

構が存在し卵巣転移を抑制している可能性がある。

臓器特異的転移の「臓器特異性」においては、体内を巡るがん細胞が標的臓器に生着し腫瘍を形成する、転移の最終段階が特に重要と考えられる。この段階は、がん細胞の性格と標的臓器の微小環境との相互作用に依存する。一方、Krukenberg 腫瘍においては、卵巣間質の肉腫様増殖が一つの特徴である。そこである種のがん細胞は、卵巣間質細胞と著明な相互作用を来し、その結果増殖した卵巣間質ががん細胞の卵巣転移を促進するという仮説も考えられる。卵巣転移性腫瘍の臨床症例における検討では、E-cadherin の発現低下が約半数の症例でみられたが、これらの症例の大半においては、卵巣間質のびまん性増殖も同時に認められた。我々の *in vivo* 卵巣転移モデルにおいても、RERF-LC-AI の E-cadherin 発現低下と卵巣転移腫瘍での間質増殖とが共に認められている。卵巣転移性腫瘍においてがん・間質相互作用が存在するとすれば、E-cadherin の発現低下がその相互作用における必要条件である可能性がある。

卵巣転移性腫瘍の臨床症例における検討では、E-cadherin の発現低下が認められた腫瘍の原発部位はほとんどが胃もしくは乳腺であり、解剖学的に卵巣から離れた臓器であった。他方、E-cadherin 陽性症例のほとんどは結腸由来であり、卵巣と比較的接近した

臓器からの転移とみなすことができる。従って、卵巣への転移には複数の機序があると推測される。解剖学的近接性によらない、比較的遠隔の臓器からの卵巣転移には、がん細胞の卵巣特異的な転移向性が関与しており、そこには E-cadherin 発現低下が必須である可能性がある。このような機序の転移においては、がん細胞株と卵巣間質細胞との相互作用が転移を促進しているとも考えられる。

2) 肺腺がんにおける micropapillary pattern の病理組織学的検討

MPP tuft は、一枚の切片上においては主病巣から離れて腔内に浮いているように見えるが、連続切片による検討にて、tuft は主病巣から腔内に伸張しており MPP は複雑な形態を呈していると考えられた。肺は他臓器に比較して十分な含気腔を有しており、腫瘍細胞の伸張が容易であるのかもしれない。病理診断上においては肺内転移との鑑別が問題となるが、通常では肺内転移巣においては血管や間質が存在するが、MPP tuft 内にはそれらが存在せず、両者の鑑別点となる。tuft を構成する腫瘍細胞の栄養経路は現在の段階では不明である。

MPP tuft を構成する腫瘍細胞は極性を欠失している可能性が示唆された。他文献において、ショウジョウバエにおいて細胞極性の喪失と腫瘍の浸潤性とが関係するという報告があるが、リンパ管侵襲・静脈侵襲との相関を鑑

みれば MPP は強い浸潤性を持つと考えられ、MPP においても細胞極性の喪失と浸潤性とが関係しているのかもしれない。

基底膜や血管線維束の欠失・腫瘍細胞-基質間接着の欠失・腫瘍細胞-細胞間接着の保持・Ki-67 陽性所見・リンパ管侵襲やリンパ節転移との相関、そして生存分析の結果から、MPP は腫瘍細胞が積み重なった (piling-up) 形態であり、それを構成する腫瘍細胞は、血管や基質との連続性の欠失にも関わらず増殖能を喪失しておらず、また高い悪性度を持っていると考えられる。通常、基質との接着性を失った上皮細胞はアポトーシス (アノイキス) に陥るが、MPP を構成する腫瘍細胞は、足場非依存性増殖能 (anchorage-independent growth) とアノイキス抵抗性を獲得し、リンパ行性転移を始めとしたがんの進行において有利に働いていると考えられる。リンパ節転移を伴わない stageIA 群における MPP 陰性群の 5 / 10 年生存率は 98.1% / 98.1% と非常に良好な生存率であったのに対し、陽性群の同生存率は 77.6% / 67.6% と陰性群に比して大きく不良であった。現在、治療方針は主に病理病期により決定されているが、MPP は stageIA 早期肺腺癌における重要な予後因子となる可能性が示された。

E. 結論

病理組織ならびに in vivo モデルを用い相補的に解析を行うことで、多彩な病理像の背景の分子基盤を明らかにし、病態の解明に加えて、臨床応用可能な新しい診断・治療法を開発することを目的に研究を行った。本年度は特に、卵巣における微小環境とがん細胞との相互作用に E-cadherin が関与している可能性が示唆され、E-cadherin の新たな調節機構の解明につながるものと期待される。Micropapillary pattern は各種腺がんにおいて注目されたきており、その細胞生物学的な機序、臨床病理学的な意義に関して今後解析が進むものと期待される。

F. 健康危険情報 該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tanese K, Fukuma M, Yamada T, Mori T, Yoshikawa T, Watanabe W, Ishiko A, Amagai M, Nihsikawa T, Sakamoto M: G-Protein-Coupled Receptor GPR49 is Up-regulated in Basal Cell Carcinoma and Promotes Cell Proliferation and Tumor Formation. *Am J Pathol*, 2008; 173: 835-843.
2. Kamiya K, Hayashi Y, Douguchi J, Hashiguchi A, Yamada T, Izumi Y, Watanabe M, Kawamura M,

