

分担研究報告書

Helicobacter pylori(HP)関連胃炎の経過における胃粘膜 DNA メチル化レベルと発がんリスクの検討

分担研究者 柳岡 公彦 和歌山県立医科大学第二内科 講師

研究要旨

職域検診受診集団におけるコホート、あるいは分担研究者らの施設を受診した胃癌患者を対象に胃粘膜および胃腫瘍組織 DNA メチル化レベルと胃癌発生・進展との関係を我が国の胃癌発症のメインルートである *H.pylori* 感染、他の疫学因子との関連で検討する事によって、DNA メチル化の変化を胃癌発生の自然史との関連で、胃癌ハイリスク群の設定、あるいは個人の胃癌発生リスクの予測の可能性が強く示唆された。

A. 研究目的

これまでの疫学的研究および臨床研究の結果は、血清 PG 検査による胃癌高危険群囲い込みの戦略が正しいことを強く示唆する。本研究はヒトの胃癌発生過程における DNA メチル化変化の役割・意義を科学的に検討すると共に、胃癌発生の観点から長期予後予測のマーカーとなり得るかを検討する事を目的とする。

B. 研究方法

職域逐年胃癌検診集団を対象に、胃内視鏡検査時に採取した生検材料を用いて胃粘膜 DNA を抽出、癌抑制遺伝子領域を中心に DNA メチル化について分析を行い、*H.pylori* 関連胃炎の活動度および萎縮性胃炎のステージなどの病理組織学的指標、胃癌発生率との関連で検討を行なう。分担研究者らは、これまでの観察研究の結果、血清ペプシノゲン、抗 *H.pylori* 抗体などの血液マーカーを駆使して、胃癌ハイリスクと考えられる集団を設定しているが、DNA メチル化を指標として組み込む事により更にハイリスクな集団の同定が可能かについて検討した。

(倫理面への配慮)

データについては、個人情報厳重管理下に置くように留意する。検診の検体について検診項目以外の解析に利用する事についてはあらかじめ了解を得て行う。胃癌症例での生検検体の採取に関しては、全て学内の倫理委員会での検討を経て研究実施へ至る手続きを踏みながら、informed consent を得て施行した。

C. 研究結果

胃粘膜 DNA メチル化異常の程度（メチル化レベル）を加味することで、さらなる胃癌高危険群の絞り込みが可能であるかを検討した。健常ボランティア 63 名を対象とし、血清ペプシノゲン(PG)

I,II と、血清 HP IgG 抗体価を測定した。対象をそれぞれ、A 群 HP(-)PG(-), B 群 HP(+)PG(-), C 群 HP(+)PG(+), D 群 HP(-)PG(+) の 4 群に分類した。内視鏡生検により胃粘膜検体を採取し、定量的メチル化特異的 PCR によりメチル化レベル測定し、各群間で比較した。今回解析した全ての遺伝子領域で、A 群 < B 群 < C 群の順に、DNA メチル化異常が蓄積する傾向があった。HP IgG 抗体価とメチル化レベルには正の相関がみられ、PG I/II とメチル化レベルには負の相関が認められた。

D. 考察

今回の解析により、B 群と C 群ではメチル化レベルにばらつきがあり、DNA メチル化異常の蓄積と PG 法による胃癌リスク評価は、それぞれ独立したパラメータであると考えられた。両者を併用することにより、胃癌高危険群のさらなる絞り込みが行える可能性が示唆された。

E. 結論

胃癌高危険群をより具体化することで、効率的なスクリーニングシステム構築、発生予防戦略の具体的構築、効率化に貢献すると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表.

本研究費に密接に関係するもの

1. Mukoubayashi C, Yanaoka K, Ohata H, Arii K, Tamai H, Oka M and Ichinose M. Serum pepsinogen and gastric cancer screening. Internal Medicine, 46: 261-266, 2007.
2. Yanaoka K, Oka M, Yoshimura N, Mukoubayashi C, Enomoto S, Iguchi M, Magari H, Utsunomiya H, Tamai H, Arii K, Yamamichi N, Fujishiro M, Takeshita T, Mohara O and Ichinose M. Risk of

gastric cancer in asymptomatic, middle-aged Japanese subjects based on serum pepsinogen and *Helicobacter pylori* antibody levels. International Journal of Cancer, in press.

