを示した。今後、自家造血幹細胞移植後に抗腫瘍免疫を誘導できる機序を明らかとするために、移植後早期のドナーリンパ球や、宿主のサイトカイン・ケモカイン、それら受容体や副刺激分子等の発現状態を検討する必要がある。最終的な免疫遺伝子・細胞治療複合療法の臨床開発を目指して段階的に臨床試験を実施する計画を進め、同種 MHC 遺伝子治療単独の臨床導入に第 I 相臨床試験プロトコルを策定している。

E. 結論

①治療前生検組織の遺伝子発現情報に基づく食道がん化学放射線療法の前知医療の開発は前向き臨床試験に進み、症例登録 1 年目時点での奏効性を指標とした予備的解析では優れた性能の判別器構築が示唆された。開発を進めてきた腫瘍内血管密度解析画像解析システムを用いて、他施設の声門がん治療前生検組織を解析し、血管の評価を客観化することで、放射線治療感受性の予知が可能であることを示唆した。

②t(8;21)-AML と inv(16)-AML においては、造血幹細胞様自己複製能の亢進が白血病発症に関わる共通分子経路である証拠を集積した。また、小児単球系 AML において、治療の層別化に有用な予後不良サブタイプを同定した。

③MSI 陽性散発性大腸がんの主要な原因の一つと考えられる MLH1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化には MLH1 遺伝子のプロモーター領域周辺の遺伝子型あるいはハプロタイプが相関を示すことを見出した。

④固形がんに対して、同種 MHC 遺伝子導入と

自家造血幹細胞移植を複合することにより、全身性の腫瘍特異的免疫反応を増強しうることを示し、治療法の rationale を確認した。段階的に臨床試験を実施する計画に従い、同種 MHC 遺伝子治療単独の第 I 相臨床試験プロトコル策定を進めた。

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

・発明の名称「抗 PERP 遺伝子組換え抗体」、
発明者：落合淳志、設楽研也、国際出願番号
PCT/JP2006/324385

・発明の名称「遺伝子検査結果判定法およびプログラムおよびその装置」、発明者：菅野康吉
他、出願番号：出願番号 P2007-021407

・発明の名称「膀胱がんに対するインターフェロン α 遺伝子治療」、発明者：青木一教、米国特許出願中 (60/565, 526)

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の再現性を明らかにする目的で、本年度は、多施設で行われた放射線治療前生検組織を用い腫瘍内血管密の測定により放射線治療感受性と相関がある事を示した。

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。これまで明らかにした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の再現性を、実際の多施設の生検組織を用いて検討した。

B. 研究方法

1991年から1996年の間に愛知県がんセンター、慶應大学付属病院、大阪成人病センターにおいて放射線治療を受けた120例声門扁平上皮癌患者治療前生検組織を用い、総血管密度 (TN/TA) および血管血管周囲径 (TP/TA) を画像解析し、progression free survival との相関を検索した。Cut off 値としてこれまで国立がんセンター東病院で治療を受けた55例の早期喉頭癌症例を用いた検討により得られた、TN/TA:30/mm², TP/TA: 2mm/mm² として、前向きに検討した。多変量解析による放射線療法感受性に相関する因子を調べたところ、TP/TA ならびに T stage が独立した感受性予知因子である事が示された。Kaplan-Meier 法による再発

までの経時的な変化を検討した。

(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。特に今年度はヒト生検組織を用いており、国立がんセンターならびに研究に協力頂いた組織における倫理審査を受け、個人情報には十分注意を行い、匿名化された標本についてのみを検討に用いた。

C. 研究結果

本年度は国立がんセンター東病院以外の施設且つ多施設の治療前標本を用いて、これまでに作成された腫瘍血管画像解析システムの有用性を確認した。多変量解析による放射線療法感受性に相関する因子を調べたところ、TP/TA ならびに T stage が独立した感受性予知因子である事が示された。Kaplan-Meier 法による再発までの経時的な変化を検討したところ、TP/TA の値ならびに T1/T2 での分類法は有意に放射線治療後の再発を予測が可能になる事が示された。以上の結果は、これまで国立がんセンター東病院での治療された患者の生検組織を用いていた検討が、他の施設における喉頭癌放射線治療感受性予知も可能であることを示しており、今後