- Horinouchi H, Shimada N, Kobayashi K, Sakamoto M: Histopathological features and prognostic significance of the micropapillary pattern in lung adenocarcinoma. *Mod Pathol*, 2008; 21: 992-1001.
3. Hanada S, Maeshima A, Matsuno Y, Ohta T, Ohki M, Yoshida T, Hayashi Y, Yoshizawa Y, Hirohashi S, Sakamoto M: Expression Profile of Early Lung Adenocarcinoma: Identification of MRP3 as a Molecular Marker for Early Progression. *J Pathol*, 2008; 216: 75-82.
4. Kuwabara Y, Yamada T, Yamazaki K, Du W, Banno K, Aoki D, Sakamoto M: Establishment of an ovarian metastasis model and possible involvement of E-cadherin down-regulation in the metastasis. *Cancer Sci*, 2008; 99: 1933-1939.
5. Du W, Hozumi N, Sakamoto M, Hata J, Yamada T: Reconstitution of Schwannian Stroma in Neuroblastomas Using Human Bone Marrow Stromal Cells. *Am J Pathol*, 2008; 173: 1153-1164.
6. Yamazaki K, Takamura M, Masugi Y, Mori T, Du W, Hibi T, Hiraoka N, Ohta T, Ohki M, Hirohashi S, Sakamoto M. Adenylate cyclase-associated protein 1 overexpressed in pancreatic cancers is involved in cancer cell motility. *Lab Invest*, 2009; in press.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
該当なし。

消化管腫瘍の病理組織像に対する Wnt シグナルと TGF- β シグナルの作用

研究分担者 加藤 光保 筑波大学教授

研究要旨

大腸粘膜幹細胞の動態を解析し、およそ7日に1回分裂する細胞が1陰窩あたりおよそ10個存在することを明らかにした。また、大腸がんの発生と進展に関与する TGF- β シグナル関連分子の同定を目的とした研究を行い、TGF- β の標的遺伝子で多くのがん細胞で発現が亢進している TMEPAI が Smad をトラップすることで TGF- β シグナルを負に制御する機能を持つことを明らかにした。

A. 研究目的

本研究は、大腸がんの発生と進展に関与する分子異常と病理組織構造の変化の関係についてマウスモデルを用いて解析するとともに、大腸がんの発生と進展を制御する分子標的治療を開発するための動物モデルを作製することを目的とした。

B. 研究方法

ミニ浸透圧ポンプを用いた BrdU の持続注入と組織像のポリウムレンジリングソフトウェアによる3次元再構築を用いた定量形態学的手法を用い、大腸粘膜幹細胞の動態を解析した。また、種々の分子生物学的手法を用い、がん細胞で発現が後進している TMEPAI の機能を解析した。さらに、TGF- β 1 トランスジェニックマウスや条件付き誘導的 Smad4 ノックアウトマウスを作製し、消化管粘膜の維持と腫瘍形成における TGF- β シグナルの作用について検討した。

（倫理面への配慮）

遺伝子組換え実験と動物実験は、大学に実験計画を提出し、承認を得て実施した（遺伝子組換え実験承認番号 040211, 040212、動物実験承認番号 08-097号）。

C. 研究結果

腸粘膜の3次元定量解析を行い、およそ7日に1回分裂する組織幹細胞と推定される細胞が1陰窩あたりおよそ10個存在することを明らかにした。また、がん組織で発現が亢進している TGF- β の標的遺伝子であることを示した TMEPAI が TGF- β シグナルを抑制する機能をもつことを明らかにした。さらに、TGF- β 1 トランスジェニックマウスと Apc^{Mini+}マウスを交配し、TGF- β が消化管腺腫の発生を促進する可能性を示したが、トランスジーンが発現が弱く、確定的な結果を得るに至らなかった。条件付き誘導的 Smad4 ノックアウトマウスでは、陰窩構造の維持に Smad4 が必要であることが示された。

D. 考察

正常陰窩における幹細胞の動態を解析できたことにより、次のがん幹細胞の本態にせまる研究基盤ができたと考えられた。次年度は Apc^{Mini+}マウスの消化管腺腫におけるがん幹細胞について同様の解析を行う予定である。TGF- β シグナルの腫瘍形成における意義については、TMEPAI の腫瘍形成における役割を TMEPAI ノックアウトマウスを用いた大腸発がん実験等によってさらに解析を進める予定である。TGF- β 1 トランスジェニックマウスについては、異なるベクターを用いて再度トランスジェニックマウスを作製し、その上で再度 Apc^{Mini+}マウスとの交配実験を行う必要があると判断された。

E. 結論

組織の基本ユニットを3次元で定量的に解析する方法の確立により、がん幹細胞の動態や組織像の変化に関する新たな研究手法が確立された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wang B, Suzuki H and **Kato M**. Roles of mono-ubiquitinated Smad4 in the formation of Smad transcriptional complexes. **Biochem Biophys Res Commun** 376(2): 288-292, 2008.
- 2) Shi L, Itoh F, Itoh S, Takahashi S, Yamamoto M and **Kato M**. Ephrin-A1 promotes the malignant progression of intestinal tumors in Apc^{Mini+} mice. **Oncogene** 27(23): 3265-3273, 2008.
- 3) Suzuki H, Kato Y, Kato-Kaneko M, Okita Y, Narimatsu H and **Kato M**. Induction of podoplanin by transforming growth factor- β in human fibrosarcoma. **FEBS Lett** 582: 341-345, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし。

がん病理・病態学的特性の分子基盤の解析とそれに基づく診断・治療法の開発に関する研究

研究代表者又は研究分担 平尾 敦 金沢大学がん研究所教授

脳腫瘍モデルにおいて幹細胞マーキングシステムを用いることにより、腫瘍起源細胞 (tumor-initiating cell) を特定することができた。また、これらの細胞が、未分化抗原を発現していることから、腫瘍組織の中に階層構造が存在することが確認された。