3. Yanaoka K, Oka M, Mukoubayashi C, Yoshimura N, Enomoto S, Iguchi M, Magari H, Utsunomiya H, Tamai H, Arii K, Ohata H, Fujishiro M, Takeshita T, Mohara O and Ichinose M. Cancer high-risk subjects identified by serum pepsinogen tests outcomes after 10-year follow-up in asymptomatic middle-aged males. Cancer Epidemiology, Biomarker & Prevention, in press.

2.学会発表

1. Yanaoka K, Deguchi H, Mukoubayashi C, Magari H, Inoue I, Iguchi M, Ohata H, Tamai H, Arii K, Oka M, Mohara O and Ichinose M. Can Eradication of *Helicobacter pylori* inhibit the Development of Gastric Cancer? Observation based on a 10-year

follow-up for the development of gastric cancer in subjects with *Helicobacter pylori* infection. Digestive Disease Week, May, Washington DC, USA, 2007.

2. 柳岡公彦、出口久暢、一瀬雅夫 *Helicobacter pylori* 感染における胃癌発生の10年間の疫学的検討-自然経過から胃癌発生と除菌後の胃癌発生との比較- 第93回日本消化器病学会総会 2007年4月
3. 前北隆雄、中沢和之、柳岡公彦 萎縮性胃炎進展とDNAメチル化異常を用いた胃がんリスク診断の可能性 第15回JDDW 第74回日本消化器内視鏡学会総会 2007年10月

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
該当無し

分担研究報告書

胆膵領域のがん診断における epigenetic molecular marker の有用性

分担研究者 松林宏行 静岡県立静岡がんセンター内視鏡科 医長

研究要旨

膵胆道系腫瘍の早期診断を目的として、そのハイリスク群或は前駆病変から発癌までの過程における各種遺伝子のメチル化を幅広く検索し、膵癌診断用・胆道癌診断用のメチル化マーカーprofileを作成する。また実際に、膵液・胆汁あるいは組織検体におけるDNAメチル化の検索が臨牀的にハイリスク群の絞り込みや癌診断に寄与するかを検討する。

A. 研究目的

臨床医療に役立つ膵胆道系腫瘍性病変のメチル化マーカーを検索する。

B. 研究方法

膵液・胆汁・膵胆管組織検体等を用い、実際に臨床検体におけるメチル化マーカーの検索が臨床医療（例えばハイリスク群の経過観察や癌の早期診断）に寄与するかを検討する。メチル化マーカーの候補遺伝子の拾い上げには GeneChip を用い、癌細胞株に脱メチル化剤(5Aza-dc)の付加前後で発現が5~10倍回復している遺伝子群を絞り込む。

(倫理面への配慮)

一部他大学からのサンプル提供も含まれ、同大学の承認を得る形で進める可能性もあるが、臨床検体を用いた研究は静岡県立がんセンターにおける倫理審査の承認を得る。患者の個人情報漏れない様に十分な配慮を促す。

C. 研究結果

現段階ではまだ倫理審査中である。

D. 考察

現段階ではまだ倫理審査中である。

E. 結論

現段階ではまだ倫理審査中である。

F. 健康危険情報

現段階ではまだ倫理審査中である。

G. 研究発表

1. 論文発表

本研究費に謝辞があるもの

なし

本研究費に密接に関係するもの

なし

2. 学会発表

1. 松林宏行, 他. 家族性膵癌家系におけるEUS, CTによる経過観察と膵液中メチル化マーカー検索の試み第13回家族性腫瘍学会学術集会 一般演題 平成19年6月15日 高知市文化プラザ かるぼーと高知

2. 松林宏行, 他. 膵癌の早期診断を目的としたハイリスク群の経過観察と膵液中DNAメチル化検索の試み 第52回日本人類遺伝学会大会 一般演題 平成19年9月13日 新宿京王プラザホテル

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

分担研究報告書

DNA 低メチル化の胃腫瘍発生への影響

分担研究者 山田泰広 岐阜大学大学院医学研究科腫瘍病理 講師

研究要旨

DNA メチル化を伴うがん抑制遺伝子のサイレンシングは、様々ながんで報告され、脱メチル化剤の臨床応用が注目されている。一方で、グローバルな低メチル化はゲノムの不安定性を引き起こし、発がんに促進的に働くことが明らかになりつつある。本研究では、DNA 低メチル化マウスを用いて、グローバルな DNA 低メチル化が胃腫瘍発生に及ぼす影響を検討した。DNA 低メチル化は二つの異なる胃発がんモデルにおいて、胃腫瘍発生を強く抑制した。以上の結果より、グローバルな DNA 低メチル化状態は、大腸と同様に、胃においても腫瘍形成抑制的に作用することが確認された。これらの結果は、DNA メチル化修飾が胃がん発生の予防および治療に応用可能であることを示唆するものと考えられる。