生検組織を用いた治療感受性予知法開発のための良いマーカーになりうると考えられた。

今年度の成果として、実際の治療前声門扁平上皮がん患者生検組織における腫瘍血管画像解析は放射線治療感受性と相関する事が示された。今後、声門扁平上皮がん以外の症例における反応についても検討し、放射線化学療法に感受性の症例の抽出の診断基準を作成する必要がある。

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多施設の症例においても生検組織における放射線感受性を予知する事が再現性を持って確認出来た。

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を用いて、実際の治療前生検組織を用いて声門がん放射線治療感受性を予知する可能性を示す事ができた。これらの結果は、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により血管の評価を客観化することで、放射線治療感受性を予知することが可能であることを示している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Shiono, S., Ishii, G., Nagai, K., Yoshida, J., Nishimura, M., Murata, Y., Tsuta, K., Nitadori, J., Kodama, T., Ochiai, A. Immunohistochemical prognostic factors in resected colorectal lung metastases using tissue microarray analysis. *European*

Journal of Surgical Oncology. 32.308-309, 2006.

2) Zhang SC Hironaka S., Ohtsu A., Yoshida S., Hasebe T., Fukayama M., Ochiai A. Computer-assisted analysis of biopsy specimen microvessels predicts the outcome of esophageal cancers treated with chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res.* 15; 12(6):1735-42, 2006.

3) Saijo T, Ishii G, Nagai K, Funai K, Nitadori J, Tsuta K, Nara M, Hishida T, Ochiai A. Differences in clinicopathological and biological features between central-type and peripheral-type squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer.* 52(1):37-45, 2006 [Epub ahead of print]

4) Tsuta K, Ishii G, Nitadori J, Murata Y, Kodama T, Nagai K, Ochiai A. Comparison of the immunophenotypes of signet-ring cell carcinoma, solid adenocarcinoma with mucin production, and mucinous bronchioalveolar carcinoma of the lung characterized by the presence of cytoplasmic mucin. *J Pathol.*, 209(1):78-87, 2006 Feb 3; [Epub ahead of print]

5) Sangai T, Ishii G., Ochiai A. Hormonal stimulation increases the recruitment of bone marrow-derived myoepithelial cells and periductal fibroblasts into the mammary gland. *Biochem Biophys Res Commun.*, 11;346(4):1173-80, 2006.

6) Saijo T, Ishii G, Ochiai A, Yoh K, Goto K, Nagai K, Kato H, Nishiwaki Y, Saijo N Eg5 expression is closely correlated with the response of advanced non-small cell lung cancer to antimitotic agents combined with platinum chemotherapy. *Lung Cancer,* 54(2):217-25, 2006.

7) Yamauchi C, Hasebe T, Iwasaki M., Imoto

S., Wada N., Fukayama M., Ochiai A. Accurate assessment of lymph vessel tumor emboli in invasive ductal carcinoma of the breast according to tumor areas, and their prognostic significance. Human Pathol, 38, 247-259, 2007.

8) Imoto S, Wada N, Hasebe T, Ochiai A, Kitoh T. Serum c-erbB-2 protein is a useful marker for monitoring tumor recurrence of the breast. Int J Cancer. 15; 120(2): 357-61 2007.

2. 学会発表

- 1) 落合 淳志「がん微小環境と浸潤・転移機構 —臓器特異がん転移機構解明と治療法の開発の試み—」第95回日本病理学会総会、2006年
- 2) 石井 源一郎、三階 貴史、藤本 浩司、落合 淳志
- 3) 「骨髄細胞には、乳腺筋上皮細胞、および導管周囲線維芽細胞の前駆細胞が含まれている。」第95回日本病理学会総会、2006年
- 4) 落合 淳志 (教育講演) 「臨床に役立つ頭頸部癌の病理」第30回日本頭頸部癌学会、2006年
- 5) 青柳 一彦、三梨 桂子、武藤 学、中西幸浩、落合 淳志、大津 敦、吉田 茂昭、吉田 輝彦、佐々木 博己「食道扁平上皮がんにおける生検を用いた遺伝子発現解析」第65回日本癌学会学術総会、2006年
- 6) 落合 淳志「前立腺がん基礎研究の立場から—骨転移と治療抵抗性機構」第65回日本癌学会学術総会、2006年

