

レシピエントを2.5 Gy 全身照射し、移植後のMN頻度を検討した。移植後15週目ではほぼ完全なドナー由来造血細胞の生着が認められ、照射後移植群のMN頻度は非照射移植群に比べて高値を示した(図3)。この差は統計学的に極めて有意に近かった ($P = 0.052$)。

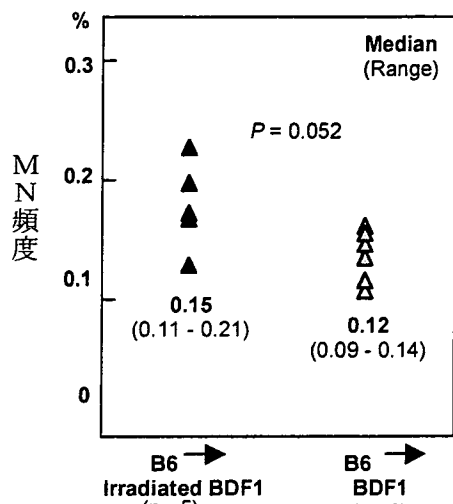


図3. 移植後15週目のB6 → 2.5Gy 前照射BDF1群のMN頻度

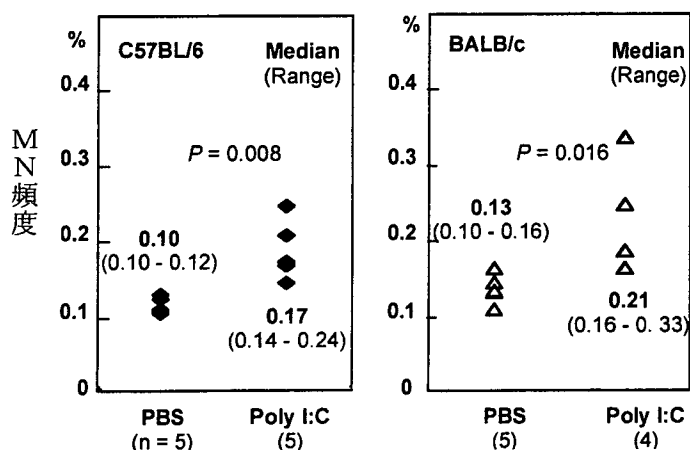


図4 Poly I:C 400 μ 投与2日後のB6 ならびにBALB/cマウスのMN頻度

Poly I:C 400 μ g腹腔投与2日後のB6 ならびにBALB/cマウスのMN頻度は、いずれもPBS投与群に比べて有意に1.7倍程度上昇していた(図4)。

D. 考察

近年、細胞に遺伝的不安定性が誘導されることが、放射線によって細胞ががん化する重要な過程の一つとみなされるようになった。また、放射線が長期間継続する炎症

を誘発する可能性や、持続性炎症と発がんリスクの関係が示唆されている。しかしながら、炎症が生体細胞の遺伝的不安定性に関わるか明らかにされていない。今回の結果は、炎症が宿主の造血系細胞の遺伝的傷害を誘導したことを示す生体内実験の新たな証拠である。

親→F1マウス GVHDモデルは、通常の造血細胞移植と異なり、レシピエントに放射線照射などの骨髄破壊的処置を行うことなく、ドナー由来造血細胞の生着およびGVHDによる全身の炎症を誘導できる。今回、B6 → BDF1群およびB6 → BCF1群でGVHDによるMN頻度の上昇が見られ、GVHDが宿主の造血系に遺伝的不安定性を誘導することが示唆された。ヒトでは、造血細胞移植患者のフォローアップによりGVHDが2次発がんのリスクファクターであることが知られているが、この結果はGVHDによる遺伝的不安定性が2次発がんの要因である可能性を支持する。一方、BALB/c → BCF1群ではMN頻度に変化が認められなかったが、この移植群は前二者の移植群に比べGVHDが緩和で炎症反応も軽いためと考えられる。また、大量の急性期炎症タンパクが放出されるPoly (I:C) 投与による炎症においてもMN頻度の上昇が見られることから、GVHDの遺伝的不安定性誘導作用にも炎症反応が関係していると考えられる。今後、炎症性サイトカインや酸化ストレスとの関係を検討する予定である。

親→F1マウス GVHDモデルを用いること有利な点は、移植前にレシピエントを照射し、放射線の暴露を直接受けていないドナー由来造血細胞を移植後に解析することで「バイスタンダー効果」を検討できることである。照射後移植群のMN頻度は非照射移植群に比べて高値を示し、「バイスタンダー効果」を生体内で確認することができた。「バイスタンダー効果」は、放射線に対する様々な細胞応答の機序の1つとして考えられている。昨年度マウスの系で放射線によって長期間持続する遺伝的不安定性が誘導されることを報告した。今回の結果は、炎症が放射線誘発遺伝的不安定性の要因の1つであり、炎症因子が「バイスタンダー効果」を介するという仮説を支持する。今後、

この仮説に基づいて、原爆被爆者コーホートにおいて炎症指標と遺伝的不安定性および発がんリスクの関係を検討していきたい。また、今回のマウスモデルを活用して、放射線発がんの予防手段を模索する予定である。

E. 結論

GVHDおよびPoly (I:C)投与による炎症反応でマウス造血系に遺伝的不安定性が誘導された。また、放射線のバースタンダー効果がマウス移植モデルで確認された。放射線被ばくが持続性炎症状態を亢進し、その炎症状態によって遺伝的不安定性がもたらされるることが、放射線発がんの機序の一つであると推察される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hamasaki K, Imai K, Hayashi T, Nakachi K, Kusunoki Y. Radiation sensitivity and genomic instability in the hematopoietic system: Frequencies of micronucleated reticulocytes in whole-body X-irradiated BALB/c and C57BL/6 mice. *Cancer Sci* 2007;98(12):1840-4.

Hamasaki K, Imai K, Nakachi K, Takahashi N, Kodama Y, Kusunoki Y. Short-term culture and γ H2AX flow cytometry determine differences in individual radiosensitivity in human peripheral T lymphocytes. *Environ Mol Mutagen* 2007;48(1):38-47.

Kusunoki Y, Hayashi T. Long-lasting alterations of the immune system by ionizing radiation exposure: Implications for disease development among atomic bomb survivors. *Int J Radiat Biol* 2008;84:1-14.

Nakachi K, Hayashi T, Hamatani K, Eguchi H, Kusunoki Y. Hiroshima and Nagasaki 60 years: Follow-up of survivors –Current progress in molecular epidemiology studies— *Mutat Res*, in press.

2. 学会発表

Yoshida K, Hayashi T, Morishita Y, Nagamura H, Maki M, Imai K, Kusunoki Y, Nakachi K, A genome approach to inter-individual variations in cancer susceptibility among atomic-bomb survivors.

