

常に複雑な分子病態の変化が誘導され、細胞増殖に関与していると考えられた。また、この miRNA 強発現が小細胞肺癌を中心にみられる神経内分泌分化との関連が示唆された。

(d) がん細胞の増殖・浸潤にかかわる細胞骨格の研究

(1) これまでの研究で、個々の分裂期キナーゼの役割は少しずつ明らかにされてきた。しかし、分裂期の細胞現象は複数の分裂期キナーゼが協調しながら制御していると考えられているが、その詳細は不明な点が多かった。今回、我々が得た知見は、Cdk1 の基質のリン酸化反応を介して Plk1 の局在および機能を制御していること、この機能変化が分裂期の進行に重要な役割を担っていることを示すものといえる。今後、このような分裂期キナーゼ群間のクロストーク機構の破綻ががん化においてどのような役割を演じているかについても検討を加えていき、将来的には、新しい作用機序の抗がん剤の開発に役立てる予定である。

(2) がん細胞の骨格・細胞間接着を制御するシステムとして、上皮間葉転換は転写レベルでの広範な形質の変化であり、特異的な構造物を制御する分子の報告はまだ少ない。本研究で、我々は微小管の安定化および細胞間接着装置複合体という特異的な細胞骨格・細胞間接着の制御を行う蛋白質として、トリコプレインおよびアルバトロスを同定した。これらの結果は、がんにおいて今だ未知な細胞骨格・接着異常の分子メカニズムが存在し、それにこれらのケラチン結合蛋白質が関与していることを示している。今後はこれらの分子の結合蛋白質をさらに検索・同定する。また、これらのノックアウトマウスを作成し腫瘍形成能を検討する。それらの結果をもとに、がんにおいていまだ未知な細胞骨格・接着異常の分子メカニズムを明らかし、診断・治療に役立てる予定である。

E. 結論

(a) 消化器がんの進展・転移における分子病態の解析と臨床応用

(1) 胃がんの腹膜転移は大網の節外性リンパ組織である乳斑に選択的に初発（微小）転移巣を形成する早期と、微小転移の増殖から腹腔内に播種性に進展する後期の 2 段階から成ること、化学療法により初期の微小転移はコントロールが可能であること、また後期の播種性進展は TNF- α などのサイトカインにより抑制できることを明らかにした。

(2) リンパ節転移能を有する胃、大腸がん細胞はいずれも VEGF-C を高発現し、VEGF-C 産生とリンパ節転移能が相関するが、VEGF-C 低発現がん細胞に VEGF-C を強制発現させただけではリンパ節転移は有意には促進されず、リンパ管新生と腫瘍のリンパ管浸襲能の両者がリンパ節転移にとって重要であること、この点を解析するために HPVE6,E7 遺伝子および HTERT 遺伝子を導入する事により不死化ヒトリンパ管内皮細胞株をはじめ樹立し、腫瘍細胞とリンパ管内皮の相互作用を *in vitro* で解析できるシステムを確立した。

(3) HER2 高発現胃がん細胞株の gefitinib 高感受性は HER2 過剰発現により恒常的に活性化された PI3K/Akt シグナル伝達経路の遮断によるアポトーシス誘導に起因すること、耐性は EGFR/Ras/MAPK 経路の代償性の恒常的活性化によること、また Trastuzumab は HER2 高発現細胞 (GLM) 株の腹膜転移に対し顕著な抗腫瘍効果を示し、これに HER2 の Down regulation を介した PI3K/Akt 経路の抑制および抗体依存性細胞障害活性 (ADCC) の両者が関与する可能性を明らかにした。

(b) 造血器腫瘍の遺伝子異常の解析

(1) 胃 MALT リンパ腫でピロリ菌除菌療法無効症例のうち、半数に API2-MALT1 キメラ遺伝子が見出された。

(2) MALT リンパ腫に関与する API2-MALT1

キメラ遺伝子は、造血器細胞株においても紫外線照射や抗がん剤によるアポトーシスを抑制することが明らかとなったが、IL3 除去によるアポトーシスは抑制しないことが明らかとなった。

(3) ゲノム異常を解析するために、2304 個の BAC clone を用いたアレイ CGH 法を確立した。従来法の CGH 法よりも感度が高く、詳細な検討ができることを明らかにした。Array CGH 法で、13q31 増幅と 3p21 欠失の領域からそれぞれの責任遺伝子 C13orf25 と FHIT 遺伝子を確定した。

(4) API2-MALT1 キメラ遺伝子の標的遺伝子ひとつは転座に関与する API2 であることを見出し、確認した。

(5) API2-MALT1 の蛋白レベルの解析では、細胞質のみに存在して機能すると考えられていた MALT1 および API2-MALT1 が細胞質と核を往復することを明らかにした。

(6) T/NK リンパ腫・白血病および急性前骨髄球性白血病(APL)では、疾患特異的なゲノム異常を見出したが、APL では 40%の症例でゲノム異常が認められず、今後の問題として対処する必要がある。

(7) API2-MALT1 キメラ遺伝子のない除菌療法抵抗性胃 MALT リンパ腫には多様なゲノム異常が認められ、除菌抵抗性の原因のひとつであると考えられた。

(8) 除菌療法有効群の中にも 1 症例複数のゲノム異常を有するものが認められたが、ゲノム異常を有し、腫瘍性増殖が認められるものの中にも、ピロリ菌がなくなると増殖しなくなるものがあるということが明らかになったが、長期観察が必要である。