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

国際出願

国際出願番号：PCT/JP2006/324385

発明の名称：抗 PERP 遺伝子組換え抗体

発明者：国立がんセンター研究所東病院
臨床腫瘍病理部 落合 淳志

協和発酵工業株式会社
設楽 研也 他

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 白血病キメラ転写因子 AML1-MTG8、CBF₂-MYH11 が、多くの造血幹細胞特異的遺伝子の発現を亢進させることを見出すとともに、それらの中で自己複製促進能を有する HOXB2 を直接制御していることを明らかにした。また、小児単球系 AML の遺伝子発現には発症年齢依存的な差異が見られ、低年齢型、中間年齢型、高年齢型の三つのサブグループに分類できること、高年齢型において MLL 遺伝子転座を有する症例の予後が極めて不良であることを見出した。

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

百数十症例の小児 AML 臨床検体のマイクロアレイ解析データを基盤として、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し、発症・悪性化に関わる分子経路の推定を行うとともに、遺伝子発現により分類される新たなサブタイプを探索し、リスク分類としての有用性を検討する。発症・悪性化に関わることが予測された遺伝子については、機能解析を行い、治療分子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

AML1-MTG8、CBF₂-MYH11 キメラ転写因子の下流で自己複製の促進に働く HOXB2 が造血幹細胞特異的に発現する HOX 遺伝子であり、これに加えて多くの造血幹細胞特異的遺伝子、特に造血幹細胞ニッチとの相互作用に働く遺伝子群の発現がこれらのキメラ転写因子により亢進していることを明らかにした。また、レポーターアッセイや ChIP アッセイを用いて、これらのキメラ転写因子が HOXB2 遺伝子プロモーターに対して直接作用して発現を亢進させることを示した。

2) 小児単球系 AML の予後不良サブグループに関する研究

小児単球系 AML [t(8;21)症例、inv(16)症例を除く FAB 分類 M4/M5 症例] に予後の異なるサブグループが存在するとの昨年度までの知見を基に、検体数を増やして再解析を行った。40 症例の解析から、主要な遺伝子発現の相違は発症年齢依存的に見られ、低年齢型、中間年齢型、高年齢型の三つのサブグループに分類できること、高年齢型は予後不良であることを明らかに

した。さらに、小児単球系 AML の約半数に見られる MLL 遺伝子転座の有無は、低年齢型、中間年齢型症例の遺伝子発現に対してほとんど影響を及ぼさないが、高年齢型症例においては転座症例と非転座症例は明らかに異なる遺伝子発現パターンを示すこと、この高年齢型 MLL 遺伝子転座症例の予後は極めて不良であることを見出した。

D. 考察

AML1-MTG8 と CBF₂-MYH11 はともに AML1 と BF₂ 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分子経路に作用する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、その共通分子経路が造血幹細胞様の遺伝子発現の誘導による自己複製促進がであることを示唆している。一方、現在の小児 AML のリスク分類においては、t(8;21) 症例、inv(16) 症例以外の FAB 分類 M4/M5 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いる。本研究において予後不良であることが明らかになった高年齢型 MLL 遺伝子転座症例は、高リスク群として治療を行うべきだと考える。高年齢型サブグループは発症年齢だけでは特定できないため、今後 RT-PCR 等を用いた簡便な診断法を開発することが必要である。

E. 結論

自己複製の亢進が、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予後不良サブタイプを同定した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) H. Ichikawa, et al.: Common gene expression signatures in t(8;21)- and inv(16)-acute myeloid leukaemia. Br. J. Haematol. 135, 336-347 (2006).
- 2) T. Katsumoto, H. Ichikawa, et al.: MOZ is essential for maintenance of hematopoietic stem cells. Genes Dev. 20, 1321-1330 (2006).

2. 学会発表

- 1) 市川 仁他: AML1 (RUNX1)-MTG8 (ETO) と CBF₂-MYH11 による造血細胞の幹細胞性の亢進と HOXB2 の関与, 第 65 回日本癌学会学術総会.
- 2) 市川 仁他: AML1 (RUNX1)-MTG8 (ETO) と CBF₂-MYH11 はともに造血細胞の幹細胞性を亢進させる, 第 68 回日本血液学会総会.
- 3) 城 青衣他: 網羅的遺伝子発現解析により明らかとなった単球系 AML (FAB M4/M5) における乳児例と小児例の違い, 第 48 回日本小児血液学会.