12th Congress of the International Association of Biomedical Gerontology (IABG)

2007/05/20-24 Spetses island, Greece

Nakachi K, Hayashi T, Hamatani K, Eguchi H, Kusunoki Y, Hiroshima 60 years: Monitoring of survivors--Current progress in molecular epidemiology studies. 5th International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations 2007/05/20-24 Antalya, Turkey

濱崎幹也、児玉喜明、楠 洋一郎、中島栄二、高橋規郎、中村 典、中地 敬、原爆被爆者末梢血リンパ球の in vitro 長期培養クローンにおける染色体不安定性について 第48回 原子爆弾後障害研究会 2007/06/03 広島

楠 洋一郎、久保美子、山岡美佳、林 奉権、今井一枝、中地 敬、原爆被爆者集団における末梢血ナイーブ CD4T 細胞比率の加齢あるいは被ばく線量依存性の低下に CD45 遺伝子多型との関連性は見られない 第17回 日本サイトメトリー学会 2007/07/05-06 浦安

Hamasaki K, Kodama Y, Kusunoki Y, Nakashima E, Takahashi N, Nakamura N, Nakachi K, Cytogenetic instability in peripheral blood T lymphocytes cultured in vitro from A-bomb survivors. Hamasaki K, Kodama Y, Kusunoki Y, Nakashima E, Takahashi N, Nakamura N, Nakachi K 13th International Congress of Radiation Research 2007/07/08-12 San Francisco, California, USA

Hayashi T, Morishita Y, Nagamura H, Maki M, Sora M, Imai K, Yoshida K, Kusunoki Y, Tahara E, Nakachi K, Effects of inflammation-related gene polymorphisms and atomic-bomb radiation exposure on gastric cancer risk. 13th International Congress of Radiation Research 2007/07/08-12 San Francisco, California, USA

Morishita Y, Hayashi T, Nagamura H, Maki M, Kubo Y, Yoshida K, Kusunoki Y, Nakachi K. Elevated levels of plasma reactive oxygen species and inflammatory markers among atomic-bomb survivors. Joint ESTP/IFSTP Congress of Toxicologic Pathology 2007 2007/09/16-19 Basel, Switzerland

Hamasaki K, Kodama Y, Kusunoki Y, Nakashima E, Takahashi N, Nakamura N, Nakachi K. Chromosome tests in clonally proliferated T lymphocytes in vitro from A-bomb survivors do not suggest presence of

genetic instability. 8th International
Symposium on Chromosome Aberrations
2007/10/04-06 Awaji

濱崎幹也、今井一枝、大西 寿、林 奉
権、中地 敬、楠 洋一郎、X線を全身照
射した BALB/c および C57BL/6 マウスにお
ける小核網状赤血球のフローサイトメトリ
ーによる解析：遺伝的不安定性が照射後長
期にわたって生体内で持続する証拠 第50
回 日本放射線影響学会 2007/11/14-17 千
葉

楠 洋一郎、大石和佳、林 奉権、中地
敬、慢性C型肝炎ウイルス感染の肝病態の
進行にともなう Th1 優位の免疫応答 第37
回 日本免疫学会総会・学術集会
2007/11/20-22 東京

林 奉権、楠 洋一郎、中地 敬、炎症
関連サイトカイン遺伝子多型と原子放射線
被曝が胃がんリスクに及ぼす影響 第37
回 日本免疫学会総会・学術集会
2007/11/20-22 東京

Hamasaki K, Kodama Y, Kusunoki Y,
Nakashima E, Takahashi N, Nakamura N,
Nakachi K. A study on chromosome instability
in clonally expanded T lymphocytes in vitro
from A-bomb survivors. 5th International
Symposium of Hiroshima University 21st
Century COE Program 2008/01/23-24
Hiroshima

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

放射線被曝による固形がんの疫学的解析

分担研究者 西 信雄 財団法人放射線影響研究所疫学部

放射線影響研究所が長期の追跡調査を行っている寿命調査集団において、放射線に関連した結腸がんのリスクを詳細部位別に明らかにすることを目的として研究を行った。対象を1958年時点でがんの既往がなく被曝線量(DS02)が推定されている寿命調査集団の105,427人とし、2001年まで追跡した。結腸は盲腸・上行結腸、横行結腸、下行結腸・S状結腸の3つに区分した。放射線関連リスクは、ポワソン回帰モデルを用いて過剰相対リスクモデルにより都市、性別、被曝時年齢、被曝場所、到達年齢で補正して求めた。結腸がん1,339例（男性566例、女性773例）を把握した。症例数は下行結腸・S状結腸で最も多く、次いで盲腸・上行結腸が多かった。詳細部位別でバックグラウンド率に有意な差を認めなかったものの、過剰リスクについては線量反応、到達年齢影響修飾、男女リスク比のいずれも詳細部位別に有意な差を認めなかった。今後、病理学的レビューにより症例を再確認し分析を行うことが必要である。

A. 研究目的

放射線影響研究所が長期の追跡調査を行っている寿命調査集団において、放射線に関連した統計学的に有意ながん罹患リスクは結腸では認められているが、直腸では認められていない(Preston et al., 2007)。結腸と直腸は隣接した臓器で、両部位ともがんの主要な組織型は腺癌であることから、この放射線関連リスクの差異の解明は研究課題の一つとなっている。

以前、この寿命調査集団の1950年から1980年の結腸がん症例を対象として、病理学的レビューを含む詳細な解析を行った結果では、放射線に関連した過剰相対リスク(DS86大腸線量1Svあたりの過剰相対リスク)は盲腸・上行結腸、横行結腸・下行結腸、S状結腸のそれぞれで0.901、0.927、1.093と推定され、3つの詳細部位により大きな差を認めなかった(Nakatsuka et al., 1992)。

1980年代以降わが国において結腸がんの罹患率が増加していること、固定集団である寿命調査集団の平均年齢が上昇していること、また上記のPrestonらによる放射線関連リスクの研究において著明な男女差が認められていることなどから、本課題についてあらためて解析が必要な状況となっている。

本研究は、寿命調査集団において結腸の詳細部位別に放射線に関連したがん罹患リスクを明らかにすることを目的とした。

なお、寿命調査集団は、

- ・約12万人からなる大規模集団であること
 - ・全年齢の男女を含むこと
 - ・個人ごとに被曝線量が推定されており、被曝線量が広い範囲にわたること
 - ・精度の高いがん罹患、死亡のデータが得られていること
 - ・臓器別の被曝線量が推定されていること
- などから、放射線被曝とがん罹患の関連を疫学的に明らかにすることが可能である。

B. 研究方法

- 本研究は寿命調査集団120,321人のうち、
- ・1958年までに死亡した、あるいはがんを診断された8,273人
 - ・追跡不明となった96人
 - ・DS02により被曝線量が推定されなかった6,525人

を除く105,427人（80,180人の被曝者と25,247人の入市者）を対象とした。

がんの罹患は広島市地域がん登録事業、広島県腫瘍登録事業（組織登録）、長崎県がん登録事業の資料により2001年まで追跡した。粘膜がんは分析から除外した。結腸は盲腸・上行結腸、横行結腸、下行結腸・S

状結腸の3つに区分した。被曝線量は、重み付け結腸線量を用いた。

放射線関連リスクの解析は、以下のように過剰相対リスク (excess relative risk: ERR) モデルに基づいてポワソン回帰モデルを用いて行った。

$$\text{Rate} = \text{background_rate} * (1 + \text{ERR})$$

バックグラウンド率 (Background rate) と過剰リスク (ERR) 項の基本モデリングは Prestonら(2007)が用いたモデルを用いた。バックグラウンドモデルについては、性別、到達年齢(lage70)、被曝時年齢(e30)などのパラメトリック関数 (男女別) を用いて、以下のように設定した。

$$\begin{aligned} \text{Log (Background rate)} \\ = \text{City} + \text{sex} + \text{NIC} * \text{city} + \text{sex} * (\text{lage70} + \\ \text{lage70sq} + \text{lage70sp} + \text{e30} + \text{e30sq} + \\ \text{e30sp}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ここで } \text{lage70} &= \log(\text{age}/70) \\ \text{lage70sq} &= (\log(\text{age}/70))^2 \\ \text{lage70sp} &= \log(\text{age}/70) * (\text{age} > 70) \\ \text{e30} &= (\text{age} - 30) / 10 \\ \text{e30sq} &= \text{e30}^2 \end{aligned}$$

また、過剰リスク項に関しては、以下のように、線形線量反応に、到達年齢による影響修飾を含むモデルとした。

$$\text{ERR} = \text{Dose} * \exp(\text{lage70}) * (1 + \text{sex})$$

ERRにおける被曝時年齢項(e30)は有意性が認められなかったため、モデルから外した。

(倫理面への配慮)