(9) API2-MALT1 キメラ遺伝子のある胃 MALT リンパ腫は他のゲノム異常が認められず、除菌治療抵抗性の原因遺伝子は API2-MALT1 キメラ遺伝子であることが強く示唆された。

(10)CD5+DLBCL に特徴的な遺伝子発現様式

(CD5 signature)を見出した。これらの遺伝子群で DLBCL を分類すると CD5+ type DLBCL は CD5- type DLBCL に比べ優位に予後が悪いことが明らかとなった。他のデータセットでも確認された。

(c) 肺がんにおけるエピジェネティクス異常と発がんとの関連

ヒト固形腫瘍においてエピジェネティクス異常が発がんと共に増殖・転移に重要でありさらに患者予後を予測する因子として有用であることが明らかとなった。HDAC9 isoform3 は発現亢進が予後不良因子になることが判明した。また、HDAC5 を強制発現させることで、肺癌細胞の増殖が抑制されることが判明した。これらの研究成果は、HDAC class II の発現異常が肺癌発症に深く関与することを示唆した。一方、MCA アレイ法は網羅的な DNA メチル化の解析法として極めて優れていることを明らかにした。さらに RNAi や microRNA の観点からは RNA 分解酵素 Dicer の発現低下が予後不良因子であることが明らかとなり、RNAi を介したクロマチン構造制御の破綻が肺がん発症に関与することを強く示唆した。最後に、クロマチン構造制御への関与が示唆されている小 RNA 分子に注目し miRNA クラスターが小細胞肺がんを中心に高発現を示すことを見出し、その miRNA クラスターの強制発現が肺がんの増殖を促進することを明らかにした。

本研究では発がんにおけるエピジェネティクス異常を以上の諸点から明らかにすることができた。本研究成果をもとに新たなエピジェネティクス診断マーカーの開発や DNA メチル化酵素阻害薬やヒストン脱アセチル化阻害薬等を用いた、エピジェネティクス異常に対する新しい治療への応用展開が期待できるものと考えられる。

(d) がん細胞の増殖・浸潤にかかわる細胞骨格

の研究

(1) 本年度、Cdk1 による INCENP およびピメンチンリン酸化反応を介して、Plk1 の局在、活性およびその機能が調節されていることを見出した。この Plk1 の機能変化は、分裂中期から後期への進行および中間径フィラメントの均等分配過程に重要な役割を担っていることが判明した。

(2) 新規ケラチン結合蛋白質トリコプレインの中心体局在は母中心小体の遠位端に限局し、微小管の安定化に必要であることを見出した。また新規ケラチン結合蛋白質アルバトロスは細胞間接着装置複合体の近傍に分布し、細胞間接着装置複合体の構築および強固な接着に特異的に必要であることを見出した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Nakanishi H, Hara H, Ikehara Y, Tatematsu M. Non-invasive and real-time monitoring of molecular targeting therapy for lymph node and peritoneal metastasis in nude mice bearing xenografts of human colorectal cancer cells tagged with GFP and DsRed, SPIE Proceeding, in press, 2007.
2. Hara M, Nakanishi H, Jun Q, Hirai T, Kanemitsu K, Ito S, Mochizuki Y, Kodera Y, Tatematsu M, Yamamura Y and Kato T. Comparative analysis of intraperitoneal minimal free cancer cells between colorectal and gastric cancer patients using quantitative RT-PCR. Possible reason for rare peritoneal recurrence in colorectal cancer. Clin Exp Metastasis, in press, 2007.
3. Hara M, Hirai T, Nakanishi H, Kanemitsu K, Komori K, Tatematsu M, Kato T. Isolated tumor cell in lateral lymph node has no

influences on the prognosis of rectal cancer patients, Int. J. Colorectal Dis. in press, 2007.

4. Ohashi N, Nakanishi H, Kodera Y, Mochizuki Y, Ito S, Koike M, Fujiwara M, Yamamura Y, Tatematsu M, Nakao A, Kato T. Intraoperative quantitative detection of CEA mRNA in the peritoneal lavage of gastric cancer patients with transcription reverse-transcription concerted (TRC) method. A comparative study with real-time quantitative RT-PCR. Anticancer Res. in press, 2007.
5. Ohno F., Nakanishi H., Abe A., Seki Y., Kinoshita A. Hasegawa Y., Tatematsu M., Kurita K. Regional difference in intratumoral lymphangiogenesis of oral squamous cell carcinomas evaluated by immunohistochemistry using D2-40 and podoplanin antibody. An analysis in comparison with angiogenesis. J. Oral Pathol. Med. in press, 2007.
6. Yokoyama H., Ikehara Y., Kodera Y., Ikehara S., Yatabe Y., Mochizuki Y., Koike M., Fujiwara M., Nakao A., Tatematsu M, Nakanishi H. Molecular basis for sensitivity and acquired resistance to gefitinib in HER2-overexpressing human gastric cancer cell lines derived from liver metastasis. Br. J. Cancer, 95:1504-13, 2006.
7. Yokoyama H., Nakanishi H., Kodera Y., Ikehara Y., Ohashi N., Ito Y., Koike M., Fujiwara M., Tatematsu M, Nakao A. Biological significance of isolated tumor cells and micrometastasis in lymph nodes evaluated using a green fluorescent protein (GFP)-tagged human gastric cancer cell line. Clin. Cancer Res., 12(2): 361-68, 2006.
8. Ikehara Y., Sato T., Niwa, T., Nakamura S., Gotoh M., Ikehara S, Kiyohara K., Aoki C., Iwai T., Nakanishi H., Hirabayashi J., Tatematsu M, Narimatsu H. Apical Golgi localization of N, N'- diacetyllactosidamine synthase, {beta}4GalNAc-T3, is responsible