A. 研究目的

生体内におけるがん幹細胞の動態を病理学的観点から理解することを目的とし、腫瘍組織内の腫瘍起源細胞の存在、階層構造の有無を検討した。その目的のために、正常幹細胞マーキングシステムが有効かどうかを検討した。

B. 研究方法

p16INK4a/p19Arf欠損マウス由来、神経幹細胞を分離し、ニューロスフェア培養法により増殖させた後、活性型K-ras遺伝子を導入後、大脳基底核に注入することによって脳腫瘍を形成させた。ヌクレオステミン発現モニタリングシステムトランスジェニックマウス由来の脳腫瘍を作成し、GFPによってtumor-initiating cellが濃縮できるかどうかを検討した。

C. 研究結果

GFP陽性細胞が高頻度に腫瘍形成能を持つこと、未分化マーカーの発現がGFPの発現と相関することが観察され、GFPによってがん幹細胞が特定できることが確認できた。

D. 考察

ヌクレオステミン発現モニタリングシステムが脳腫瘍において、腫瘍細胞の中でも未分化な細胞（がん幹細胞）の特定に有用であることが確認できた。このシステムを用いることにより、腫瘍細胞の分化過程をモニターすることが可能になる。またGFPの発現により、その局在が特定できるため、環境因子の検討が可能でなるなど、汎用性のあるシステムであることが判明した。

E. 結論

幹細胞研究を基盤とした幹細胞マーキングシステムと腫瘍モデルを組み合わせることで、がん幹細胞の特定や動態の解明が可能になる。さらに、本研究を進展させ、その知見をヒトの腫瘍適用することによって、新規の診断・治療法の開発に寄与することが期待できる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ohmura M, et al. Identification of Stem Cells During Prepubertal Spermatogenesis Via Monitoring of Nucleostemin Promoter Activity. *Stem Cells*. 26:3237-46, 2008

Oguma K, et al. Activated macrophages promote Wnt signalling through tumour necrosis factor-alpha in gastric tumour cells. *EMBO J*. 27:1671-81, 2008

2. 学会発表

Hirao A: 第67回日本癌学会学術集会 名古屋、平成20年10月27日

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

なし

発現解析によるがん間質相互作用における重要分子の同定

研究分担者 深澤 由里 国立がんセンター研究所病理部

研究要旨：大腸癌組織から採取した線維芽細胞を免疫原として得た抗体のうち、PGP9.5およびp63の抗体を用いて、大腸癌組織のがん間質の評価を免疫組織化学的手法を用いて検討した。がん間質にPGP9.5あるいはp63の発現が高い症例は、低い症例と比して有意に予後不良であった。PGP9.5は再発に関して、p63は生存に関して独立した予後因子であった。また、増殖能のマーカーの一つであるtNASP抗体を用いて乳がんのがん間質を評価し、NASP陽性細胞の多い症例は、少ない症例と比して有意に予後不良であった。

A. 研究目的

がん症例の予後は腫瘍の浸潤・転移能に依存しており、それらはがん間質自身とその周囲に因襲する間質細胞との相互作用などのがん周囲の微小環境によって規定される。間質構成細胞の中でも、活性化した線維芽細胞は、がん間質相互作用を理解する上で重要と考えられるが、活性化した線維芽細胞に特異的に発現するマーカー分子は少ない。そこで、活性化した線維芽細胞に発現を認め、その発現程度が予後と相関する重要な分子を選出するために、線維芽細胞を免疫原としたモノクローナル抗体を作製する。それにより、がん間質相互作用の一端を理解し、術後の治療選択や治療法の開発に結び付けることを目的とする。さらに、がん間質の評価法の一つとして、がん間質構成細胞の増殖能を評価することで、がん間質の活性化度、さらにはがん自身の悪性

度の評価が可能なマーカー分子を選出することを目的として、Ki67と新規増殖マーカーにおけるがん間質の評価を行う。

B. 研究方法

ヒト大腸癌組織から初代培養線維芽細胞を採取し、その細胞のタンパクを免疫原としてマウスに免疫し、同マウスの脾臓より得たリンパ球とSP2細胞を融合させ、モノクローナル抗体を得る。数種のがん組織を用いて免疫組織化学染色を施行し、がん周囲の線維芽細胞に陽性像を認める培養上清のみを選出し、質量分析により抗原を同定する。

得られた抗体を用いて、ヒト大腸癌のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いた免疫染色を行い、がん間質における各分子の発現程度と臨床病理学的因子との相関を統計学的に解析する。また、線維芽細胞の培養株に対しTGF β 刺激を行い、

各分子の発現変化を見る。また、間質の増殖能を評価するために増殖マーカーの一つであるtNASP抗体を用いて、乳がんのがん間質における発現細胞数を数え、予後との相関を検討する。

(倫理面への配慮)

包括同意を得られた患者の検体のみを利用し、また何れの試料も診療に影響しない残余の部分より採取している。倫理委員会の承認を得ており、患者への不利益を生じさせないよう倫理面に十分配慮して研究を進めている。

C. 研究結果

線維芽細胞を免疫原として得られたモノクローナル抗体は11抗体、うち質量分析により抗原を同定できたものは9抗体 (FLMB, IQGAP1, MYH9, MAP4, ACTN1/ACTIN4, CKAP4/CLIMP63/p63, AATM/GOT2, BAP31, UCHL1/PGP9.5/PARK5)であった。これらの抗体のうちPGP9.5およびp63は、がん間質において発現が高い症例は有意に予後不良であった。PGP9.5は再発に関してリンパ節転移と共に独立した予後因子となり、p63は生存に関してリンパ節転移、腫瘍の深達度と共に独立した予後因子であった。そこで、ヒト線維芽細胞の培養細胞株にTGF β による刺激を行い、発現量の変化を測定したが、PGP9.5はTGF β 刺激により発現が誘導されることが示された。