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 散発性大腸癌におけるマイクロサテライト不安定性(MSI)の原因となる MLH1 遺伝子プロモーター領域の遺伝子多型あるいはハプロタイプを解析し、同遺伝子の異常メチル化との相関について解析した。MSI と MLH1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化の有無を解析した散発性大腸癌を対象として、MLH1 遺伝子が存在する 3p21 の 1.3Mbp の領域に存在する 5 カ所のマイクロサテライト多型と 9 カ所の 1 塩基多型(SNP)を使用し、相関解析を行なった。その結果、アレル頻度で有意差を示す SNP が認められ($p=0.007477$)、この多型をホモ接合で持つ個体は他の遺伝子型を持つ個体に対して、メチル化の有無に関して Odds 比で 2.76 と強い相関を示し、またメチル化と有意な相関を示すハプロタイプの存在が認められた。以上の結果は MLH1 遺伝子のプロモーター部位のメチル化に対する感受性には遺伝的要因が強く関わっている可能性を示すものと考えられる。

A. 研究目的

マイクロサテライト不安定性(MSI)陽性の散発性大腸癌における MLH1 遺伝子プロモーター領域の異常メチル化の有無と相関を示す遺伝子多型あるいはハプロタイプを解析し、異常メチル化を生じやすい宿主の遺伝的素因を解析する。

B. 研究方法

MSI と MLH1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化の有無を解析した散発性大腸癌 210 例（メチル化陽性例 60 例、陰性例 150 例）を対象として、MLH1 遺伝子が存在する 3p21 の 1.3Mbp の領域について 5 カ所のマイクロサテライト多型を使用して遺伝子型を解析した。次に、同遺伝子から上流約 600kb の領域に存在する 9 カ所の 1 塩基多型(SNP)を使用し、遺伝子型とハプロタイプを解析し、メチル化の有無との相関解

析を行なった。

（倫理面への配慮）

本研究は施設 IRB の承認を受けた研究計画に基づいて実施され、遺伝子多型の解析に使用された検体はすべて連結不可能匿名化したうえで研究に使用している。

C. 研究結果

MLH1 遺伝子の上流 0.9Mbp から下流 0.4Mbp に存在する 5 カ所のマイクロサテライト多型を使用した解析ではメチル化と有意な相関を示す遺伝子型は認められなかった。次に、9 カ所の SNP を使用した解析ではアレル頻度で有意差を示す SNP が一カ所認められた($p=0.007477$)。この SNP の出現頻度は recessive model あるいは codominant model でそれぞれ $p=0.0019$ および $p=0.0078$ と有意差が認められ、この多型をホ

モ接合で持つ個体は他の遺伝子型を持つ個体に対して、メチル化の有無に関してOdds比で2.76と強い相関を示した。性別や腫瘍の局在部位等のメチル化と有意な相関を示す臨床的因子を加えた多変量解析を行なったところ、このSNPの遺伝子型はOdds比で2.87と最も強い相関を示した。次に、周辺のSNPを加えたハプロタイプを用いたCase-control studyの結果、メチル化と有意な相関を示すハプロタイプの存在が認められた。

D. 考察

腫瘍におけるがん関連遺伝子のプロモーター領域の異常メチル化は、多種類のがん関連遺伝子について報告されているが、このような異常が生じる原因については不明である。一般の散发性大腸癌の場合には、異常メチル化は通常両アレルに出現する異常であるのに対して、我々は若年発症の散发性大腸癌で片側のアレルに限局してMLH1遺伝子プロモーター領域の広範なメチル化が全身的に生じている症例を見出し報告している(Miyakura Y et al. Clin Gastroenterol Hepatol 2:147-156, 2004)。この場合には、胚発生の初期の段階で、メチル化が片側のアレルにのみ生じているものと考えられる。MLH1遺伝子のメチル化には加齢や性別以外に、個体のメチル化に対する感受性を高める別の要因が関与しているのではないかと考え、今回の検討を行なった。マイクロサテライト多型を使用した解析では明らかな有意差を示す遺伝子型は認められなかったが、これは遺伝子型の種類が多過ぎるために、特定のアレルの出現頻度が低くなってしまふこと、および解析に使用可能なMLH1遺伝子近傍のマイクロサテライト多型の数が少なく、MLH1遺伝子のプロモーター領域に最も近接したマイクロサテライト多型であっても0.6Mbp上流であり、かなり離れた距離に存在することが原因と考えられた。そこで、同遺伝子から上流約0.6Mbpの領域に