- for LacdiNAc expression on gastric mucosa. *Glycobiology*, 16(9): 777-785, 2006.
9. Ikehara S.K, Ikehara Y., Matsuo K., Hirose K., Niwa T., Ito H., Ito S., Kodera Y., Yamamura Y., Nakanishi H., Tatematsu M., Tajima K. A polymorphism of C-to-T substitution at -31 IL1B is associated with the risk of advanced gastric adenocarcinoma in a Japanese population. *J. Hum. Genet.*, Sep 28, 2006.
 10. Kodera Y., Nakanishi H., Ito S., Mochizuki Y., Ohashi N., Yamamura Y., Fujiwara M., Koike M., Tatematsu M., Nakao A. Prognostic significance of intraperitoneal cancer cells in gastric carcinoma: Analysis of real time RT-PCR after 5 years of follow-up. *J. Am. Coll. Surg.*, 202: 231-236, 2006.
 11. Ito S., Nakanishi H., Kodera Y., Mochizuki Y., Tatematsu M., Yamamura Y., Prospective validation of quantitative CEA mRNA detection in peritoneal washes in gastric carcinoma patients. *Br. J. Cancer*, 93 (9) ; 986-92, 2005.
 12. Ohashi N, Kodera Y, Nakanishi H, Yokoyama H, Fujiwara M, Koike M, Hibi K, Nakao A, Tatematsu M. Efficacy of intraperitoneal chemotherapy with paclitaxel targeting peritoneal micrometastasis as revealed by GFP- tagged human gastric cancer cell lines in nude mice. *Int. J. Oncol.* 27(3): 637-44, 2005.
 13. Yamachika T, Nakanishi H, Yasui K, Ikehara Y, Niwa T, Wanibuchi H, Tatematsu M., Fukushima S. Establishment and characterization of a human colonic mucinous carcinoma cell line with predominant goblet-cell differentiation from liver metastasis. *Pathol Int.* 55(9): 550-7, 2005.
 14. Futamura N, Nakanishi H, Hirose H, Nakamura S, Tatematsu M. The effect of storage on the survival of cancer cells in blood and efficient elimination of contaminating cancer cells by a leukocyte depletion filter. *Am Surg.* 71(7): 585-90, 2005.
 15. Kodera Y, Nakanishi H, Ito S, Yamamura Y, Fujiwara M, Koike M, Hibi K, Ito K, Tatematsu M., Nakao A. Prognostic significance of intraperitoneal cancer cells in gastric carcinoma: detection of cytokeratin 20 mRNA in peritoneal washes, in addition to detection of carcinoembryonic antigen. *Gastric Cancer.* 8(3):142-8, 2005.
 16. Nakanishi H, Yasui K, Ikehara Y, Yokoyama H, Munesue S, Kodera Y, Tatematsu M. Establishment and characterization of three novel human gastric cancer cell lines with differentiated intestinal phenotype derived from liver metastasis. *Clin. Exp. Meta.* 22:137-147, 2005.
 17. Nakanishi H, Ito S, Mochizuki Y, Tatematsu M. Evaluation of chemosensitivity of micrometastases with green fluorescent protein gene-tagged tumor models in mice. *Methods Mol Med.* 111:351-62, 2005.
 18. Niwa T, Ikehara Y, Nakanishi H, Tanaka H, Inada K, Tsukamoto T, Ichinose M, Tatematsu M. Mixed gastric- and intestinal-type metaplasia is formed by cells with dual intestinal and gastric differentiation. *J Histochem Cytochem.* 53(1): 75-85, 2005.
 19. Nozaki K, Tanaka H, Ikehara Y, Cao X, Nakanishi H, Azuma T, Yamazaki S, Yamaoka Y, Shimizu N, Mafune K, Kaminishi M, Tatematsu M. Helicobacter pylori-dependent NF-kappa B activation in newly established Mongolian gerbil gastric cancer cell lines. *Cancer Sci.* 96(3):170-5, 2005.
 20. Mochizuki Y, Nakanishi H, Kodera Y, Ito S, Yamamura Y, Kato T, Hibi K, Akiyama S, Nakao A, Tatematsu M.: TNF-alpha promotes progression of peritoneal metastasis as demonstrated using a green fluorescence protein (GFP)-tagged human gastric cancer cell line. *Clin. Exp. Metastasis*, 21(1): 39-47, 2004.
 21. Nakanishi, H, Ito, S, Mochizuki, Y, Tatematsu.