A. 研究目的

マウスモデルを用いて、グローバルな DNA 低メチル化による胃発がん過程に及ぼす影響とそのメカニズムを検索し、胃がんにおける脱メチル化剤の臨床応用への可能性を検討する。

B. 研究方法

DNA 低メチル化の胃発がんへの影響を、動物モデルを用いて検討した。グローバルな DNA 低メチル化のモデルマウスとして、DNA メチル化維持に必須である Dnmt1 の hypomorphic allele を持つマウスを使用した。胃発がんモデルは、化学発がん物質を用いたモデルと同時に、ApcMin マウスにおける自然発症モデルを使用した。

実験①5 週齢の DNA 低メチル化マウス(Dnmt1 chip/c マウス)およびコントロールマウス (Dnmt1 chip/+マウス) に、胃化学発がん物質 MNU(240 ppm) を、1 週間経口投与、以降隔週で計 5 回投与し、52 週齢での胃腫瘍形成を検索した。

実験②申請者らは、家族性大腸腺腫症のモデルマウスである Min マウスに胃腫瘍が発生することを見だし、Wnt pathway 活性化が胃発がんにおいて重要な役割を示した。低メチル化(Dnmt1 chip/c)マウスと Min マウスを交配し、Apc Min allele を持つ低メチル化マウスおよびコントロールマウスを作製した。マウスは 30-32 週齢で屠殺し、胃腫瘍形成を検索した。

実験①②それぞれにおいて、組織切片を作製し、HE 染色による形態変化の検索し、同時に免疫染色に

て、低メチル化による胃多段階発がんへの修飾を分子病理学的に検討した。細胞増殖能の検討は、Ki67 免疫染色にて行った。細胞分化の検討では、固有胃腺、幽門腺、粘液、腸上皮の分化マーカーとして、それぞれ MUC5AC 免疫染色、MUC6 免疫染色、PAS-AB 組織化学染色、Villin 染色を行い、DNA 低メチル化マウスおよび野生型マウスでの分化状態の変化を検討した。

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は、岐阜大学動物実験委員会の承認を得た。動物愛護に配慮した実験施行する。

C. 研究結果

実験①MNU による胃化学発がんモデルでの胃腫瘍発生数(mean ± s.d.)は、DNA 低メチル化(Dnmt1 chip/c)マウスで 1.61 ± 1.37 (n=18)、コントロール(Dnmt1 chip/+)マウスで 3.54 ± 1.61 (n=24)であり、DNA 低メチル化は胃腫瘍発生を強く抑制した(p<0.001)。

実験②DNA 低メチル化状態の家族性大腸腺腫症モデルマウスにおいても腫瘍発生数は、DNA 低メチル化(Dnmt1 chip/c)マウスで 0.15 ± 0.37 (n=13)、コントロール(Dnmt1 chip/+)マウスで 0.72 ± 0.76 (n=22)と胃腫瘍形成が抑制されることが明らかとなった(p<0.03)。

実験①②いずれにおいても、組織学的検索において、DNA 低メチル化マウス及び野生型マウスに発生した胃腫瘍は、それぞれ組織形態に明らかな違いは確認されなかった。また、Ki67 免疫染色による細胞増殖活性の検討でも、低メチル化マウス、コントロ

ールマウスに発生した腫瘍に明らかな差異は検出されなかった。さらに細胞分化の検討でも DNA 低メチル化マウス及び野生型マウスに明らかな違いは確認されなかった。

D. 考察

グローバルな DNA 低メチル化状態は、大腸と同様に、胃においても腫瘍形成抑制的に作用することが明らかとなった。これらの結果は、DNA メチル化修飾が胃がん発生の予防および治療に応用可能であることを示唆するものと考えられる。現在のところ、DNA 低メチル化による胃腫瘍形成の抑制メカニズムは明らかでない。その抑制メカニズムを明らかにすべく、分子生物学的手法を用いた検索を行っている。