寿命調査は放射線影響研究所の人権擁護委員会 (倫理審査委員会) で審査を受け実施されている。がんの罹患に関する情報の利用は、広島市地域がん登録事業および広島県腫瘍登録事業、長崎県がん登録事業の各審査委員会に対して資料利用を申請し、承認を得ている。これらの資料について、各登録のデータの管理を委託されている放射線影響研究所疫学部内で個人識別情報 (氏名、性別、生年月日、住所) をもとに寿命調査集団と照合した。死亡については、総務省の認容を得て入手している人口動態調査調査票 (死亡小票) の転記書類から把握した。

C. 研究結果

結腸がん1,339例 (男性566例、女性773例) を把握した。詳細部位別にみた結腸がんの症例数と粗罹患率(10万人年当たり)を表1に示す。詳細部位別の症例数は、男女とも下行結腸・S状結腸で最も多く、次いで盲腸・上行結腸が多かった。粗罹患率は、盲腸・上行結腸、横行結腸では男女で大きな差を認めなかったが、下行結腸・S状結腸では男性が女性の約1.5倍であった。

部位別データを結合して解析を行った結果、(1)バックグラウンド率については部位別にモデル化し、(2)過剰リスクについては部位を考慮しないモデルが最適であった。つまり、バックグラウンド率は詳細部位別に有意な差を認めたものの、過剰リスクについては線量反応、到達年齢影響修飾、男女リスク比のいずれも詳細部位別に有意な差を認めなかった。この最適なモデルにおける、到達年齢に対する詳細部位別の結腸がんのバックグラウンド発生率と過剰リスクを、それぞれ図1、図2に示す。

この最適なモデルにおける線量反応、到達年齢影響修飾、男女リスク比に関するリスク推定値を表2に示す。放射線による過剰相対リスクは全結腸で1Gy当たり0.44であり、有意に上昇していた。また到達年齢修飾、男女リスク比のいずれも有意であった。

表1 詳細部位別にみた結腸がんの症例数と粗罹患率

	症例数	粗罹患率 (10万人年 当たり)
男性		
盲腸・上行結腸	153	14.2
横行結腸	69	6.4
下行結腸・S状結腸	344	31.8
全結腸	566	17.5
女性		
盲腸・上行結腸	311	17.3
横行結腸	101	5.6
下行結腸・S状結腸	361	20.1
全結腸	773	14.3

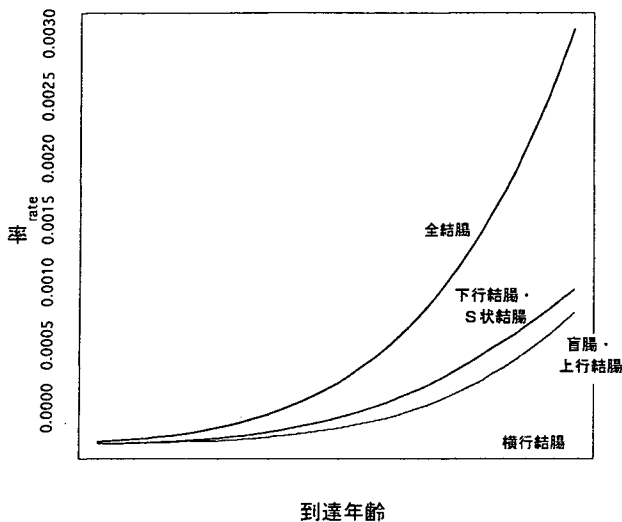


図1 バックグラウンド率
(被曝時年齢30歳の場合)

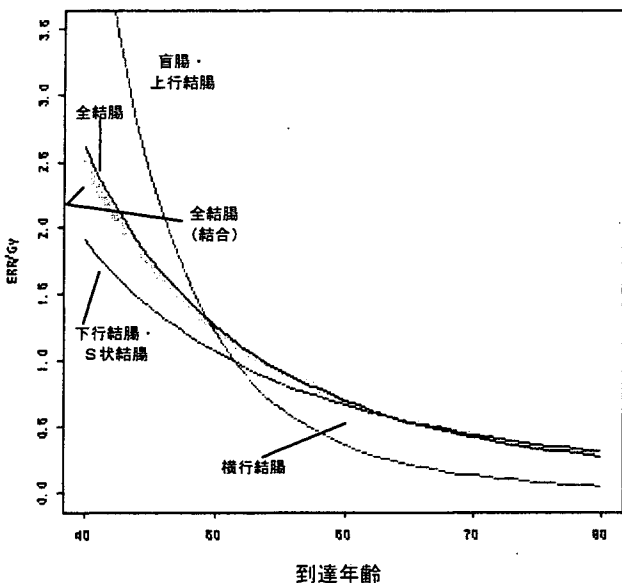


図2 過剰リスク
(全結腸と全結腸(結合)はモデルが異なる)

表2 最適モデル(過剰相対リスクモデル)におけるリスク推定値

	推定値(95%信頼区間)
放射線量(1Gy当り)*	0.44 (0.19; 0.77)
到達年齢(指数)	-3.09 (-5.36; -0.76)
男女比(女性/男性)	0.66 (0.19; 1.90)

*重み付け結腸線量

D. 考察

Prestonら(2007)の分析では、1958年から1998年までの症例について、原爆後入市者群を含め、新しい線量体系(DS02)を用いた分析した結果、結腸がんの放射線に関連した過剰相対リスク(30歳で被曝した者の70歳におけるリスク、結腸線量1Gy当たり)は男女平均で0.54(90%信頼区間 0.30; 0.81)と有意であった。また直腸がんの放射線に関連した過剰相対リスク(30歳で被曝した者の70歳におけるリスク、膀胱線量1Gy当たり)は、男女平均で0.19(90%信頼区間 -0.04; 0.47)であり有意ではなかった。また結腸がんについて可能な限り進展度の情報を入手し上皮内の症例を除外して分析を行った結果も大きく変わらず、過剰相対リスクは男女平均で0.44(90%信頼区間 0.21; 0.72)であった。今回の分析では、追跡期間を2001年までとして、モデルに被曝時年齢項を含めなかったが、上皮内の症例を除外して放射線による過剰相対リスクを全結腸で1Gy当たり0.44と算出しており、過剰相対リスクに変化がないことを確認した。

今回のデータからは、放射線被曝の影響(線量反応、到達年齢影響修飾、男女リスク比)が、結腸がんの部位によって異なることを示す証拠は見出せなかった。しかし、部位の分け方によらず、線量反応、到達年齢影響修飾については、有意性が認められた。ただし、バックグラウンド発生率については部位によって異なることが示された。さらに、年代による違いなどについて検討が必要である。

今後、腫瘍登録事業により収集される組織標本をもとに可能な限り上皮内癌と浸潤癌の鑑別を行い、結腸・直腸がんにおける線量反応関係を詳細に解析する必要がある。

E. 結論

放射線影響研究所が長期の追跡調査を行っている寿命調査集団において、放射線に関連した結腸がんのリスクを詳細部位別に検討した。詳細部位別で結腸がんのバックグラウンド率に有意な差を認めたものの、過剰リスクについては線量反応、到達年齢影響修飾、男女リスク比のいずれも詳細部位別に有意な差を認めなかった。今後、病理解析的レビューを含む部位別癌研究による

検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Preston DL, Ron E, Tokuoka S, Funamoto S, Nishi N, Soda M, Mabuchi K, Kodama K. Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998. Radiat Res 2007; 168: 1-64.
2. Nishi N, Sugiyama H, Hsu W, Soda M, Kasagi F, Mabuchi K, Kodama K. Differences in mortality and incidence for major sites of cancer by education level in a Japanese population. Ann Epidemiol (in press)

2. 学会発表

1. Nishi N. Risk of second primary cancers among atomic bomb survivors. 第66回日本癌学会学術総会, 横浜, 2007年10月3日-5日.
2. 西 信雄, 杉山裕美, 坂田 律, 船本幸代, 古川恭治, 清水由紀子, 早田みどり, 陶山昭彦, 笠置文善, 児玉和紀. 結腸の詳細部位別にみたがん罹患の放射線関連リスク. 日本放射線影響学会第50回大会, 千葉, 2007年11月14日-17日.