- M.: Evaluation of chemosensitivity of micrometastases with green fluorescent protein-tagged tumor models in mice. In Chemosensitivity for Methods in Molecular Medicine [Blumenthal, R. D., ed.], Humana Press, Totowa, NJ. Vol 111: 351-362, 2004.
22. Nakanishi, H, Kodera, Y, Tatematsu, M.: Molecular method to quantitatively detect micrometastases and its clinical significance. (Review) In Advances in Clinical Chemistry [Makowski G, ed.], Elsevier, Amsterdam, Netherlands, Vol 38: 87-103, 2004.
 23. Tsukamoto, T, Inada, K., Tanaka, H., Mizoshita, T., Mihara, M., Ushijima, T., Yamamura, Y., Nakamura, S., Tatematsu, M.: Down regulation of a gastric transcription factor, Sox2, and ectopic expression of intestinal homeobox genes, Cdx1 and Cdx2: Inverse correlation during progression from gastric/intestinal-mixed to complete intestinal metaplasia. J Cancer Res Clin Oncol, 130: 135-145, 2004.
 24. Tatematsu, M., Tsukamoto, T., Inada, K. : Stem cells and gastric cancer : Role of gastric and intestinal mixed intestinal metaplasia. Gann Monograph on Cancer Research 52, 2004,
 25. Kaneda, A., Wakazono, K., Tsukamoto, T., Watanabe, N., Yagi, Y., Tatematsu, M., Kaminishi, : Lysyl oxidase is a tumor suppressor gene inactivated by methylation and loss of heterozygosity in human gastric cancers. Cancer Research. 64: 6410-6415, 2004,
 26. Hirata, A., Inada, K., Tsukamoto, T., Sakai, H., Mizoshita, T., Yanai, T., Masegi, T., Goto, H., Inagaki, M., Tatematsu, M. :Characterization of a Monoclonal Antibody, HTA28, Recognizing a Histone H3 Phosphorylation Site as a Useful Marker of M-phase Cells. Journal of Histochemistry&Cytochemistry. 52(11): 1503-1509, 2004,
 27. Yoshitomi Y, Nakanishi H, Kusano Y, Munesue S, Oguri K, Tatematsu M, Yamashina I, Okayama M.: Inhibition of experimental lung metastases of Lewis lung carcinoma cells by chemically-modified heparin with reduced anti-coagulant activity. Cancer Letters, 207(2): 165-74, 2004.
 28. Kaneda, A., Tsukamoto, T., Takamura-Enya, T., Watanabe, N., Kaminishi, M., Sugimura, T., Tatematsu, M., Ushijima, T.: Frequent hypomethylation in multiple promoter CpG islands is associated with global hypomethylation, but not with frequent promoter hypermethylation. Cancer Sci, 95(1): 58-64, 2004.
 29. Karnan, S., Tagawa, H., Suzuki, R., Suguro, M., Yamaguchi, M., Okamoto, M., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Analysis of chromosomal imbalances in *de novo* CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma detected by comparative genomic hybridization. Genes Chromosomes Cancer, 39: 77-81, 2004.
 30. Tagawa, H., Karnan, S., Kasugai, Y., Tuzuki, S., Suzuki R., Hosokawa, Y., Seto, M.: MASL1, a candidate oncogene found in amplification at 8p23.1, is translocated in immunoblastic B-cell lymphoma cell line OCI-LY8. Oncogene, 23: 2576-2581, 2004.
 31. Ota, A., Tagawa, H., Karnan, S., Suzuki, Y., Karpas, S., Kira, S., Yoshida, Y., Seto, M.: Identification and characterization of a novel gene, C13orf25, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma. Cancer Res., 64: 3084-3095, 2004.
 32. Hosokawa, Y., Suzuki, H., Suzuki, Y., Takahashi, R., Seto, M.: Anti-apoptotic function of API2-MALT1 fusion protein involved in t(11;18)(q21;q21) MALT lymphoma. Cancer Res., 64: 3452-3457, 2004.
 33. Tagawa, H., Tsuzuki, S., Suzuki, R., Karnan, S., Ota, A., Matsuo, K., Yamaguchi, M., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Genome-wide array-based comparative genomic hybridization of