存在する9カ所のSNPを使用して相関解析を行なった。その結果、プロモーター領域内に存在する1カ所のSNPがメチル化と有意な相関を示すことが明らかとなった。更に、ハプロタイプの解析では、特定のハプロタイプを持つ個体がMLH1遺伝子のプロモーターメチル化と強い相関を示すことが明らかとなった。以上の結果はMLH1遺伝子のプロモーター部位のメチル化に対する感受性には遺伝的要因が強く関わっている可能性を示すものであり、MSI陽性大腸癌のハイリスクグループの絞り込みに応用可能であれば、高齢の女性で最近増加が報告されている右側結腸癌への罹患リスクの推定等に応用の可能性が期待される。

E. 結論

MSI陽性の散发性大腸癌の原因と考えられているMLH1遺伝子のプロモーター領域のメチル化にはMLH1遺伝子のプロモーター領域周辺の遺伝子型あるいはハプロタイプが強い相関を示すことが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Maho Takahashi, Kokichi Sugano et al. Detection of APC gene deletion by double competitive polymerase chain reaction in patients with familial adenomatous polyposis Int. J Oncol. 29:413-421, 2006
- 2) Shin Fujita, Kokichi Sugano et al. Allelic status of chromosomes 17p, 18q, 22p, 3p and their clinical usefulness in colorectal Cancer Anticancer Res. 26:2833-2840, 2006
- 3) Kokichi Sugano, Tadao Kakizoe: Genetic alterations in bladder cancer and their

clinical applications in molecular tumor staging. Nat Clin Pract Urol 3: 642-652, 2006

2. 学会発表

- 1) 菅野康吉：遺伝カウンセリングのニーズをどう受け止めるか？-腫瘍診療から- 第30回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 平成18年5月26日(金) 大阪
- 2) 菅野康吉、他：遺伝性非ポリポーシス大腸癌(HNPCC)のリスク評価と遺伝子診断の適応-遺伝相談外来受診例を対象とする検討- 第12回日本家族性腫瘍学会学術集会 平成18年6月16日(金) 大阪
- 3) 阪埜浩司、菅野康吉、他：家系内癌集積性を有する子宮体癌症例を対象としたMMR遺伝子の生殖細胞変異解析 第12回日本家族性腫瘍学会学術集会 平成18年6月16日(金) 大阪
- 4) 田中屋宏爾、菅野康吉、他：HNPCC MLH1 Exon5 1.2kb del 変異家系の臨床的特徴 第12回日本家族性腫瘍学会学術集会 平成18年6月16日(金) 大阪
- 5) 石井正純、菅野康吉、他：免疫不全マウス可移植性腫瘍株を用いたマイクロサテライト不安定性の検討 第12回日本家族性腫瘍学会学術集会 平成18年6月16日(金) ホテル阪急エキスポパーク 大阪
- 6) 前田耕史、菅野康吉、他：鋳型DNA量がアレル不均衡解析の精度に及ぼす影響についての検討 第26回日本分子腫瘍マーカー研究会平成18年9月27日(水) 横浜
- 7) 菅野康吉、他：MLH1遺伝子のプロモーターメチル化と関連する3p21領域のハプロタイプの解析(一般口演) 第65回日本癌学会学術総会 平成18年9月28日(木) 横浜
- 8) 阪埜浩司、菅野康吉、他：家系内癌集積性を有する子宮体癌症例を対象としたMMR遺伝子の生殖細胞変異解析線-HNPCC関連子宮体癌の病態解明を目指して- 第44回日本癌治療学会総会 平成18年10月20日(金) 東京

9) 田中屋宏爾、菅野康吉、他：HNPCCにおけるfounders effectと遺伝子検査 第44回日本癌治療学会総会 平成18年10月20日(金) 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

名称：遺伝子検査結果判定法およびプログラムおよびその装置(出願番号P2007-021407 出願日2007/01/31)