増殖能のマーカーであるtNASP抗体とki67抗体の免疫組織化学染色切片においてがん間質を観察したところ、tNASPは一部の線維芽細胞および血管内皮細胞に陽性であるが、炎症細胞にはほとんど陽性像を認めなかった。一方、間質における

ki67陽性細胞の大部分が炎症細胞であり、線維芽細胞および血管内皮細胞における陽性像は少数であった。がん間質においてtNASP陽性細胞の多い症例は、少ない症例と比して、有意に予後不良であることが示されたが、ki67陽性細胞の数と予後との関連は認められなかった。

D. 考察

ヒト大腸癌組織から得られた線維芽細胞を免疫原として得られたモノクローナル抗体は、いずれも活性化した線維芽細胞に高い発現を認める有用な抗体であった。得られた抗体のうち2抗体においては、がん間質における発現程度と予後との間に有意な関連を認め、がん間質を客観的に評価できる有益な抗体であることが示された。腫瘍におけるPGP9.5の発現に関しては、高発現の腫瘍細胞は低発現の腫瘍細胞と比して腫瘍の悪性度が高いという報告がある一方、腫瘍増殖に対して抑制的に働くとの報告もあり、PGP9.5の発現意義においては現在において明らかになっていない。しかし、線維芽細胞培養株をTGF β で刺激することによりPGP9.5の発現が誘導されることから、PGP9.5は線維芽細胞の活性化の指標であることが示唆され、さらにはがん間質の活性化の指標となる可能性が考えられる。p63については、微小管と核膜との分離に関わる分子としての報告はあるが、線維芽細胞における発現意義に関しては、今回の研究では明らかに出来なかった。NASPはsomatic typeとtestis typeが存在するが、tNASPは精巣など限定した細胞に発現することが知られている。よって、がん間質においてtNASP陽性細胞の大部分が線

維芽細胞と血管内皮細胞であり炎症細胞は発現がごく少数であった理由として、tNASPが臓器特異性、細胞特異性のある増殖マーカーである可能性が考えられる。がん間質は複数の細胞種が混在する複雑な組織像であり、特定の細胞腫の増殖能を評価できることが、予後との相関がみられた理由の一つであると考えられる。

E. 結論

活性化した線維芽細胞を認識するモノクローナル抗体を11抗体得た。そのうちPGP9.5、p63においては、免疫組織化学的手法を用いて客観的にがん間質を評価した結果、その発現程度が独立した予後予測因子となる有益な抗体であることが確認された。また、増殖マーカーの一つであるtNASP抗体を用いてがん間質を評価した結果、予後との関連を認め、新規の有益な増殖マーカーであることが示された。

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

グライコームの解析に基づくがんの診断法、治療応答性・転移再発予測法の開発

分担研究者 神奈木 玲児 愛知県がんセンター・研究所分子病態学部・部長

研究要旨: CD44とヒアルロン酸糖鎖を介する細胞接着は、セレクトインとその糖鎖リガンドを介する細胞接着と並んで、癌細胞の運動性や浸潤能、転移能において重要な役割を演じる。CD44にはスタンダード型とバリエーション型があるが、とくにバリエーション型の癌細胞における出現が、癌の転移と臨床的に良く相関することが知られてきたが、スタンダード型とバリエーション型の間には、ヒアルロン酸糖鎖への接着能に大きな差がなく、バリエーション型がよく転移と相関する生理機能的背景は不明であった。今回我々は、バリエーション型CD44のみがそのバリエーション領域にO-グリカン糖鎖を有し、癌細胞ではしばしばセレクトインの糖鎖リガンド活性を有する糖鎖がこの領域に結合していることを見いだした。このようなバリエーション型CD44は、ヒアルロン酸糖鎖を介する細胞接着を引き起こすのみならず、この糖鎖を介してセレクトインとの結合能をも有し、一分子で二つの細胞接着系において機能する分子と考えられる。これが、バリエーション型がよく転移と相関する分子機能的な背景と考えられた。特異抗体を用いて患者検体中でセレクトインの糖鎖リガンド活性を有する糖鎖を結合するバリエーション型CD44を特異的に検出する測定系を構築した。

A.研究目的

細胞が癌化すると細胞表面の糖鎖に大きな変化が生じる。これらの糖鎖の一部には生理的機能があり、癌細胞の運動性や浸潤能、転移能に深く関与する。一部の糖鎖は糖鎖認識分子と相互作用して細胞接着を引き起こす。CD44とヒアルロン酸糖鎖を介する細胞接着や、セレクトインとその糖鎖リガンドを介する細胞接着がその好例であり、癌細胞と間質細胞(血管内皮細胞・免疫細胞・線維芽細胞など)の相互作用を媒介する。癌細胞の糖鎖異常はこうした上皮細胞と間質細胞で構成される微小環境に大きな変化をもたらす。本研究はこの相互作用の分子機構を明らかにして臨床応用可能な新しい診断・治療法の開発につなげることを研究目的としている。今年度は特にCD44とヒアルロン酸糖鎖を介する細胞接着について検討した。

癌細胞では一部の糖鎖合成遺伝子の転写が亢進し異常糖鎖が出現する。また我々は、癌化に伴って糖鎖関連遺伝子の一部にエピジェネティックな転写抑制が起こり、このため正

常糖鎖が変形した不全糖鎖が癌に発現する事が、癌における糖鎖変化の要因として重要であることも明らかにしてきた。これにより、癌で増加する不全型糖鎖にそれぞれ対応する正常型糖鎖が存在することが明らかとなりつつある。本研究においてはこれら癌に出現する糖鎖とそれに対応する正常型糖鎖を組み合わせさせて癌診断に応用する。