- diffuse large B-cell lymphoma: comparison between CD5-positive and CD5-negative cases. *Cancer Res.*, 64: 5948-5955, 2004.
34. Tsuzuki, S., Seto, M., Greaves, M., Enver, T.: Modeling first-hit functions of the t(12;21) TEL-AML1 translocation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 101: 8443-8448, 2004.
 35. Seto, M.: Genetic and epigenetic factors involved in B-cell lymphomagenesis. *Cancer Sci.*, 95: 704-710, 2004.
 36. Kameoka, Y., Tagawa, H., Tsuzuki, S., Karnan, S., Ota, A., Suguro, M., Suzuki, R., Yamaguchi, M., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Contig array CGH at 3p14.2 points to the FRA3B/FHIT common fragile region as the target gene in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncogene*, 23: 9148-9154, 2004.
 37. Zhang, X., Karnan, S., Tagawa, H., Suzuki, R., Tsuzuki, S., Hosokawa, Y., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Comparison of genetic aberrations in CD10⁺ diffused large B-cell lymphoma and follicular lymphoma by comparative genomic hybridization and tissue-fluorescence in situ hybridization. *Cancer Sci.*, 95: 809-814, 2004.
 38. Hosokawa, Y., Seto, M.: Nuclear factor kB activation and antiapoptosis in mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Int. J. Hematol.* 80: 215-223, 2004.
 39. Inagaki, H., Nakamura, T., Chunmei, Li., Sugiyama, T., Asaka, M., Kodaira, J., Iwano, M., Chiba, T., Okazaki, K., Kato, A., Ueda, R., Eimoto, T., Okamoto, S., Sasaki, N., Uemura, N., Akamatsu, T., Miyabayashi, H., Kawamura, Y., Goto, H., Niwa, Y., Yokoi, T., Seto, M., Nakamura, S.: Gastric MALT lymphomas are divided into three groups based on responsiveness to Helicobacter Pylori eradication and detection of API2-MALT1 Fusion. *Am. J. Surg. Pathol.*, 28: 1560-1567, 2004.
 40. Tagawa, H., Karnan, S., Suzuki, R., Matsuo, K., Zhang, X., Ota, A., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Genome-wide array-based CGH for mantle cell lymphoma: Identification of homozygous deletions of the proapoptotic gene BIM. *Oncogene*, 24: 1348-1358, 2005.
 41. Fujii, A., Oshima, K., Hamasaki, M., Utsunomiya, H., Okazaki, M., Kagami, Y., Seto, M., Kikuchi, M.: Differential expression of cytokines, chemokines and their receptors in follicular lymphoma and reactive follicular hyperplasia: Assessment by complementary DNA microarray. *Oncol. Rep.*, 13: 819-824, 2005.
 42. Tagawa, H., Suguro, M., Tsuzuki, S., Matsuo, K., Karnan, S., Ohshima, K., Okamoto, M., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*, 106:1770-1777, 2005.
 43. Nakashima, Y., Tagawa, H., Suzuki, R., Karnan, S., Karube, K., Ohshima, K., Muta, K., Nawata, H., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Genome-wide array-based comparative genomic hybridization of Natural killer cell lymphoma/leukemia: Different genomic alteration patterns of aggressive NK-cell leukemia and extranodal NK/T lymphoma, Nasal type. *Genes Chrom. Cancer*, 44: 247-255, 2005.
 44. Tagawa, H., Seto, M.: A microRNA cluster as a target of genomic amplification in malignant lymphoma. *Leukemia*, 19: 2013-2016, 2005.
 45. Sawa, M., Yamamoto, K., Yokozawa, T., Kiyoi, H., Hishida, A., Kajiguchi, T., Seto, M., Kohno, A., Kitamura, K., Itoh, Y., Asou, N., Hamajima, N., Emi, N., Naoe, T.: BMI-1 is highly expressed in M0-subtype acute myeloid leukemia. *Int. J. Hematol.*, 82:42-47, 2005.

46. Nakagawa, M., Hosokawa, Y., Yonezumi, M., Izumiya, K., Suzuki, R., Tsuzuki, S., Asaka, M., Seto, M.: MALT1 contains nuclear export signals and regulates cytoplasmic localization of BCL10. *Blood*, 106:4210-4216, 2005.
47. Kasugai, Y., Tagawa, H., Kameoka, Y., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Identification of CCND3 and BYSL as candidate targets for the 6p21 amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Clin. Cancer Res.*, 11:8265-8272, 2005.
48. Karnan, S., Tsuzuki, S., Kiyoi, H., Tagawa, H., Ueda, R., Seto, M., Naoe, T.: Genomewide array-based comparative genomic hybridization analysis of acute promyelocytic leukemia. *Genes Chrom. Cancer*, 45:420-425, 2006.
49. Oshiro, A., Tagawa, H., Ohshima, K., Karube, K., Uike, N., Tashiro, Y., Utsunomiya, A., Masuda, M., Takasu, N., Nakamura, S., Morishima, Y., Seto, M.: Identification of subtype-specific genomic alterations in aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*, 107:4500-4507, 2006.
50. Fukuhara, N., Tagawa, H., Kameoka, Y., Kasugai, Y., Karnan, S., Kameoka, J., Sasaki, T., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Characterization of target genes at the 2p15-16 amplicon in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Sci.*, 97:499-504, 2006.
51. Suguro, M., Tagawa, H., Kagami, Y., Okamoto, M., Ohshima, K., Shiku, H., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Expression profiling analysis of the CD5(+) diffuse large B-cell lymphoma subgroup: Development of a CD5 signature. *Cancer Sci.*, 97:868-874, 2006.
52. Nakagawa, M., Seto, M., Hosokawa, Y.: Molecular pathogenesis of MALT lymphoma: two signaling pathways underlying the antiapoptotic effect of API2-MALT1 fusion protein. *Leukemia*. 20: 929-936, 2006.
53. Karube, K., Guo, Y., Suzumiya, J., Sugita, Y., Nomura, Y., Yamamoto, K., Shimizu, K., Yoshida, S., Komatani, H., Takeshita, M., Kikuchi, M., Nakamura, N., Takasu, O., Arakawa, F., Tagawa, H., Seto, M., Ohshima, K.: CD10(-) MUM1(+) follicular lymphoma lacks BCL2 translocation and shows characteristic biological and clinical features. *Blood*, 2006. in press
54. Nagai H, Sugito N, Matsubara H, Tatematsu Y, Hida, T, Sekido Y, Nagino M, Nimura Y, Takahashi T, and Osada H. CLCP1 interacts with semaphoring 4B and regulates motility of lung cancer cells. *Oncogene* (in press)
55. Taniguchi T, Karnan S, Fukui T, Yokoyama T, Tagawa H, Yokoi K, Ueda Y, Mitsudomi T, Horio Y, Hida T, Yatabe Y, Seto M, and Sekido Y. Genomic profiling of malignant pleural mesothelioma with array-based comparative genomic hybridization shows frequent nonrandom chromosomal alteration regions including *JUN* amplification on 1p32. *Cancer Sci* 98 : 438-46, 2007.
56. Sato N, Fukui T, Taniguchi T, Yokoyama T, Kondo M, Nagasaka T, Goto Y, Gao W, Ueda Y, Yokoi K, Minna J.D, Osada H, Kondo Y, and Sekido Y. RHOB is frequently downregulated in non-small-cell lung cancer and resides in the 2p24 homozygous deletion region of a lung cancer cell line. *Int J Cancer* 120 : 543-51, 2006.
57. Yokoyama T, Kondo M, Goto Y, Fukui T, Yoshioka H, Yokoi K, Osada H, Imaizumi K, Hasegawa Y, Shimokata K, and Sekido Y. *EGFR* point mutation in non-small cell lung cancer is occasionally accompanied by a second mutation or amplification. *Cancer Sci* 97:753-9, 2006.
58. Maeda O, Kondo M, Fujita T, Usami N, Fukui