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（MHC）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、造血幹細胞移植を併用して、再構築された新鮮で強力な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18年度には、自家造血幹細胞移植マウスモデルにおいて、皮下腫瘍に対する同種 MHC 遺伝子導入が、明らかな有害事象を示すことなく全身性の腫瘍特異的免疫反応を誘導でき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遺伝子治療として、同種主要組織適合抗原（major histocompatibility antigen: MHC）遺伝子やサイトカイン遺伝子を生体内で腫瘍内に直接導入する方法は、宿主免疫系による腫瘍抗原等の認識を強化し腫瘍特異的免疫を誘導することができる。しかし、ヒト臨床例では、しばしば局所での免疫寛容が成立しており、有効な抗腫瘍免疫反応を誘導することが困難な場合が多い。そこで、造血幹細胞移植を併用して、新鮮で強力な免疫系を再構築することにより抗腫瘍効果を高める、免疫遺伝子・細胞複合療法の基礎的開発を行い、臨床開発に発展させることを目的とする。平成18年度は、GVHD発症の恐れがなく、かつ、担がん個体の抑制性免疫を破壊し免疫系を再設定する、あるいは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 proliferation）といった免疫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、免疫遺伝子治療の複合療法の基礎開発に着手した。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、あらたな免疫細胞治療として期待されている造血幹細胞移植と

結びあわせて、効果と安全性に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

BALB/c マウス(H-2d)に致死量(9Gy)の放射線を照射後、BALB/c マウスの骨髄細胞(5 x 10⁶)とT細胞(1-2 x 10⁶)を静注する自家骨髄移植モデルを用いた。骨髄移植したマウスの足に、同系のCT26大腸がん細胞を移植し、腫瘍の大きさを経時的に測定した。また、皮下腫瘍に対して、同種MHC class I抗原であるH-2Kb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、自家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。さらに、ELISPOTやIntracellular cytokine stainingによりマウスの脾細胞を解析し、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十分な動物数のみを実験に用い、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) まず、自家造血幹細胞移植により抗腫瘍効果が認められるかどうか検討した。BALB/c マウスに致死量の放射線照射してリンパ球減少状態を作り、骨髄細胞とT細胞を尾静脈より静注してT細胞の増殖を促すと、放射線を照射せずに同量のT細胞のみを投与した群と比べて、明らかに BALB/c 由来の大腸がん CT26 細胞の皮下腫瘍の増殖は抑制され、自家造血幹細胞移植により引き起こされる homeostatic proliferation により強い抗腫瘍効果が得られることを明らかとした。
- 2) ついで、腫瘍の免疫原性を強化し腫瘍特異的免疫の誘導を促進するために、自家造血幹細胞移植後に腫瘍局所への同種 MHC 遺伝子導入を併用した。造血幹細胞移植後早期の免疫系の再構築が起こっている時期に、同種 MHC 遺伝子導入を行うと、遺伝子導入した皮下腫瘍の増殖を著明に抑制するばかりが、遺伝子導入を行っていない離れた部位の皮下腫瘍においても増殖抑制効果が長期間にわたって認められ、マウスの生存率を明らかに延長した。一方、自家造血幹細胞移植単独あるいは同種MHC遺伝子導入単独では、腫瘍の抑制効果は認められるが、腫瘍細胞移植後 30 日頃より急速に腫瘍径は増大し、最終的にはマウスの生存率を延長することはできなかった。
- 3) Preimmunization として、H-2Kb 発現プラスミドをあらかじめ筋肉内注射して、アロ CTL をプライムすることにより、腫瘍内への H-2Kb 遺伝子導入の抗腫瘍効果は明らかに増強した。
- 4) ELISPOT や Intracellular cytokine staining によりマウスの脾細胞を解析したところ、in vivo での抗腫瘍効果と一致して、CT26 腫瘍細胞特異的な CD4+ および CD8+ T 細胞や、活性化した NK 細胞が著明に誘導されていることを明らかとした。
- 5) 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

本研究成果により、固形がんに対して、同種 MHC 遺伝子導入と自家造血幹細胞移植を複合することにより、全身性の腫瘍特異的免疫反応を増強・維持できるという、本治療法の rationale を確認することができた。今後、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。また、自家造血幹細胞移植後に抗腫瘍免疫を誘導できる機序を明らかとするために、移植後早期のドナーリンパ球やホストでのサイトカイン・ケモカイン、それらレセプターや副刺激分子等の発現状態を検討する予定である。