B.研究方法

培養大腸癌細胞のCD44に結合する糖鎖を、抗CD44抗体による免疫沈降法とそれにつづく特異的抗糖鎖抗体によるウェスタンブロット法にて解析した。抗糖鎖抗体には、セレクトインの糖鎖リガンド活性を有する糖鎖にタイする抗体を含めて検討した。特定の糖鎖を結合したCD44を発現する一連の細胞を遺伝子導入により作製し、この細胞から可溶性CD44を調製して解析した。さらに、バリエーション型CD44に対する特異抗体と抗糖鎖抗体を組み合わせることにより、患者検体中でセレクトインの糖鎖リガンド活性を有する糖鎖を結合するバリエーション型

CD44を特異的に検出する測定系の構築を試みた。

(倫理面への配慮)

研究に使用する臨床材料は、材料を得る各施設での倫理委員会を経たものを用いた。

C. 研究結果

1) I型糖鎖グループの癌型グリコームを持つバリエーション型CD44分子の解析

培養大腸癌細胞から調製した細胞膜画分を抗CD44抗体によって免疫沈降法し、特異的抗糖鎖抗体によるウェスタンブロット法にて解析したところ、I型糖鎖グループに属するセレクチンと結合する癌関連性糖鎖として良く知られるシアリルルイスa糖鎖がバリエーション型CD44分子上にしばしば検出された。スタンダード型のCD44分子上にはほとんど検出されなかった。シアリルルイスa糖鎖を結合するバリエーション型CD44分子を可溶化するため、界面活性剤による抽出法、イオノマイシンやTPAによる遊離法などを検討したところ、イオノマイシンによる遊離法が最も効率が高いことが判明した。可溶化したシアリルルイスa糖鎖を結合するバリエーション型CD44分子をN-グリカンあるいはO-グリカン特異的分解酵素で処理したところ、シアリルルイスa糖鎖はバリエーション型CD44分子のO-グリカンに担われていることが判明した。

2) I型糖鎖グループの正常上皮型グリコームを持つバリエーション型CD44分子の解析

我々は以前から、シアリルルイスa系統の糖鎖は癌細胞に高頻度に出現する一方、類似した構造を持つジシアリルルイスa系統の糖鎖は正常上皮細胞に高発現することを見だし報告してきた。培養癌細胞では正常型糖鎖であるジシアリルルイスa糖鎖を強発現する細胞株が得られないので、ジシアリルルイスa糖鎖を合成する遺伝子を人工的に導入することによってジシアリルルイスa糖鎖を強発現する細胞株を作製した。本細胞から上記と同様にイオノマイシンによって可溶化バリエーション型CD44分子を得て解析したところ、ジシアリルルイスa糖鎖も主としてバリエーション型CD44分子のO-グリカンに担われていることが判明した。

3) II型糖鎖グループのグリコームを持つバリエーション型CD44分子の解析

培養大腸癌細胞から調製したCD44分子には、セレクチンと結合するII型糖鎖グループの癌関連性糖鎖として良く知られるシアリルルイスx糖鎖がバリエーション型CD44分子上にしばしば検出された。この場合も、スタンダード型のCD44分子上にはほとんど検出されなかった。イオノマイシンによって可溶化バリエーション型CD44分子を得て解析したところ、シアリルルイスx糖鎖も主としてバリエーション型CD44分子のO-グリカンに担われていることが判明した。

我々は以前から、シアリルルイスx系統の糖鎖は癌細胞に高頻度に出現するが、これに対してシアリル6-スルホルイスx系統の糖鎖は正常上皮細胞に高発現することを報告している。培養癌細胞では正常型糖鎖であるシアリル6-スルホルイスx糖鎖を強発現する細胞株が得られないので、シアリル6-スルホルイスx糖鎖を合成する遺伝子を人工的に導入することによってシアリル6-スルホルイスx糖鎖を強発現する細胞株を作製した。この細胞においても、シアリル6-スルホルイスx糖鎖はバリエーション型CD44分子のO-グリカンに担われていることが判明した。

4) 特定の糖鎖修飾を持つバリエーション型CD44分子の特異的検出法の構築

上記の研究で用いた特異的抗糖鎖抗体と、市販の抗バリエーション型CD44抗体を組み合わせ、特定の糖鎖修飾を持つバリエーション型CD44分子のELISA法による簡便な特異的検出法を構築した。それぞれの糖鎖を結合する可溶化バリエーション型CD44分子を標準物質に用いたところ、良好な測定標準曲線が得られた。健常人、良性疾患および癌患者血清(n=40)で測定したところ、シアリルルイスa糖鎖を有するバリエーション型CD44分子やシアリルルイスx糖鎖を有するバリエーション型CD44分子は有意に癌患者で高値となった(それぞれ $p < 0.005$ および $p < 0.01$)。また、正常型糖鎖であるジシアリルルイスa糖鎖を有するバリエーション型CD44分子は、癌患者よりむしろ良性疾患患者で統計的に有意に高値となった($p < 0.005$)。

5) 癌化にともなうヒアルロン酸糖鎖の変化の解析

CD44分子が結合する相手側分子であるヒアルロン酸糖鎖についても検討を加えた。本年度はとくに低酸素による癌細胞のヒアルロン酸糖鎖産生の変化を解析した。その結果、ヒアルロン酸合成酵素HAS3と分解酵素HYAL1の転写が低酸素によって誘導されることが判明した。これにより低酸素下では癌細胞マトリックスのヒアルロン酸が著明に増加し、さらに低分子量ヒアルロン酸断片が蓄積することを見いだした。