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

研究協力者

杉山裕美 (放射線影響研究所疫学部)

古川恭治 (放射線影響研究所統計部)

放射線発がんにおけるゲノム修復機構の解析

分担研究者 神谷 研二（広島大学原爆放射線医科学研究所）
研究協力者 朴 金蓮（広島大学原爆放射線医科学研究所）
増田 雄司（広島大学原爆放射線医科学研究所）
豊島 めぐみ（広島大学原爆放射線医科学研究所）

研究要旨 放射線被ばくが誘発するゲノム損傷の修復機構における損傷乗り越えDNA合成の関与と放射線発がんにおける役割を明らかにするため、損傷乗り越えDNA合成機構の中心的役割を担うREV1の機能解析を行った。REV1の結晶構造の解析から、N-digitドメインがREV1のdCMP活性に直接的に関係する構造と考えられた。そこで、N-digitのN末端で保存されているアミノ酸をAlaに置換した変異蛋白質を作製し、その生化学的機能解析を行った。その結果、R357(Arg)がdCMP活性を決定していた。一方、L358(Leu)を置換したREV1変異蛋白質では、AP部位や8oxoGに対しCを挿入するREV1の損傷乗り越え活性が消失した。以上よりREV1の生化学的特性を決定している基質特異性と損傷乗り越えDNA合成活性の分子機構の一端が明らかになった。

A. 研究目的

原爆被爆者のみならず医療の高度化に伴う医療被ばくや、放射線の産業利用や原子力発電に伴う職業被ばくなどで、低線量放射線被ばくによる健康影響の解明は緊急の課題となっている。特に低線量被ばくによる発がん機構の解明とそれに基づく治療法の開発、並びに発がんリスクの解明は、職業被ばくにおける健康管理や医療被ばくでの患者の防護の観点からも極めて重要である。本研究では、放射線が誘発するゲノム障害の修復機構における損傷乗り越え修復の関与を明らかにすると同時に、損傷乗り越え修復機構の中心的役割を担うREV1の放射線発がんにおける役割を明らかにする。このような研究を推進することで、放射線発がん機構の解明が進み低線量放射線の発がんリスク評価や治療法の開発も可能となる。

B. 研究方法

1. ヒトREV1タンパク質及び変異蛋白質の精製と機能解析：

REV1タンパク質の結晶構造の解析から、REV1のN-digitドメインは、REV1のdCMP活性に直接的に関係する構造と考えられる。我々は、N-digitのN末端で保存されている

5つのアミノ酸の内、二つのアミノ酸F348(Phe)とH359(His)をAlaに置換した変異蛋白質については、既に機能解析を終了している。そこで、今年度は、S356(Ser)、R357(Arg)、及びL358(Leu)をAlaに置換した変異蛋白質を作成し機能解析を行った。具体的には、1つのアミノ酸を置換した変異REV1蛋白質の各遺伝子を大腸菌で過剰発現させタンパク質を作成した。この蛋白質の粗抽出液をニッケル親和性カラムクロマトグラフィー、続いてヘパリン親和性カラムクロマトグラフィーにより分画後、ゲル濾過クロマトグラフィーにより精製し精製標品を得た。精製したタンパク質のdNMP転移活性は、dNTPと二価イオンの存在下でのプライマー伸長反応として検出した。

（倫理面への配慮）

本申請研究には組換えDNA実験が含まれているため、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成十五年法律第九十七号）」に基づき、広島大学組換えDNA実験安全管理規定に従って承認手続きを行い、機関承認実験として承認された。

C. 研究結果

1. アミノ酸置換した変異型ヒトREV1の機能解析：

REV1は、dCMP活性のみを有する特殊なDNAポリメラーゼであり、他の損傷乗り越えDNAポリメラーゼと大きく異なる。このdCMP活性は、REV1に特有な構造であるN-digitドメインに直接的に関係すると考えられる。N-digitのN末端のアミノ酸配列を9種の生物で比較したところ、全ての種で保存されている5つのアミノ酸を同定した。そこで、ヒトREV1の詳細な生化学的機能解析を行うために、N-digitドメインで保存されている5つの内3つのアミノ酸S356(Ser), R357(Arg), 及びL358(Leu)をそれぞれAlaに置換した変異蛋白質の高純度の精製標品を作成し、その機能解析を行った。野生型REV1では、template Gに対しCを挿入するdCMP活性が認められる他に、弱いながらGを挿入する活性が認められた。しかし、Aを挿入する活性は認められなかった。また、AP部位や酸化的損傷である8oxoGに対しCを挿入するdCMP活性が確認されREV1の損傷乗り越え活性を認めた。S356(Ser), R357(Arg), 及びL358(Leu)をAlaに置換した3つの変異蛋白質の内、R357AとL358Aの酵素活性は、kcatとdCTPに対する相対的親和性ともに低下した。また、REV1のアミノ酸R357(Arg)をAlaに置換した変異蛋白質でのdCMP活性は、野生型REV1に比べ劇的に変化し、template Gに対しCを挿入する活性は著明に低下し、逆にGを挿入する強い活性が出現した。即ち、R357(Arg)をAlaに置換することで、hREV1の基質特異性をdCMP からdGTPに変えた。一方、もう一つの変異蛋白であるL358(Leu)をAlaに置換したREV1変異蛋白質の基質特異性は大きく変化した。すなわち、template Gに対しCを挿入するdCMP活性は著明に低下し、AP部位や8oxoG Aに対しCを挿入するdCMP活性も非常に低下した。即ち、AP部位や8oxoGに対しCを挿入するREV1の損傷乗り越え活性は消失した。

D. 考察

放射線被ばくによりゲノムは二重鎖切断や酸化的損傷などの様々な損傷を受ける。この中で、酸化的損傷の修復の一部は、損傷乗り越えDNA合成によって行われると推

定されている。一方、高発がん性の色素性乾皮症バリエーション (XPV) の原因遺伝子が「損傷乗り越えDNA合成」(translesion DNA合成) をコードする遺伝子である事が明らかにされ、「損傷乗り越えDNA合成」とがん化との関係が注目されている。本研究は、損傷乗り越えDNA合成機構の中心的役割を担うREV1の放射線発がんにおける役割を明らかにすることを目的としている。

解析の結果、ヒトREV1タンパク質のdCMP転移活性は、鋳型Gと脱塩基部位に対して効率の高いものであることと、酸化的損傷である8oxoGに対しCを挿入する損傷乗り越え活性を有することが明らかになった。この結果は、放射線被ばくによって誘発される脱塩基部位や酸化的損傷の修復に関しREV1タンパク質の損傷乗り越えDNA合成活性が重要な役割を担い、点突然変異を生成する可能性が高いことを示している。即ち、放射線発がんにおける点突然変異の誘発と遺伝的不安定性を誘導する新たな分子機構の解明に繋がる可能性がある。ヒト乳癌細胞株の*hprt*遺伝子の突然変異を誘発する頻度の解析から、これら乳癌細胞株では点突然変異を起こし易い遺伝的不安定性が誘導されていることが明らかにされている。この事は、ヒトがんでは点突然変異を誘発する遺伝的不安定性が、がんの発症に関与している可能性を示唆しており、損傷乗り越えDNA合成の機能と発がんとの関係が注目される。