E. 結論

グローバルな DNA 低メチル化状態は、胃腫瘍形成を抑制することが明らかとなった。

F. 研究発表

1.論文発表

本研究費に謝辞があるもの

1. Tomita H, Yamada Y, Oyama T, Hata K, Hirose Y, Hara A, Kunisada T, Sugiyama Y, Adachi Y, Linhart H, Mori H. Development of gastric tumors in *Apc^{Min/+}* mice by the activation of the β -catenin/Tcf signaling pathway. *Cancer Res*, 67: 4079-4087, 2007.
2. Oyama T, Yamada Y, Hata K, Tomita H, Hirata A, Sheng HQ, Hara A, Aoki H, Kunisada T,

Yamashita S, Mori H. Further upregulation of β -catenin/Tcf transcription is involved in the development of macroscopic tumors in the colon of *Apc^{Min/+}* mice. *Carcinogenesis*, in press.

3. Yamada Y, Mori H. Multistep carcinogenesis in the colon of *Apc^{Min/+}* mouse. *Cancer Sci*, 98: 6-10, 2007.

本研究費に密接に関係するもの

1. Linhart HG, Lin H, Yamada Y, Moran E, Steine EJ, Gokhale S, Lo G, Cantu E, Ehrich M, He T, Meissner A, Jaenisch R. Dnmt3b promotes tumorigenesis in vivo by gene-specific de novo methylation and transcriptional silencing. *Genes Dev*, 21: 3110-3122, 2008

2.学会発表

1. Yamada Y, Hara A, Jaenisch R, Mori H. Multistep carcinogenesis of the colon in *Apc^{Min/+}* Mouse. The 38th International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund, "Current Challenges in the Understanding and Management of Colon Cancer" Tokyo, November, 2007.
2. 山田泰広 消化器発がんの動物モデル 未分化性維持機構の大腸発がん過程解明への応用 日本癌学会 66 回総会シンポジウム 2007 年 10 月

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
該当無し

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
Yamashita S, Takahashi S, McDonell N, Watanabe N, Niwa T, Hosoya K, Tsujino Y, Shirai T and <u>Ushijima T.</u>	Methylation-silencing of transforming growth factor- β receptor type II in rat prostate cancers.	Cancer Res	68	2112-2121	2008
Nobeyama Y, Okochi-Takada E, Furuta J, Miyagi Y, Kikuchi K, Yamamoto A, Nakanishi Y, Nakagawa H and <u>Ushijima T.</u>	Silencing of tissue factor pathway inhibitor-2 gene in malignant melanomas.	Int J Cancer	121	301-307	2007
<u>Ushijima T.</u>	Epigenetic field for cancerization.	J Biochem Mol Biol	40	142-150	2007
Enomoto S, Maekita T, Tsukamoto T, Nakajima T, Nakazawa K, Tatematsu M, Ichinose M and <u>Ushijima T.</u>	Lack of association between CpG island methylator phenotype in human gastric cancers and methylation in their background non-cancerous gastric mucosae.	Cancer Sci	98	1853-1861	2007
Cai LY, Abe M, Izumi S, Imura M, Yasugi T and <u>Ushijima T.</u>	Identification of <i>PRTFDC1</i> silencing and aberrant promoter methylation of <i>GPR150</i> , <i>ITGA8</i> and <i>HOXD11</i> in ovarian cancers.	Life Sci	80	1458-1465	2007
Abe M, Westermann F, Nakagawara A, Takato T, Schwab M and <u>Ushijima T.</u>	Marked and independent prognostic significance of the CpG island methylator phenotype in neuroblastomas.	Cancer Lett	247	253-258	2007
Moriguchi K, Yamashita S, Tsujino Y, Tatematsu M and <u>Ushijima T.</u>	Larger numbers of silenced genes in cancer cell lines with increased <i>de novo</i> methylation of scattered CpG sites.	Cancer Lett	249	178-187	2007
<u>Kanai Y</u> and Hirohashi S.	Alterations of DNA methylation associated with abnormalities of DNA methyltransferases in human cancers during transition from a precancerous to a malignant state.	Carcinogenesis	28	2434-2442	2007
Sawada M, <u>Kanai Y</u> , Arai E, Ushijima S, Ojima H and Hirohashi S.	Increased expression of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein in uterine cervix squamous cell carcinoma and its precursor lesion.	Cancer Lett	251	211-219	2007
Loukopoulos P, Shibata T, Katoh H, Kokubu A, Sakamoto M, Yamazaki K, Kosuge T, <u>Kanai Y</u> , Hosoda F, Imoto I, Ohki M, Inazawa J and Hirohashi S.	Genome-wide array-based comparative genomic hybridization analysis of pancreatic adenocarcinoma: identification of genetic indicators that predict patient outcome.	Cancer Sci	98	392-400	2007
Kobayashi N, Hiraoka N, Yamagami W, Ojima H, <u>Kanai Y</u> , Kosuge T, Nakajima A and Hirohashi S.	FOXP3+ regulatory T cells affect the development and progression of hepatocarcinogenesis.	Clin Cancer Res	13	902-911	2007
Takahashi Y, Akishima-Fukasawa Y, Kobayashi N, Sano T, Kosuge T, Nimura Y, <u>Kanai Y</u> and Hiraoka N.	Prognostic value of tumor architecture, tumor-associated vascular characteristics, and expression of angiogenic molecules in pancreatic endocrine tumors.	Clin Cancer Res	13	187-196	2007
Yoshida Y, Kokubu A, Suzuki K, Kuribayashi H, Tsuta K, Matsuno Y, Kusumoto M, <u>Kanai Y</u> , Asamura H, Hirohashi S and Shibata T.	Molecular markers and changes of computed tomography appearance in lung adenocarcinoma with ground-glass opacity.	Jpn J Clin Oncol	37	907-912	2007