D. 考察

1) バリエーション型CD44分子のグリコーム解析

セレクチンの糖鎖リガンドを側鎖に持つバリエーション型CD44は、ヒアルロン酸への結合能に加えてセレクチンへの結合能を持ち、一分子で二重の細胞接着活性を有する。癌細胞のCD44は細胞運動に際して切断されることが知られ、このバリエーション型CD44断片を測定することにより癌細胞の運動能を反映した診断法に発展し、あわせて良・悪性細胞に特有の糖鎖の検出により良性疾患との鑑別が可能になると期待される。

2) 低酸素によるヒアルロン酸変化の解析

低酸素による細胞外マトリックスのヒアルロン酸変化は、癌細胞の運動性において重要な役割を演じることが従来から知られるCD44-ヒアルロン酸細胞接着系の活性化をもたらすと考えられる。特に低分子量ヒアルロン酸断片は生物活性が強いことが以前から知られており、その産生の抑制が将来の治療法に結びつく可能性がある。

E. 結論

今年度の成果により、CD44-ヒアルロン酸糖鎖を介した細胞接着系と、セレクチン-糖鎖リガンドを介した細胞接着系のクロストークが明らかとなり、これを検出する臨床診断への応用の試みが前進した。また、ヒアルロン酸の合成・分解酵素遺伝子の変化は、癌化にともなうCD44-ヒアルロン酸細胞接着系の亢進を抑制する治療においてターゲットの良い候補になると考えられた。

F. 健康危険情報

現在のところ、特記すべきものはありません。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Chen, G.-Y., Sakuma, K., and Kannagi, R. Significance of NF- κ B/GATA axis in TNF- α -induced expression of 6-sulfated cell-recognition glycans in human T-lymphocytes. *J. Biol. Chem.*, **283**: 34563-34570, 2008.
2. Kannagi, R., Yin, J., Miyazaki, K., and Izawa, M. Current relevance of incomplete synthesis and neo-synthesis for cancer-associated alteration of carbohydrate determinants. *Biochim. Biophys. Acta*, **1780**: 525-531, 2008.
3. Lim, K.-T., Miyazaki, K., Kimura, N., Izawa, M., and Kannagi, R. Clinical application of functional glycoproteomics - dissection of glycotopes carried by soluble CD44 variants in sera of patients with cancers. *Proteomics*, **8**: 3263-3273, 2008.
4. Koyama, H., Kobayashi, N., Harada, M., Takeoka, M., Kawai, Y., Sano, K., Fujimori, M., Amano, J., Ohhashi, T., Kannagi, R., Kimata, K., Taniguchi, S., and Itano, N. Significance of tumor-associated stroma in promotion of intratumoral lymphangiogenesis. Pivotal role of a hyaluronan-rich tumor microenvironment. *Am. J. Pathol.*, **172**: 179-193, 2008.
5. Nonomura, C., Kikuchi, J., Kiyokawa, N., Ozaki, H., Mitsunaga, K., Ando, H., Kanamori, A., Kannagi, R., Fujimoto, J., Muroi, K., Furukawa, Y., and Nakamura, M. CD43, but not P-selectin glycoprotein ligand-1, functions as an E-selectin counter-receptor in human pre-B-cell leukemia NALL-1. *Cancer Res.*, **68**: 790-799, 2008.
6. Kawamura, Y.I., Toyota, M., Kawashima, R., Hagiwara, T., Suzuki, H., Imai, K., Shinomura, Y., Tokino, T., Kannagi, R.

- and Dohi, T. DNA hypermethylation contributes to incomplete synthesis of carbohydrate determinants in gastrointestinal cancer. *Gastroenterology*, **135**: 142-151, 2008.
7. Zhang, H., Yoshioka, S., Miyazaki, M., Kannagi, R., and Suzuki, A. Core 2 GlcNAc modification and megalin ligand-binding activity. *Biochim. Biophys. Acta*, **1780**: 479-485, 2008.
 8. Kyogashima, M., Tadano-Aritomi, K., Aoyama, T., Yusa, A., Goto, Y., Tamiya-Koizumi, K., Ito, H., Murate, T., Kannagi, R., and Hara, A. Chemical and apoptotic properties of hydroxy-ceramides containing long-chain bases with unusual alkyl chain lengths. *J. Biochem.*, **144**: 95-106, 2008.
 9. Suzuki, K., Yamamoto, K., Kariya, Y., Maeda, H., Ishimaru, T., Miyaura, S., Fujii, M., Yusa, A., Joo, E.J., Kimata, K., Kannagi, R., Kim, Y.S., and Kyogashima, M. Generation and characterization of a series of monoclonal antibodies that specifically recognize [HexA(+/-2S)-GlcNAc]_n epitopes in heparan sulfate. *Glycoconj. J.*, **25**: 703-712, 2008.
 10. Kannagi, R., Ohmori, K., and Kimura, N. Anti-oligosaccharide antibodies as tools for studying sulfated sialoglycoconjugate ligands for siglecs and selectins. *Glycoconj. J.*, 2009, in press.
 11. Varki, A., Kannagi, R., and Toole, B.P. Glycosylation changes in cancer. In: A. Varki, R.D. Cummings, J.D. Esko, H.H. Freeze, G.W. Hart and J.D. Marth (eds.), *Essentials of Glycobiology*, pp. 617-632, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008.
 12. Kannagi, R. and Kimura, N. Monoclonal antibody as a clue to structural analysis of bioactive functional glycoconjugates. mune cell trafficking. In: N. Taniguchi, A. Suzuki, Y. Ito, H. and S. Hase (eds.), *Experimental Glycoscience, Glycochemistry*, pp. 60-63, Tokyo: Springer Japan, 2008.
 13. Kannagi, R. and Ohmori, K. Carbohydrate ligands for selectins in immune cell trafficking. In: N. Taniguchi, A. Suzuki, Y. Ito, H. and S. Hase (eds.), *Experimental Glycoscience, Glycobiology*, pp. 148-153, Tokyo: Springer Japan, 2008.
 14. Kannagi, R. and Seko, A. Roles of carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer progression. In: N. Taniguchi, A. Suzuki, Y. Ito, H. and S. Hase (eds.), *Experimental Glycoscience, Glycobiology*, pp. 246-251, Tokyo: Springer Japan, 2008.
- ## 2.学会発表
1. Chen G-Y, Sakuma K, Kannagi R.: Regulation of glycosyltransferase gene expression involved in lymphocyte homing. Sixth International Glycosyltransferase Conference (GlycoT2008), Atlanta, USA, May 17-21, 2008.
 2. Kannagi R., Ohmori K, Sakuma K, Kimura N: Sialylated and sulfated ligands on human B-lymphocytes for CD22/Siglec2. 12th International Conference on Biology and Chemistry of Sialic Acid (SialoGlycoT2008), Moscow-St.Petersburg, Russia, July 21-26, 2008.
 3. Lim K-T, Miyazaki K, Kannagi R.: Dissection of glycotopes carried by soluble CD44-variants in sera of patients with cancers. The 36th Congress of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine (ISOBM 2008) "Development of new molecular tumor markers for diagnosis and therapy", Tokyo, October 5-9, 2008.
 4. 宮崎敬子、遊佐亜希子、木村尚子、井澤峯子、神奈木玲児: 大腸癌細胞における硫酸トランスporter 遺伝子 *DTDST* の epigenetic silencing によるシアルルLe^x の発現誘導の生理的意義. 第28回日本分子腫瘍マーカー研究会, 名古屋, 10月 27