E. 結論

腫瘍内同種 MHC 遺伝子導入と自家造血幹細胞移植の複合により、明らかな有害事象を引き起こすことなく、全身性の腫瘍特異的免疫反応を増強でき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進展させていく。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
- 1) M. Ohashi, A. Kobayashi, H. Hara, Y. Miura, K. Yoshida, M. Kushida, Y. Ikarashi, M. Mandai, M. Kitajima, T. Yoshida and K. Aoki.

Allogeneic MHC gene transfer enhances antitumor activity of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation without exacerbating graft-versus-host disease. Clin. Cancer Res. 12; 2208-2215, 2006.

2) H. Hara, A. Kobayashi, K. Yoshida, M. Ohashi, S. Ohnami, E. Uchida, E. Higashihara, T. Yoshida, and K. Aoki. Local interferon- α gene therapy elicits a systemic immunity in a syngeneic pancreatic cancer model in hamster. Cancer Sci 98; 455-463, 2007.

3) S. Furuhashi, K. Ando, S. Ohnishi, K. Aoki, M. Nishigaki, K. Aoyagi, H. Sasaki, H. Sakamoto, T. Yoshida and S. Ohnami. Gene expression profiles of endothelial progenitor cells by oligonucleotide microarray analysis. Mol Cell Biochem (in press)

2. 学会発表

1) K. Aoki, Y. Miura, K. Yoshida, K. Hatanaka, T. Nishimoto, S. Ohnami, J. Douglas, D. Curiel, T. Yoshida. Direct selection of targeted vector from a random peptide library displayed on adenoviral fiber knob. The American Society of Gene Therapy's 9th Annual Meeting (Oral presentation). 2006年5月.

2) K. Aoki, K. Yoshida, Y. Miura, K. Hatanaka, T. Nishimoto, S. Ohnami, T. Yoshida. Direct selection of targeted vector from a random peptide library displayed on adenoviral fiber knob. The 12th Annual Meeting, Japan Society of Gene Therapy (Oral presentation). 2006年8月.

3) 小林昭彦、原秀彦、大橋真記、吉田貴三子、吉田輝彦、青木一教、自家造血幹細胞移植と同種主要組織適合抗原遺伝子導入の相乗的抗腫瘍効果、第65回日本癌学会学術総会(口演)。

2006年9月。

4) 青木一教、膵がん遺伝子治療の現状と展望、第65回日本癌学会学術総会(シンポジウム)。2006年9月。

5) 西本武史、吉田貴三子、三浦慶昭、畑中一映、大浪俊平、吉田輝彦、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、グリオーマ細胞標的ベクターの開発、第65回日本癌学会学術総会(示説)。2006年9月。

6) 原秀彦、小林昭彦、吉田貴三子、吉田輝彦、青木一教、固形がんに対する、腫瘍内インターフェロン α 遺伝子導入と同種造血幹細胞移植複合療法の抗腫瘍効果、第65回日本癌学会学術総会(示説)。2006年9月。

7) H. Hara, K. Aoki, A. Kobayashi, M. Ohashi, K. Yoshida, T. Yoshida. Interferon- α gene transfer enhances antitumor activity of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation against renal cancer. 2006 International Society of Cell and Gene Therapy of Cancer Japan Conference (poster presentation). 2006年10月。