Kikuchi R, Tsuda H, <u>Kanai Y</u> , Kasamatsu T, Sengoku K, Hirohashi S, Inazawa J and Imoto I.	Promoter hypermethylation contributes to frequent inactivation of a putative conditional tumor suppressor gene <i>Connective Tissue Growth Factor</i> in ovarian cancer.	Cancer Res	67	7095-7105	2007
<u>Kanai Y</u> .	Overexpression of HDACs: a prognostic marker for gastric cancer identified by tissue microarray.	Lancet Oncol	9	91-93	2008
Imai T, <u>Toyota M</u> , Suzuki H, Akino K, Ogi K, Sogabe Y, Kashima L, Maruyama R, Nojima M, Mita H, Sasaki Y, Itoh F, Imai K, Shinomura Y, Hiratsuka H and Tokino T.	Epigenetic inactivation of <i>RASSF2</i> in oral squamous cell carcinoma.	Cancer Sci		in press	
Nishikawa N, <u>Toyota M</u> , Suzuki H, Homma T, Fujikane T, Ohmura T, Nishidate T, Ohe-Toyota M, Maruyama R, Sonoda T, Sasaki Y, Urano T, Imai K, Hirata K and Tokino T.	Gene amplification and overexpression of PRDM14 in breast cancer.	Cancer Res	67	9649-9657	2007
Watanabe Y, <u>Toyota M</u> , Kondo Y, Suzuki H, Imai T, Ohe-Toyota M, Maruyama R, Nojima M, Sasaki Y, Sekido Y, Hiratsuka H, Shinomura Y, Imai K, Itoh F and Tokino T.	PRDM5 identified as a target of epigenetic silencing in colorectal and gastric cancer.	Clin Cancer Res	13	4786-4794	2007
Ting A, Suzuki H, Cope L, Schuebel K, Lee B, <u>Toyota M</u> , Imai K, Shinomura Y, Tokino T and Baylin SB.	A requirement for DICER to maintain full promoter CpG Island hypermethylation in human cancer cells.	Cancer Res		in press	
Maruyama R, Akino K, <u>Toyota M</u> , Suzuki H, Imai T, Ohe-Toyota M, Yamamoto E, Nojima M, Fujikane T, Sasaki Y, Yamashita T, Watanabe Y, Hiratsuka Y, Hirata K, Itoh F, Imai K, Shinomura Y and Tokino T.	Cytoplasmic RASSF2A is a proapoptotic mediator whose expression is epigenetically silenced in gastric cancer.	Carcinogenesis		in press	
Suzuki H, <u>Toyota M</u> , Caraway H, Gabrielson E, Ohmura T, Fujikane T, Nishikawa N, Sogabe Y, Nojima M, Sonoda T, Mori M, Hirata K, Imai K, Shinomura Y, Baylin SB and Tokino T.	Frequent epigenetic inactivation of Wnt antagonist genes in breast cancer.	British J Cancer	98	1147-1156	2008
Shen L, <u>Toyota M</u> , Kondo Y, Lin E, Zhang L, Guo Y, Hernandez N, Chen X, Ahmed S, Konishi K, Hamilton SR and Issa JPJ.	Integrated genetic and epigenetic analysis identifies colon cancer corresponding to three different subclasses of disease.	PNAS	104	18654-18659	2007
Schuebel KE, Chen E, Cope Lm, Glockner SC, Suzuki H, Yi JM, Chan TA, Van Neste L, Van Criekinge W, van den Bosch S, van Engeland M, Ting AH, Jair K, Yu W, <u>Toyota M</u> , Imai K, Ahuja N, Herman JG and Baylin SB.	Comparing the DNA hypermethylation with gene mutations in human colorectal cancer.	PLoS Genet	3	1709-1723	2007
Nojima M, Suzuki H, <u>Toyota M</u> , Watanabe Y, Maruyama R, Sasaki S, Sasaki Y, Mita H, Nishikawa N, Yamaguchi K, Hirata K, Itoh F, Tokino T, Mori M, Imai K and Shinomura Y.	Frequent epigenetic inactivation of <i>SFRP</i> genes and constitutive activation of Wnt signaling in gastric cancer.	Oncogene	26	4699-4713	2007