- 日, 2008.
5. 神奈木玲児: 癌のプログレッションにともなう細胞表層の接着分子の変化. 第67回日本癌学会総会, 名古屋, 10月 28日-30日, 2008.
 6. 宮崎敬子, 遊佐亜希子, 木村尚子, 井澤峯子, 神奈木玲児: 硫酸トランスポーターDTDSTの発現低下はシアリルルイスX発現を誘導し大腸癌細胞の増殖を促進する. 第67回日本癌学会総会, 名古屋, 10月 28日-30日, 2008.
 7. 林 啓智, 宮崎敬子, 木村尚子, 井澤峯子, 神奈木玲児: 患者血清中における癌関連性および正常糖鎖を結合したCD44バリエント分子の切断フラグメントの検出. 第67回日本癌学会総会, 名古屋, 10月 28日-30日, 2008.
 8. 佐久間圭一朗, 陳 国云, 木村尚子, 神奈木玲児: 悪性細胞における6-硫酸基転移酵素遺伝子の転写調節機構. 第67回日本癌学会総会, 名古屋, 10月 28日-30日, 2008.
 9. 殷 軍, 井澤峯子, 宮崎敬子, 板野直樹, 神奈木玲児: 低酸素による大腸癌細胞のヒアルロン酸合成酵素と分解酵素遺伝子の転写誘導と低分子ヒアルロン酸フラグメントの形成. 第67回日本癌学会総会, 名古屋, 10月 28日-30日, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特にありません。

Ⅲ 研究成果に関する一覧表

○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
Hasebe T, Konishi M, Iwasaki M, Nakagohri T, Takahashi SI, Gotohda N, Kinoshita T, <u>Ochiai A</u>	Primary tumor/-vessel tumor/-nodal tumor classification of extrahepatic bile duct carcinoma.	Hum Pathol.	39(1)	37-48	2008
Fujii S, <u>Ochiai A</u>	Enhancer of zeste homologue 2 (EZH2) down-regulates E-cadherin by mediating histone H3 methylation in gastric cancer cell.	Cancer Science	99(4)	738-746	2008
Sangai T, Ishii G, <u>Ochiai A</u>	Roles of osteoclasts and bone-derived IGFs in the survival and growth of human breast cancer cells in human adult bone implanted into nonobese diabetic/severe combined immunodeficient mice.	Clinical & Experimental Metastasis	25(4)	401-410	2008
4. Sugiyama K, Ishii G, <u>Ochiai A</u> , Esumi H	Improvement of the breaking strength of wound by combined treatment with recombinant human G-CSF, recombinant human M-CSF, and a TGF-beta1 receptor kinase inhibitor in rat skin.	Cancer Science	99(5)	1021-1028	2008
Hoshino A, Chiba H, Nagai K, Ishii G, <u>Ochiai A</u>	Human vascular adventitial fibroblasts contain mesenchymal stem/progenitor cells.	Biochem Biophys Res Commun.	368(2)	:305-310	2008
Mitsunaga S, Kinoshita T, Hasebe T, Nakagohri T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, <u>Ochiai A</u>	Low serum level of cholinesterase at recurrence of pancreatic cancer is a poor prognostic factor and relates to systemic disorder and nerve plexus invasion.	Pancreas.	36(3)	241-248	2008
Tsuchihara K, Ogura T, Fujioka R, Fujii S, Kuga W, Saito M, Ochiya T, <u>Ochiai A</u> , Esumi H.	Susceptibility of Snark-deficient mice to azoxymethane-induced colorectal tumorigenesis and the formation of aberrant crypt foci.	Cancer Science.	99(4)	677-682	2008
Kawase A, Ishii G, Nagai K, Ito T, Nagano T, Murata Y, Hishida T, Nishimura M, Yoshida J, Suzuki K, and <u>Ochiai A</u>	Podoplanin expression by cancer associated fibroblasts predicts poor prognosis of lung adenocarcinoma.	Int J Cancer	123(5)	1053-1059	2008
Kim H.K, Ishii G, Goto K, Ota S, Kubota K, Murata Y, Mishima M, Saijo N, Nishiwaki Y, and <u>Ochiai A</u>	Expression of Breast Cancer Resistance Protein is Associated with a Poor Clinical Outcome in Patients with Small-Cell Lung Cancer.	Lung Cancer		in press (e-pub)	2008
Mizuno T, Ishii G, Nagai K, Yoshida J, Nishimura M, Mochizuki T, Kawai O, Hasebe T, <u>Ochiai A</u>	Identification of a low risk subgroup of stage IB lung adenocarcinoma patients.	Lung cancer	62(3)	302-308	2008
Ito T, Ishii G, Nagai K, Nagano T, Kojika M, Murata Y, Atsumi N, Nishiwaki Y, Miyazaki E, Kumamoto T, <u>Ochiai A</u>	Low podoplanin expression of tumor cells predicts poor prognosis in pathological stage IB squamous cell carcinoma of the lung. tissue microarray analysis of 136 patients using 24 antibodies.	Lung Cancer.	63(3)	418-424	2008
Fujii S, Ito K, Ito Y, <u>Ochiai A</u>	Enhancer of zeste homologue 2 (EZH2) down-regulates RUNX3 by increasing histone H3 methylation.	J Biol Chem.	283(25)	17324-17332	2008
Kojima M, Ishii G, Atsumi N, Fujii S, Saito N, <u>Ochiai A</u>	Immunohistochemical detection of CD133 expression in colorectal cancer, a clinicopathological study.	Cancer Sci.	99(8)	1578-1583	2008