- T, Shimokata K, Ando T, Goto H, and Sekido Y. Enhancement of GLI1-transcriptional activity by beta-catenin in human cancer cells. *Oncol Rep* 16: 91-6, 2006.
59. Usami N, Fukui T, Kondo M, Taniguchi T, Yokoyama T, Mori S, Yokoi K, Horio Y, Shimokata K, Sekido Y, and Hida T. Establishment and characterization of four malignant pleural mesothelioma cell lines from Japanese patients. *Cancer Sci* 97:387-94, 2006.
 60. Takeuchi T, Tomida S, Yatabe Y, Kosaka T, Osada H, Yanagisawa K, Mitsudomi T and Takahashi T. Expression profile-defined classification of lung adenocarcinoma shows close relationship with underlying major genetic changes and clinicopathologic behaviors. *J Clin Oncol* 24 : 1679-88, 2006.
 61. Maeno K, Masuda A, Yanagisawa K, Konishi H, Osada H, Saito T, Ueda R, and Takahashi T. Altered regulation of c-jun and its involvement in anchorage-independent growth of human lung cancers. *Oncogene* 25: 271-7, 2006.
 62. Osada H, Tatematsu Y, Yatabe Y, Horio Y, and Takahashi T. The ASH1 gene is a specific therapeutic target for lung cancers with neuroendocrine features. *Cancer Res* 65: 10680-5, 2005
 63. Osada H, Hayashita Y, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, Yasushi Yatabe Y, Kawahara K, Sekido Y, and Takahashi T. A polycistronic miRNA cluster, *miR-17-92*, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res* 65: 9628-32, 2005.
 64. Osada H, Tatematsu Y, Sugito N, Horio Y, and Takahashi T. Histone modification in the TGF β RII gene promoter and its significance for responsiveness to HDAC inhibitor in lung cancer cell lines. *Mol Carcinog* 44: 233-41, 2005.
 65. Anumanthan G, Halder SK, Osada H, Takahashi T, Massion PP, Carbone DP, Datta PK. Restoration of TGF-beta signalling reduces tumorigenicity in human lung cancer cells. *Br J Cancer* 93: 1157-67, 2005.
 66. Karube Y, Tanaka H, Osada H, Tomida S, Tatematsu Y, Yanagisawa K, Yatabe Y, Takamizawa J, Miyoshi, S, Mitsudomi, T, and Takahashi, T. Reduced expression of *Dicer* associated with poor prognosis in lung cancer patients. *Cancer Sci* 96: 111-5, 2005.
 67. Osada H, Tatematsu Y, Saito H, Yatabe Y, Mitsudomi T, and Takahashi T. Reduced expression of class II HDAC genes are associated with poor prognosis in lung cancer patients. *Int J Cancer* 112: 26-32, 2004.
 68. Endoh H, Tomida S, Yatabe Y, Konishi H, Osada H, Tajima K, Kuwano H, Takahashi T, and Mitsudomi T. Prognostic model of pulmonary adenocarcinoma by expression profiling of eight genes as determined by quantitative real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J Clin Oncol* 22: 811-9, 2004.
 69. Tomida S, Koshikawa K, Yatabe Y, Harano, T Ogura, N Mitsudomi T, Some M, Takahashi T, Osada H, and Takahashi T. Gene expression-based, individualized outcome prediction for surgically treated lung cancer patients. *Oncogene* 23: 5360-70, 2004.
 70. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, and Takahashi T. Reduced expression of the *let-7* microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 64: 3753-6, 2004.
 71. Nakagawa T, Hayashita Y, Maeno K, Masuda A, Sugito, N, Osada H, Yanagisawa K, Shimokata K, and Takahashi T. Identification of