一方、REV1は、「損傷乗り越えDNA合成」の中心的役割を担っており、dCMP転移活性以外の機能が注目されている。例えばDT40細胞でREV1をknock outした細胞は、紫外線、放射線、シスプラチン、過酸化水素、さらにはMMS等の広範囲なゲノム障害因子に対し高感受性になる。これらの事は、Rev1がdCMP転移活性以外の役割で広く損傷乗り越えDNA合成に関与していることを示している。また、Rev1は、thymine-thymine dimerを乗り越えてDNA合成が出来ないが、Polhのthymine-thymine dimerの損傷乗り越えDNA合成にはRev1が必要である。さらに、我々が証明したREV1とREV7がヘテロダイマーを形成することやRev1がPolk, Polh 及びPoliと結合することは、REV1が「損傷乗り越えDNA合成」で重要な役割を担っていることを示唆している。

他方, REV1とPolkやPolh等の他のポリメラーゼとの相互作用について重要な所見が得られつつある。PCNAがRAD6・RAD18複合体によりモノユビキチン化されるとREV1, Polk, Polh及びPoliはYファミリーポリメラーゼに共通に存在するユビキチン結合ドメインによりPCNAに結合することが示された。一方, MMS2-UBC13, 及びRad5等によりPCNAがポリユビキチン化されるとポリメラーゼd等が結合する。これらのことは, fidelityの高いポリメラーゼd等が損傷塩基部位でDNA合成が出来ないとき, ゲノム損傷の種類により損傷乗り越え型のポリメラーゼと入れ替わりDNA合成を継続するポリメラーゼスイッチ機構が存在する可能性を示唆している。実際, Polkは, benzo[a]pyrene-G adductsやthymine glycolを, Polhはthymine-thymine dimerを乗り越えてDNA合成が出来る。この様に, 損傷乗り越えDNA合成は, 複雑な蛋白質相互作用により高度に制御されており, 複製フォークの進行を支えているものと考えられる。REV1は, これらポリメラーゼ群と競合的に結合することから, 損傷乗り越えDNA合成の中心的役割をなすものと推定され, REV1の詳細な生化学的な機能解析が求められている。

そこで本研究では, ヒトREV1タンパク質の詳細な機能解析を行うため, 1個のアミノ酸を置換した変異型蛋白質の生化学的性質を詳しく解析した。N-digitドメインは, REV1に特異的な構造で, REV1のdCMP活性に直接的に関係すると考えられる。N-digitのN末端のアミノ酸配列で, 調べた9つの種の全てに保存されている5つのアミノ酸を同定した。そこで, ヒトREV1の詳細な機能解析を行うために, N-digitドメインで保存されている5つのアミノ酸をアラニンに変換した変異蛋白質を作成し, その生化学的特徴を解析した。今までに, F348(Phe)とH359(His)をAlaに置換した変異蛋白質については機能解析を終了しているので, 本研究では, 3つのアミノ酸S356(Ser), R357(Arg), 及びL358(Leu)をAlaに置換した変異蛋白質を作成し機能解析を行った。その結果, アミノ酸R357(Arg)をAlaに置換した変異蛋白質でのdCMP活性は劇的に変化し, template Gに対しCを挿入する活性は著明に低下し, 逆にGを挿入する強い活性が出現した。即ち, hREV1の基質特異性を

dCMP からdGTPに変えた。

一方, L358(Leu)をAlaに置換したREV1変異蛋白質では, template Gに対しCを挿入するdCMP活性が著明に低下し, 同時にAP部位や8oxoGに対しCを挿入するdCMP活性も非常に低下した。即ち, REV1の基質特異性は大きく変化し, AP部位や8oxoGに対しCを挿入するREV1の損傷乗り越え活性は消失した。

このことより, REV1のdCMP活性や損傷乗り越え活性は, N-digitドメインのR357(Arg)とL358(Leu)により規定されていることが明らかとなった。この結果は, Prakashらにより報告されたREV1の結晶構造の解析結果をより詳細に生化学的に証明するものである。現在, 世界的にも損傷乗り越え修復におけるREV1の機能と作用機構の解析が行われているが, その全体像は, 未だ解明されていない。今後, REV1を含め「誤りがちなDNA合成」機構の解明を進め, 放射線発がんに於ける役割を明らかにしたい。

E. 結論

放射線被ばくが誘発するゲノム損傷の修復機構における損傷乗り越えDNA合成の関与と放射線発がんにおける役割を明らかにするため, 損傷乗り越えDNA合成機構の中心的役割を担うREV1の機能解析を行った。REV1の結晶構造の解析から, N-digitドメインがREV1のdCMP活性に直接的に関係する構造と考えられた。そこで, N-digitのN末端で保存されているアミノ酸をAlaに置換した変異蛋白質を作製し, その生化学的機能解析を行った。その結果, R357(Arg)がdCMP活性を決定していた。一方, L358(Leu)を置換したREV1変異蛋白質では, AP部位や8oxoGに対しCを挿入するREV1の損傷乗り越え活性が消失した。以上よりREV1の生化学的特性を決定している基質特異性と損傷乗り越えDNA合成活性の分子機構の一端が明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tomida, J., Masuda, Y., Hiroaki, H., Ishikawa, T., Song, I., Tsurimoto, T., Tateishi, S., Shiomi, T., Kamei, Y., Kim,

- J., Kamiya, K., Vaziri, C., Ohmori, H., Todo, T. : DNA damage induced ubiquitylation of RFC2 subunit of RFC complex. *J. Biol. Chem.*, 2008, *in press*.
2. Watanabe, H., Kashimoto, N., Kajimura, J., Ishikawa, M., Kamiya, K. : Tumor Induction by Monoenergetic Neutrons in B6C3F1 mice. *J. Radiat. Res.* ; 48(3): 205-210, 2007.
 3. 増田雄司, 神谷研二 : 損傷乗り越えDNA合成と発癌. *ゲノム医学* ; 7(1): 23-26, 2007.
- 2. 学会発表**
1. 顧永清, 増田雄司, 神谷研二 : Characterization of a human DNA helicase, PIF1, which is responsible for chromosomal integrity. 第13回国際放射線研究会議, サンフランシスコ, 2007.7.8-12. (抄録, p.57, 2007)
 2. 朴金蓮, 増田雄司, 神谷研二 : Deoxycytidyl transferase activity of human REV1 and its substrate specificity. 第13回国際放射線研究会議, サンフランシスコ, 2007.7.8-12. (抄録, p.57, 2007)
 3. 増田雄司, 鈴木美紀, 朴金蓮, 顧永清, 釣本敏樹, 神谷研二 : Dynamic properties of human replication factors in the elongation of DNA replication. CSHL Meeting-Eukaryotic DNA Replication & Genome Maintenance, ニューヨーク, 2007.9.5-9. (Abstracts, p.132, 2007)
 4. 増田雄司, 鈴木美紀, 朴金蓮, 顧永清, 釣本敏樹, 神谷研二 : ヒトDNA複製装置のダイナミクス. 日本遺伝学会第79回大会, 岡山, 2007.9.19-21. (プログラム 予稿集, p.64, 2007)
 5. 増田雄司, 鈴木美紀, 朴金蓮, 顧永清, 釣本敏樹, 神谷研二 : 損傷乗り越えDNA合成におけるポリメラーゼ交換反応と複製装置のダイナミクス. 第66回日本癌学会学術総会, 横浜, 2007.10.3-5. (抄録集, p.492, 2007)
 6. 豊島めぐみ, 本田浩章, 増田雄司, 神谷研二 : 損傷乗り越えDNA合成酵素 Rev1の発がんにおける役割. 第66回日本癌学会学術総会, 横浜, 2007.10.3-5. (抄録集, p.82, 2007)
 7. 増田雄司, 鈴木美紀, 朴金蓮, 顧永清, 釣本敏樹, 神谷研二 : ヒトDNA複製装置のダイナミクスとポリメラーゼ交換反応. 日本放射線影響学会第50回大会, 千葉, 2007.11.14-17. (講演要旨集, p.69, 2007)
 8. 豊島めぐみ, 梶村順子, 渡辺敦光, 本田浩章, 増田雄司, 神谷研二 : 損傷乗り越えDNA合成酵素 Rev1の発がんにおける役割. 日本放射線影響学会第50回大会, 千葉, 2007.11.14-17. (講演要旨集, p.80, 2007)
 9. 顧永清, 増田雄司, 神谷研二 : 染色体の恒常性維持に必要とされるDNAヘリカーゼPIF1の生化学的機能解析. 日本放射線影響学会第50回大会, 千葉, 2007.11.14-17. (講演要旨集, p.82, 2006)
 10. 朴金蓮, 増田雄司, 神谷研二 : 損傷乗り越えDNA合成におけるREV1のdCMP転移活性の生化学的解析. 日本放射線影響学会第50回大会, 千葉, 2007.11.14-17. (講演要旨集, p.99, 2007)
 11. 増田雄司, 鈴木美紀, 朴金蓮, 顧永清, 釣本敏樹, 神谷研二 : ヒトDNA複製装置のダイナミクスとPCNAのユビキチン化. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2007), 横浜, 2007.12.11-15. (講演要旨集, p.165, 290, 2007)
- 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