Sato H, Suzuki H, <u>Toyota M</u> , Nojima M, Maruyama R, Sasaki S, Takagi H, Sogabe Y, Sasaki Y, Idogawa M, Sonoda T, Mori M, Imai K, Tokino T and Shinomura Y.	Frequent epigenetic inactivation of DICKKOPF family genes in human gastrointestinal tumors.	Carcinogenesis	28	2459-2466	2007
Akino K, <u>Toyota M</u> , Suzuki H, Imai T, Maruyama R, Kusano M, Nishikawa N, Watanabe Y, Sasaki Y, Abe T, Yamamoto E, Tarasawa I, Sonoda T, Mori M, Imai K, Shinomura Y and Tokino T.	Identification of <i>DFNA5</i> as a target of epigenetic inactivation in gastric cancer.	Cancer Sci	98	88-95	2007
Mukoubayashi C, <u>Yanaoka K</u> , Ohata H, Arii K, Tamai H, Oka M and Ichinose M.	Serum pepsinogen and gastric cancer screening.	Intern Med	46	261-266	2007
<u>Yanaoka K</u> , Oka M, Yoshimura N, Mukoubayashi C, Enomoto S, Iguchi M, Magari H, Utsunomiya H, Tamai H, Arii K, Yamamichi N, Fujishiro M, Takeshita T, Mohara O and Ichinose M.	Risk of gastric cancer in asymptomatic, middle-aged Japanese subjects based on serum pepsinogen and <i>Helicobacter pylori</i> antibody levels.	Int J Cancer		in press	
<u>Yanaoka K</u> , Oka M, Mukoubayashi C, Yoshimura N, Enomoto S, Iguchi M, Magari H, Utsunomiya H, Tamai H, Arii K, Ohata H, Fujishiro M, Takeshita T, Mohara O and Ichinose M.	Cancer high-risk subjects identified by serum pepsinogen tests outcomes after 10-year follow-up in asymptomatic middle-aged males.	Cancer Epidemiol Biomarker Prev		in press	
Tomita H, <u>Yamada Y</u> , Oyama T, Hata K, Hirose Y, Hara A, Kunisada T, Sugiyama Y, Adachi Y, Linhart H and Mori H.	Development of gastric tumors in <i>Apc^{Min/+}</i> mice by the activation of the β -catenin/Tcf signaling pathway.	Cancer Res	67	4079-4087	2007
Oyama T, <u>Yamada Y</u> , Hata K, Tomita H, Hirata A, Sheng HQ, Hara A, Aoki H, Kunisada T, Yamashita S and Mori H.	Further upregulation of β -catenin/Tcf transcription is involved in the development of macroscopic tumors in the colon of <i>Apc^{Min/+}</i> mice.	Carcinogenesis	29	666-672	2008
<u>Yamada Y</u> and Mori H.	Multistep carcinogenesis of the colon in <i>Apc^{Min/+}</i> mouse.	Cancer Sci	98	6-10	2007
Linhart HG, Lin H, <u>Yamada Y</u> , Moran E, Steine EJ, Gokhale S, Lo G, Cantu E, Ehrich M, He T, Meissner A and Jaenisch R.	Dnmt3b promotes tumorigenesis in vivo by gene-specific de novo methylation and transcriptional silencing.	Genes Dev	21	3110-3122	2008