- Decatenation G2 Checkpoint Impairment Independently of DNA Damage G2 Checkpoint in Human Lung Cancer Cell Lines. *Cancer Res* 64: 4826-32, 2004.
72. Yasui, Y., Urano, T., Kawajiri, A., Nagata, K., Tatsuka, M., Saya, H., Furukawa, K., Takahashi, T., Izawa, I. and Inagaki, M. Autophosphorylation of newly identified site of Aurora-B is indispensable for cytokinesis. *J.Biol.Chem.* 279: 12997-13003, 2004.
73. Yoneda, K., Furukawa, T., Zheng, Y.J., Momoi, T., Izawa, I., Inagaki, M., Manabe, M. and Inagaki, N. An autocrine/paracrine loop linking keratin 14 aggregates to tumor necrosis factor alpha-mediated cytotoxicity in a keratinocyte model of epidermolysis bullosa simplex. *J.Biol.Chem.* 279: 7296-7303, 2004
74. Hanai, N., Nagata, K., Kawajiri, A., Shiromizu, T., Saitoh, N., Hasegawa, Y., Murakami, S. and Inagaki, M. Biochemical and cell biological characterization of a mammalian septin, Sept11. *FEBS Letter*, 568: 83-88, 2004.
75. Takami, A., Iwakubo, M., Okada, Y., Kawata, T., Odai, H., Takahashi, N., Shindo, K., Kimura, K., Tagami, Y., Miyake, M., Fukushima, K., Inagaki, M., Amano, M., Kaibuchi, K. and Iijima, H. Design and synthesis of Pho kinase inhibitors (I). *Bioorg. Med. Chem.* 12: 2115-2137, 2004.
76. Hirata, A., Inada, K., Tsukamoto, T., Sakai, H., Mizoshita, T., Yanai, T., Masegi, T., Goto, H., Inagaki, M. and Tatematsu, M. Characterization of a monoclonal antibody, HTA28, recognizing a histone H3 phosphorylation site as a useful marker of M-phase cells. *J. Histochem Cytochem.* 52: 1503-1509, 2004.
77. Nagata, K., Asano, T., Nozawa, Y. and Inagaki, M. Biochemical and cell biological analyses of a mammalian septin complex, Sept7/9b/11. *J.Biol.Chem.* 279: 55895-55904, 2004
78. Abe, T., Takano, K., Suzuki, A., Shimada, Y., Inagaki, M., Sato, N., Obinata, T. and Endo, T. Myocyte differentiation generates nuclear invaginations traversed by myofibrils associating with sarcomeric protein mRNAs. *J.Cell Sci.* 117: 6523-6534, 2004
79. Fujita, M., Mizuno, M., Nagasaka, T., Wakabayashi, T., Maeda, K., Ishii, D., Arima, T., Kawajiri, A., Inagaki, M. and Yoshida, J. Aurora-B dysfunction of multinucleated giant cells in glioma detected by site-specific phosphorylated antibodies. *J. Neurosurg.* 101: 1012-1017, 2004.
80. Kawajiri, A. and Inagaki, M. Approaches to study phosphorylation of intermediate filament proteins using site-specific and phosphorylation state-specific antibodies. *Methods in Cell Biol.* 78: 353-371, 2004.
81. Nagata, K. and Inagaki, M. Cytoskeletal modification of Rho guanine nucleotide exchange factor activity: identification of a Rho guanine nucleotide exchange factor as a binding partner for Sept9b, a mammalian septin. *Oncogene* 24: 65-76, 2005.
82. 11. Nishizawa, M., Izawa, I., Inoko, A., Hayashi, Y., Nagata, K., Yokoyama, T., Usukura, J. and Inagaki, M. Identification of trichoplein, a novel keratin filament-binding protein. *J.Cell Sci.* 118: 1081-1090, 2005.
83. Yokoyama, T., Goto, H., Izawa, I., Mizutani, H. and Inagaki, M. Aurora-B and Rho-kinase/ROCK, the two cleavage furrow kinases, independently regulate the progression of cytokinesis: possible existence of a novel cleavage furrow kinase phosphorylates ezrin/radixin/moesin (ERM). *Genes Cells* 10: 127-137, 2005.
84. Tsui, J., Inagaki, M. and Schulman, H. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) localization acts in concert with substrate targeting to create spatial restriction