化学療法感受性を既定する分子機構の解明

分担研究者 宮川 清 東京大学大学院医学系研究科

研究要旨 放射線発がんの機構を解明するためには、放射線の作用の中でも最も重篤なDNA二重鎖切断に対する修復機構の理解が必須である。その一方で、このDNA二重鎖切断は放射線のみならず、各種の抗がん剤でも誘導される。放射線発がんの研究において作製した修復遺伝子の変異細胞株の解析において、抗がん剤に対する感受性が亢進している細胞株が得られたために、この研究を進展することによって、化学療法における新しい治療感受性予測マーカーの候補が同定された。Mus81蛋白質はEme1蛋白質とヘテロ二量体を形成することによって、DNA構造に特異的なendonuclease活性を発揮する。これらの遺伝子各々の機能低下細胞をヒト大腸がん細胞株より作製して、各種抗がん剤に対する感受性を検討した。その結果、どちらの機能低下細胞とも、シスプラチンを代表とするDNA架橋剤に対して特異的に感受性の亢進を示した。そこで、これらの蛋白質に加えて、既にこの薬剤の抵抗性マーカーとして臨床研究がおこなわれているERC1とRad51の発現レベルとシスプラチン感受性の相関を各種ヒトがん細胞株において検討した。これらの蛋白質の中ではEme1の発現レベルがシスプラチン抵抗性と最もよく相関した。この結果は、この分子が新たな治療感受性マーカーとなる可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

放射線発がん研究の基盤となるDNA二重鎖切断修復の研究は、発がん治療の2つの領域において重要な役割をはたす。その機能が低下した場合に、放射線被ばくすれば、放射線によって生成されたDNA損傷を修復することができないために、がんの原因となることが想定される。一方、がん細胞においてこの修復機能が低下している場合には、放射線治療によってDNA損傷を修復することができないために、がん細胞は容易に死滅する。すなわち、修復機能が低下していることは正常細胞においてはがんの原因となり、がん細胞においては治療感受性に貢献するという2面性を有するのである。

DNA二重鎖切断修復は主として非相同性断端結合と相同組換え修復の2つの経路によって修復される。前者は放射線感受性を大きく規定するのに対して、後者は放射線感受性への寄与は少ないものの、DNA複製期に作用する抗がん剤の感受性制御には深く関与することが知られている。分子機構の

観点からは、比較的単純な結合反応である前者に比べて後者は過程が複雑であるために、関与する蛋白質はかなりの数に上る。本研究では、より複雑な経路から構成される相同組換え修復の分子機構をヒトがん細胞において解析することによって、DNA複製期に作用する抗がん剤の感受性を規定する新たな分子マーカーをみいだすことを目的とするものである。このような研究は、最終的にがん化学療法における個別化医療の導入を目指すものである。

B. 研究方法

対象とする遺伝子は相同組換え修復の中間段階で生成される組換え中間体を解消するendonucleaseであるMus81-Eme1複合体である。それぞれの遺伝子の機能低下細胞を大腸がん細胞株HCT116より標的遺伝子改変法によって作製する。

HCT116の野生株とこれらの変異細胞を用いて各種抗がん剤の感受性試験を行う。同時に遺伝子改変細胞に元の遺伝子を強制的に発現させることによって、表現型の回

復をみる補正実験も行う。

HCT116で得られた感受性を規定するマーカーの有用性を検討するために、ヒトの各種がん細胞株を用いて、対象薬剤の修復に関わる蛋白質の発現レベルをウェスタン・ブロット法により解析するとともに、対象薬剤に対する感受性を調べて、これらの相関を検討する。

(倫理面への配慮)

既に株化された市販のがん細胞を用いた研究であるために、倫理面での特別な配慮の必要性はない。

C. 研究結果

Mus81のHCT116由来遺伝子改変細胞ではヘテロ接合ならびにホモ接合変異細胞ともに、野生株と比べてマイトマイシンCとシスプラチンに対する感受性が亢進していた。これら以外の抗がん剤やX線に対する感受性の変化はわずかであったことより、Mus81の発現レベルはこれらDNA架橋剤の感受性を制御することが示唆された。

Eme1のHCT116由来遺伝子改変細胞はヘテロ接合変異株のみが得られたが、Mus81ヘテロ接合変異株と同様のDNA架橋剤に対する感受性のみが有意に亢進していた。いずれの細胞においても遺伝子の導入による補正実験において、感受性の回復が確認された。

以上の研究によって、Mus81とEme1がシスプラチン感受性予測マーカーとなる可能性が示唆されたためにHCT116以外のヒトがん細胞株14種においてこれらの蛋白質と既にシスプラチン感受性予測マーカーとして提唱されているERCC1とRad51の合計4種類について発現レベルを解析した。その結果、各種細胞株によってこれらの発現レベルは大きく異なることが判明した。また一種類の細胞において4つの分子の発現パターンの相関を検討したところ、Mus81とEme1については6種類の細胞株において発現レベルが正の相関を示していたが、それ以外についての組み合わせでは有意な相関がみられなかった。

次に、上記に解析した細胞の中から4種類の分子の発現パターンが異なる7種類の細胞株を選びだし、シスプラチンの感受性を解析した。HeLa細胞の感受性が平均値に最も近く、それよりも感受性が高い細胞4種

類と低い細胞2種類に大別された。

これら6種類の細胞における4種類の分子の発現レベルとシスプラチン感受性の相関を検討した。感受性の高い細胞においてはMus81、Eme1、ERCC1については発現が平均以下であるのに対して、Rad51発現は分散していた。感受性の低い細胞においてはMus81、Eme1、Rad51の発現が平均以上であるのに対して、ERCC1の発現は分散していた。さらにMus81とEme1の差異については、わずかではあるがEme1の方が感受性との相関が強かった。

D. 考察

今回の研究で対象としたMus81-Eme1複合体はDNA損傷に対する相同組換え修復において中間体の解消を制御する酵素であり、その異常はゲノム不安定性をきたすことから、放射線発がんの機構解明の目的で本研究を開始した。ところが、ヒトがん細胞における変異細胞の解析によって、これらの発現レベルが、がん細胞におけるシスプラチンの感受性を規定することが明らかとなった。このことから、Mus81-Eme1はDNA架橋を修復する役割を担っていることが確認された。