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
Furuhata S, Yoshida T, et al.	Gene expression profiles of endothelial progenitor cells by oligonucleotide microarray analysis.	Molecular and Cellular Biochemistry			in press
Nakayama, R., Nemoto, T., Takahashi, H., Ohta, T., Kawai, A., Seki, K., Yoshida, T., Toyama, Y., Ichikawa, H., Hasegawa, T.	Gene expression analysis of soft tissue sarcomas: characterization and reclassification of malignant fibrous histiocytoma	Mod. Pathol.,			in press
Saeki, N., Kim, D-H., Usui, T., Tamura, M., Aoyagi, K., Tatsuta, T., Fukaya, M., Aoki, K., Yanagihara, K., Mizushima, H., Ogawa, K., Ohki, M., Terada, M., Shiroishi, T., Yoshida, T., and Sasaki, H.	GASDERMIN, suppressed frequently in gastric cancer, is a target of LM01 in TGF- β dependent apoptotic signalling	Oncogene			in press
Sai K, Itoda M, Saito Y, Kurose K, Katori N, Kaniwa N, Komamura K, Kotake T, Morishita H, Tomoike H, Kamakura S, Kitakaze M, Tamura T, Yamamoto N, Kunitoh H, Yamada Y, Ohe Y, Shimada Y, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kamatani p N, Ozawa S, Sawada J.	Japanese population: an expanded haplotype block covering the distal promoter region, and associated ethnic differences.	Annals of Human Genetics	70	605-622	2006
Mutoh M, Akasu T, Takahashi M, Niho N, Yoshida T, Sugimura T, Wakabayashi K.	Possible involvement of hyperlipidemia in increasing risk of colorectal tumor development in human familial adenomatous polyposis.	Jpn J Clin Oncol	36(3)	166-171	2006
Hiro Takahashi, Takeshi Nemoto, Teruhiko Yoshida, Hiroyuki Honda and Tadashi Hasegawa.	Cancer diagnosis marker extraction for soft tissue sarcomas based on gene expression profiling data by using projective adaptive resonance theory (PART) filtering method.	BMC Bioinformatics	7	399	2006

Takahashi H, Aoyagi K, Nakanishi Y, Sasaki H, Yoshida T, Honda H.	Classification of intramural metastases and lymph node metastases of esophageal cancer from gene expression based on boosting and projective adaptive resonance theory.	J Biosci Bioeng	102(1)	46-52	2006
Takahashi M, Kikuchi M, Ohkura N, Yaguchi H, Nagamura Y, Ohnami S, Ushiana M, Yoshida T, Sugano K, Iwama T, Kosugi S, Tsukada T.	Detection of APC gene deletion by double competitive polymerase chain reaction in patients with familial adenomatous polyposis.	Int J Oncol.	29	413-421	2006
Usui T, Aoyagi K, Saeki N, Nakanishi Y, Kanai Y, Ohki M, Ogawa K, Yoshida T, Sasaki H.	Expression status of RUNX1/AML1 in normal gastric epithelium and its mutational analysis in microdissected gastric cancer cells.	Int J Oncol.	29	779-784	2006
Fukaya M, Isohata N, Ohta H, Aoyagi K, Ochiya T, Saeki N, Yanagihara K, Nakanishi Y, Taniguchi H, Sakamoto H, Shimoda T, Nimura Y, Yoshida T, Sasaki H.	Hedgehog signal activation in gastric pit cell and in diffuse-type gastric cancer.	Gastroenterology	131	14-29	2006
Ashida A, Boku N, Aoyagi K, Sato H, Tsubosa Y, Minashi K, Muto M, Ohtsu A, Ochiai A, Yoshida T, Yoshida S, Sasaki H.	Expression profiling of esophageal squamous cell carcinoma patients treated with definitive chemoradiotherapy: clinical implications.	Int J Oncol.	28(6)	1345-1352	2006
Kim DH, Muto M, Kuwahara Y, Nakanishi Y, Watanabe H, Aoyagi K, Ogawa K, Yoshida T, Sasaki H.	Array-based comparative genomic hybridization of circulating esophageal tumor cells.	Oncol Rep.	16(5)	1053-1059	2006
Daiko H, Isohata N, Sano M, Aoyagi K, Ogawa K, Kameoka S, Yoshida T, Sasaki H.	Molecular profiles of the mouse postnatal development of the esophageal epithelium showing delayed growth start.	Int J Mol Med.	18(6)	1057-1066	2006
Sato Y, Suganami H, Hamada C, Yoshimura I, Sakamoto H, Yoshida T, Yoshimura K.	The confidence interval of allelic odds ratios under the Hardy-Weinberg disequilibrium.	J Hum Genet	51	772-780	2006
Yamauchi C, Hasebe T, Iwasaki M., Imoto S., Wada N., Fukayama M., Ochiai A.	Accurate assessment of lymph vessel tumor emboli in invasive ductal carcinoma of the breast according to tumor areas, and their prognostic significance.	Human Pathol,	38	247-259	2007