- for phosphorylation. *J.Biol.Chem.* 280: 9210-9216, 2005.
85. Dyson, M.H., Thomson, S., Inagaki, M., Goto, H., Arthur, S.J., Nightingale, K., Iborra, F.J. and Mahadevan, L.C. MAP kinase-mediated phosphorylation of distinct pools of histone H3 at S10 or S28 via mitogen- and stress-activated kinase 1/2. *J. Cell Sci.* 118: 2247-2259, 2005.
 86. Stefanovic, S., Windsor, M., Nagata, K., Inagaki, M. and Wileman, T. Vimentin rearrangement during African swine fever virus infection involves retrograde transport along microtubules and phosphorylation of vimentin by calcium calmodulin kinase II. *J. Virol.* 79: 11766-11775, 2005.
 87. Arimura, N., Ménager, C., Kawano, Y., Yoshimura, T., Kawabata, S., Hattori, A., Fukata, Y., Amano, M., Goshima, Y., Inagaki, M., Morone, N., Usukura, J. and Kaibuchi, K. Phosphorylation by Rho kinase regulates CRMP-2 activity in growth cones. *Mol. Cell Biol.* 25: 9973-9984, 2005.
 88. Yamaguchi, T., Goto, H., Yokoyama, T., Silljé, H., Hanisch, A., Uldschmid, A., Takai, Y., Oguri, T., Nigg, E.A. and Inagaki, M. Phosphorylation by Cdk1 induces Plk1-mediated vimentin phosphorylation during mitosis. *J. Cell Biol.* 171: 431-436, 2005.
 89. Ono, R., Ihara, M., Nakajima, H., Ozaki, K., Kataoka-Fujiwara, Y., Taki, T., Nagata, K., Inagaki, M., Yoshida, N., Kitamura, T., Hayashi, Y., Kinoshita, M. and Nosaka, T. Disruption of Sept6, a fusion partner gene of MLL, does not affect ontogeny, leukemogenesis induced by MLL-SEPT6, or phenotype induced by the loss of Sept4. *Mol. Cell Biol.* 25: 10965-10978, 2005.
 90. Ivaska, J., Vuoriluoto, K., Huovinen, T., Izawa, I., Inagaki, M. and Parker, P.J. PKCepsilon-mediated phosphorylation of vimentin controls integrin recycling and motility. *EMBO J.* 24: 3834-3845, 2005.
 91. Izawa, I. and Inagaki, M. Cleavage furrow kinases and cell division. *Signal Transduction of Cell Division.* 73-92, 2005.
 92. Goto, H., Kiyono, T., Tomono, Y., Kawajiri, A., Urano, T., Furukawa, K., Nigg, E.A. and Inagaki, M. Complex formation of Plk1 and INCENP required for metaphase-anaphase transition. *Nat. Cell Biol.* 8: 180-187, 2006.
 93. Izawa, I. and Inagaki, M. Regulatory mechanisms and functions of intermediate filaments: A study using site- and phosphorylation state-specific antibodies. *Cancer Sci.* 97: 167-174, 2006.
 94. Shiromizu, T., Goto, H., Tomono, Y., Bartek, J., Totsukawa, G., Inoko, A., Nakanishi, M., Matsumura, F. and Inagaki, M. Regulation of mitotic function of Chk1 through phosphorylation at novel sites by cyclin-dependent kinase 1 (Cdk1). *Genes Cells* 11: 477-485, 2006.
 95. Oguri, T., Inoko, A., Shima, H., Izawa, I., Arimura, N., Yamaguchi, T., Inagaki, N., Kaibuchi, K., Kikuchi, K. and Inagaki, M. Vimentin-Ser82 as a memory phosphorylation site in astrocytes. *Genes Cells* 11: 531-540, 2006.
 96. Goto, H., Kiyono, T. and Inagaki, M.: Functional analyses for site-specific phosphorylation of a target protein in cells. *Nature Protocols* in press.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- 出願特許
1. びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫(DLBCL)の予後不良グループ CD5 マーカー陽性 DLBCL に特徴的なゲノム異常領域マーカーに関する特許 (米国出願)
発明の名称 : Type of Lymphoma and

Method for Prognosis the Lymphoma

発明者：瀬戸加大(愛知県がんセンター)、田川博之(愛知県がんセンター)、吉田安子(日本ガイシ㈱)

出願人：愛知県、日本ガイシ㈱

出願日：2004年9月22日

国際特許分類：C12Q 1/68：公開番号：WO 05/028648 (<http://www.wipo.int/ipdl/en/>)

2. 発明の名称：リンパ腫の病型および予後診断方法

出願番号：PCT/JP2004/014305

発明者：瀬戸加大(愛知県がんセンター)、田川博之(愛知県がんセンター)、吉田安子(日本ガイシ㈱)

出願人：愛知県、日本ガイシ㈱

出願日：2004年9月22日

国際特許分類：C12N 15/11

3. マントル細胞リンパ腫に関する特許

発明の名称：悪性リンパ腫の診断及び予後診断の方法

出願番号：PCT/JP2005/022316

発明者：瀬戸加大(愛知県がんセンター)、田川博之(愛知県がんセンター)、吉田安子(日本ガイシ㈱)

出願人：愛知県、日本ガイシ㈱

出願日：2005年12月5日

国際特許分類：C12N 15/09：公開番号：WO 06/059769 (<http://www.wipo.int/ipdl/en/>)

4. DLBCL の subtype である ABC 型(予後不良群)と GCB 型(予後良好群)分離アレイ CGH

発明の名称：びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の病型の診断方法及び予後診断の方法

出願番号：PCT/JP2006308235

発明者：瀬戸加大(愛知県がんセンター)、田川博之(愛知県がんセンター)、吉田安子(日本ガイシ㈱)

出願日：2006年4月19日

未公開

5. DLBCL と MCL、あるいは DLBCL subtype である ABC 型と GCB 型の判別方法及び解析方法

発明の名称：生物体のタイプを判別するためのマーカーの選択方法及び選択されたマーカーの利用

出願番号：特願2006-229798

発明者：瀬戸加大(愛知県)、竹内一郎(三重大学)、吉田安子(日本ガイシ)

出願日：2006年8月25日

出願人：愛知県、三重大学、日本ガイシ㈱

6. 出願番号：特願2004-288979

出願日：2004年9月30日

発明の名称：肺癌治療剤

出願人：愛知県

発明者：長田 啓隆、高橋 隆、谷田部 恭