DNA架橋が形成されるとDNA複製期において複製フォークの進行は阻害される。それに引き続き、進行阻害されたフォークには二重鎖切断が形成される。この切断を入れるのがMus81-Eme1であると考えられている。これはDNA架橋に対して片側のみに生成されるために、架橋部位を切り出すためには架橋に対して同じDNA鎖上でもう一方にも切断を入れる必要がある。これを担うのがXPF-ERCC1であるとされている。ここまでの過程はヌクレオチド除去修復であり、それに引き続いて相同組換え修復がはたらくことによって架橋部位周辺のギャップがきれいに修復されると考えられる。この過程の中心となるのがRad51である。したがって、DNA架橋修復経路では上流からMus81-Eme1、XPF-ERCC1、Rad51の順に位置することになる。

各種がん細胞株を使用した研究によって、シスプラチン感受性とこれらの修復分子の発現相関において、DNA架橋修復においては上流に位置する分子の低下がより正確に感受性を規定することが明らかになったこ

とは興味深い。すなわちDNA架橋の修復過程の後期にはRad51と類似する機能を有する分子が存在することになる。それらの候補としてRad51B、Rad51、Rad51D、XRCC2、XRCC3の5つのRad51 paralogがあげられる。既に別の研究において、これらの機能低下細胞はシスプラチン感受性を呈することが示されている。さらにはBRCA1やBRCA2、またファンコニ貧血に関わるFANCファミリーなどもRad51の周辺でシスプラチン感受性を制御している。それに対して最も上流に存在するMus81-Eme1については同様の役割をはたす分子の存在は知られていない。このような理由によって、上流分子の発現低下の方がより正確にシスプラチン感受性を制御するものと想定される。

既にERCC1とRad51については各種の腫瘍においてシスプラチン抵抗性の分子マーカーとしての検討が開始されている。非小細胞肺癌の術後のシスプラチン治療については、ヨーロッパにおける大規模な解析によって、腫瘍組織におけるERCC1の発現低下は生存期間の延長に寄与するのに対して、ERCC1が低下しない場合には補助療法のメリットはほとんどないことが報告されている。このような臨床研究はがんの個別化医療にとって重要な情報を提供するものである。Mus81-Eme1についても同様の臨床研究を展開するためにも、次の段階として多数の切除がん組織を使用した研究が必要になる。

化学療法の感受性を規定するサロゲートマーカーの研究は、網羅的発現解析によっても可能である。一方で、今回の研究のようにDNA修復研究による機能的解析からも可能である。放射線発がん研究は常にDNA損傷応答が研究の基盤となるために、発がん研究である反面、治療研究ともなりえるのである。したがって、シスプラチン以外の抗がん剤においても同様の研究の重要性が想定される。そのためには様々なDNA損傷を引き起こす放射線に対する損傷応答・修復経路の分子機構の解明は常に放射線と化学療法によるがん治療研究の基盤となると言えよう。

E. 結論

Mus81とEme1の機能低下は大腸がん細胞株における遺伝子改変実験においてシスプ

ラチン感受性を亢進させることが明らかとなった。この結果に基づいて、各種がん細胞株におけるDNA架橋修復に関わる分子の発現とシスプラチン感受性を検討した結果、Mus81とEme1の発現低下はシスプラチン感受性のよいマーカーとなる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Enomoto A, Kido N, Ito M, Morita A, Matsumoto Y, Takamatsu N, Hosoi Y and Miyagawa K. Negative regulation of MEKK1/2 signaling by Serine-Threonine Kinase 38 (STK38). *Oncogene in press.*

Miyagawa K. Clinical relevance of the homologous recombination machinery in cancer therapy. *Cancer Sci* 2008 99: 187-194.

Shimura T, Torres MJ, Martin MM, Rao AV, Pommier Y, Katsura M, Miyagawa K and Aladjem MI. Bloom's syndrome helicase and Mus81 are required to induce transient double-strand DNA breaks in response to DNA replication stress. *J Mol Biol* 2008 375: 1152-1164.

Igaki H, Nakagawa K, Uozaki H, Akahane M, Hosoi Y, Fukayama M, Miyagawa K, Akashi M, Ohtomo K and Maekawa K. Pathological changes in the gastrointestinal tract of a heavily radiation-exposed worker at the Tokai-mura criticality accident. *J Radiat Res* 2008 49: 55-62.

Sasano N, Enomoto A, Hosoi Y, Katsumura Y, Matsumoto Y, Shiraishi K, Miyagawa K, Igaki H and Nakagawa K. Free radical scavenger edaravone suppresses X-ray-induced apoptosis through p53 inhibition in MOLT-4 cells. *J Radiat Res* 2007 48: 495-503.

Ikura T, Tashiro S, Kakino A, Shima H, Jacob N, Amunugama R, Yoder K, Izumi S, Kataoka I, Tanaka K, Kimura H, Ikura M, Nishikubo S, Ito T, Muto A, Miyagawa K, Takeda S, Fishel R, Igarashi K and Kamiya K. DNA damage-dependent acetylation and ubiquitination of H2AX enhances chromatin dynamics. *Mol Cell Biol* 2007 27: 7028-7040.

Suzuki T, Nishi T, Nagino T, Sasaki K, Aizawa K, Kada N, Sawaki D, Munemasa Y, Matsumura T, Muto S, Sata N, Miyagawa K, Horikoshi M, and Nagai R. Functional interaction between the transcription factor Kruppel-like factor 5 and poly(ADP-ribose) polymerase-1 in cardiovascular apoptosis. J Biol Chem 2007 282: 9895-9901.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Yasui W and Oue N	Systematic collection of tissue specimens and molecular pathological analysis of newly diagnosed solid cancers among atomic bomb survivors	Shibata Y, NambaH, Suzuki K, Tomonaga M	Radiation Risk Perspectives	Elsevier	Amsterdam	2007	81-86

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
Sentani K, Oue N, Sakamoto N, Arihiro K, Aoyagi K, Sasaki H and Yasui W	Gene expression profiling with microarray and SAGE identifies PLUNC as a marker for hepatoid adenocarcinoma of the stomach	Modern Pathol	in press		2008 Jan 18; [Epub ahead of print]
Sentani K, Oue N, Sakamoto N, Nishizaka T, Fukuhara T, Arihiro K, Ochiai A and Yasui W	Immunohistochemical staining for Reg IV and claudin-18 is useful in the diagnosis of gastrointestinal signet ring cell carcinoma	Am J Surg Pathol	in press		2008
Miyagawa K, Sakakura C, Nakashima S, Yoshikawa T, Fukuda K, Kin S, Nakase Y, Shimomura K, Oue N, Yasui W, Hayashizaki H, Okazaki Y, Yamagishi H, Hagiwara A and Otsuji E	Overexpression of RegIV in peritoneal dissemination of gastric cancer and its potential as a novel marker for the detection of peritoneal micrometastasis	Anticancer Res	in press		2008

Ossandon F, Villarroel C, Aguayo F, Santibanez E, Oue N, <u>Yasui W</u> and Corvalan AH	In silico analysis of gastric carcinoma serial analysis of gene expression libraries reveals different proliferas associated with ethnicity	Mol Cancer	in press		2008
Oue N, Kuniyasu H, Noguchi T, Sentani K, Ito M, Tanaka S, Setoyama T, Sakakura C, Natsugoe S and <u>Yasui W</u>	Serum concentration of Reg IV in patients with colorectal cancer: Overexpression and high Reg IV serum level is associated with liver metastasis	Oncology	72	371-380	2008
Noguchi T, Oue N, Wada S, Sentani K, Sakamoto N, Kikuchi A and <u>Yasui W</u>	h-Prune is an independent prognostic marker for survival in esophageal squamous cell carcinoma	Ann Surg Oncol	In press		2007 Sep 26; [Epub ahead of print]
Ishikawa N, Takano A, <u>Yasui W</u> , Inai K, Nishimura H, Ito H, Miyagi Y, Nakayama H, Figita M, Hosokawa M, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y and Daigo Y	Cancer-testis antigen, lymphocyte antigen 6 complex locus K is a serologic biomarker and a therapeutic target for lung and esophageal carcinomas	Cancer Res	67	11601-11611	2007
Suzuki T, Yoshida K, Wada Y, Hamai Y, Sentani K, Oue N and <u>Yasui W</u>	Melanoma-associated antigen-A1 expression predicts resistance to decetaxel and paclitaxel in advanced and recurrent gastric cancer	Oncol Rep	18	329-336	2007
Taniwaki M, Takano A, Ishikawa N, <u>Yasui W</u> , Inai K, Nishimura H, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y and Daigo Y	Activation of KIF4A as a prognostic biomarker and therapeutic target for lung cancer	Clin Cancer Res	13	6624-6631	2007
Mano Y, Takahashi K, Ishikawa N, Takano A, <u>Yasui W</u> , Inai K, Nishimura H, Tsuchiya E, Nakamura Y and Daigo Y	Fibroblast growth factor receptor 1 oncogene partner as a novel prognostic biomarker and therapeutic target for lung cancer	Cancer Sci	98	1902-1913	2007

Oue N, Yoshida K, Noguchi T, Sentani K, Kikuchi A and <u>Yasui W</u>	Increased expression of h-prune is associated with tumor progression and poor survival in gastric cancer	Cancer Sci	98	1198-1205	2007
Hasegawa Y, Matsubara A, Terashima J, Seki M, Mita K, Usui T, Oue N and <u>Yasui W</u>	DNA methylation of the RIZ1 gene is associated with nuclear accumulation of p53 in prostate cancer	Cancer Sci	98	32-36	2007
Matsumura S, Oue N, Mitani Y, Kitadai Y and <u>Yasui W</u>	DNA demethylation of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) is correlated with gene expression and its possible involvement of lymphangiogenesis in gastric cancer	Int J Cancer	120	1689-1695	2007
Mitani Y, Oue N, Matsumura S, Yoshida K, Noguchi T, Ito M, Tanaka S, Kuniyasu H, Kamata N and <u>Yasui W</u>	Reg IV is a serum biomarker for gastric cancer patients and predicts response to 5-fluorouracil-based chemotherapy	Oncogene	26	4383-4393	2007
Aragane N, Imai K, Komiya K, Sato A, Tomimasu R, Hisatomi T, Sakuragi T, Mitsuoka M, Hayashi S, <u>Nakachi K</u> and Sueoka, E	Exon 19 of EGFR mutation in relation to the CA-repeat polymorphism in intron 1	Cancer Sci	in press		2008
<u>Nakachi K</u> , Hayashi T, <u>Hamatani K</u> , <u>Eguchi H</u> and <u>Kusunoki Y</u>	Sixty Years of Follow-up of Hiroshima and Nagasaki Survivors: Current Progress in Molecular Epidemiology Studies	Mut Res	in press		2008
Kanzaki H, Ouchida M, Hanafusa H, Yamamoto H, Suzuki H, Yano M, Aoe M, Imai K, Date H, <u>Nakachi K</u> and Shimizu K	The association between RAD18 Arg302Gln polymorphism and the risk of human non-small-cell lung cancer	J Cancer Res Clin Oncol	134	211-217	2008

<u>Kusunoki Y</u> and Hayashi T	Long-lasting alterations of the immune system by ionizing radiation exposure: Implications for disease development among atomic bomb survivors	Int J Radiat Biol	84	1-14	2008
Members of the Prospective Studies Collaboration and <u>Nakachi K</u>	Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55000 vascular deaths	Lancet	370	1829-1839	2007
Takahashi K, <u>Eguchi H</u> , Arihiro K, Ito R, Koyama K, Soda M, Cologne JB, Hayashi Y, Nakata Y, <u>Nakachi K</u> and <u>Hamatani K</u>	The presence of <i>BRAF</i> point mutation in adult papillary thyroid carcinomas from atomic bomb survivors correlates with radiation dose	Mol Carcinogenesis	46	242-248	2007
Yano M, <u>Hamatani K</u> , <u>Eguchi H</u> , Hirai Y, MacPhee DG, Sugino K, Dohi K, Itamoto T, Asahara T	Prognosis in patients with hepatocellular carcinoma correlates to mutations of p53 and/or hMSH2 genes	Eur J Cancer	43	1092-1100	2007
Kanzaki H, Ouchida M, Hanafusa H, Sakai A, Yamamoto H, Suzuki H, Yano M, Aoe M, Imai K, Date H, <u>Nakachi K</u> and Shimizu K	Single nucleotide polymorphism in the RAD18 gene and risk of colorectal cancer in the Japanese population	Oncol Rep	18	1171-1175	2007
Hayashi I, Morishita Y, Imai K, Nakamura M, <u>Nakachi K</u> and Hayashi T	High- throughput spectrophotometric assay of reactive oxygen species in serum	Mutat Res	631	55-61	2007
Sogon T, Masamura S, Hayashi S-I, Santen RJ, <u>Nakachi K</u> and Eguchi H	Demethylation of promoter C region of estrogen receptor α gene is correlated with its enhanced expression in estrogen-ablation resistant MCF-7 cells	J Steroid Biochem Mol Biol	105	106-114	2007

Sueoka N, Sato A, <u>Eguchi H</u> , Komiya K, Sakuragi T, Mitsuoka M, Satoh T, Hayashi S, <u>Nakachi K</u> and Sueoka E	Mutation profile of EGFR gene detected by denaturing high-performance liquid chromatography in Japanese lung cancer patients	J Cancer Res Clin Oncol	133	93-102	2007
Hamasaki K, Imai K, Nakachi K, Takahashi K, Kodama Y and <u>Kusunoki Y</u>	Short-term culture and γ H2AX flow cytometry determine the difference of individual radiosensitivities in human peripheral T lymphocytes	Environ Mol Mutagen	48	38-47	2007
Hamasaki K, Imai K, Hayashi T, Nakachi K and <u>Kusunoki Y</u>	Radiation sensitivity and genomic instability in the hematopoietic system: Frequencies of micronucleated reticulocytes in whole-body X-irradiated BALB/c and C57BL/6 mice	Cancer Sci	98	1840-1844	2007
Preston D, Ron E, Tokuoka S, Funamoto S, <u>Nishi N</u> , Soda M, Mabuchi K and Kodama K	Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998	Radiat Res	168	1-64	2007
<u>Nishi N</u> , Sugiyama H, Hsu W, Soda M, Kasagi F, Mabuchi K, Kodama K	Differences in mortality and incidence for major sites of cancer by education level in a Japanese population	Ann Epidemiol	In press		2008
Preston DL, Cullings H, Suyama A, Funamoto S, <u>Nishi N</u> , Soda M, Mabuchi K, Kodama K, Kasagi F, Shore RE	Solid cancer incidence in atomic bomb survivors exposed in utero or as young children	J Natl Cancer Inst	In press		2008
Tomida J, Masuda Y, Hiroaki H, Ishikawa T, Song I, Tsurimoto T, Tateishi S, Shiomi T, Kamei Y, Kim J, <u>Kamiya K</u> , Vaziri C, Ohmori H and Todo T	DNA damage induced ubiquitylation of RFC2 subunit of RFC complex	J Biol Chem	in press		2008 Feb 1; [Epub ahead of print]