○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
Chiba H, Ishii G, Ito TK, Aoyagi K, Sasaki H, Nagai K, <u>Ochiai A.</u>	CD105 Positive Cells in Pulmonary Arterial Blood of Adult Human Lung Cancer Patients Include Mesenchymal Progenitors.	Stem Cells.	26(10)	2523-2530	2008
Kawai O, Ishii G, Kubota K, Murata Y, Naito Y, Mizuno T, Aokage K, Saijo N, Nishiwaki Y, Gemma A, Kudoh S, <u>Ochiai A.</u>	Predominant infiltration of macrophage and CD8+ T cell in cancer nests is significant predictor of survival in Stage IV non-small-cell lung cancer.	Cancer	113(6)	1387-1395	2008
Mochizuki T, Ishii G, Nagai K, Yoshida J, Nishimura M, Mizuno T, Yokose T, Suzuki K, <u>Ochiai A.</u>	Pleomorphic carcinoma of the lung. Clinicopathological characteristics of 70 cases.	Am J Surg Pathol	32(11)	1727-1735	2008
Kosugi C, Saito N, Murakami K, <u>Ochiai A.</u> , Koda K, Ono M, Sugito M, Ito M, Oda K, Seike K, Miyazaki M.	Positron emission tomography for preoperative staging in patients with locally advanced or metastatic colorectal adenocarcinoma in lymph node metastasis	Hepatogastroenterology	55(82-83)	398-402	2008
Ota S, Ishii G, Goto K, Kubota K, Kim YH, Kojika M, Murata Y, Yamazaki M, Nishiwaki Y, Eguchi K, <u>Ochiai A.</u>	Immunohistochemical expression of BCRP and ERCC1 in biopsy specimen predicts survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin-based chemotherapy.	Lung Cancer	64(1)	98-104	2009
Fujii S, Mitsunaga S, Yamazaki M, Hasebe T, Ishii G, Kojima M, Kinoshita T, Ueno T, Esumi H, <u>Ochiai A.</u>	Autophagy is activated in pancreatic cancer cells and correlates with poor patient outcome.	Cancer Science	99(9)	1813-1819	2008
Atsumi N, Ishii, G, Kojima, M, Sanada, M, Fujii, S. <u>Ochiai A.</u>	Podoplanin, a novel marker of tumor-initiating cells in human squamous cell carcinoma A431. Biochem Biophys.	Res. Commun.	373(1)	36-41	2008
Yanagihara K., Takigahira M, Tanaka H, Arai T, Aoyagi T, Oda T, <u>Ochiai A.</u> and Nishio K.	Establishment and molecular profiling of a novel human pancreatic cancer panel for 5-FU.	Cancer Science	99(9)	1859-1864	2008
Yamada A, Sasaki H, Aoyagi K, Sano M, Fujii S, Daiko H, Nishimura M, Yoshida T, Chiba T, <u>Ochiai A.</u>	Expression of cytokeratin 7 predicts survival in stage I/IIA/IIIBsquamous cell carcinoma of the esophagus.	Oncology Rep.	20(5)	1021-1027	2008
Ito TK, Ishii G, Saito S, Yano K, Hoshino A, Suzuki T, <u>Ochiai A.</u>	Degradation of soluble VEGF receptor-1 by MMP-7 allows VEGF access to endothelial cells.	Blood.	113(10)	2363-2369	2008
Maeda H, Yonou H, Yano K, Ishii G, Saito S. <u>Ochiai A.</u>	Prostate-specific antigen enhances bioavailability of insulin-like growth factor by degrading insulin-like growth factor binding protein 5.	Biochem Biophys Res Commun.	381(3)	311-316	2008

○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
Takaishi H., Kimura T., Dalal S., Okada Y. and D' Armiento J	Joint diseases and matrix metalloproteinases: A role for MMP-13.	Curr. Pharm. Biotechnol.	9	47-54	2008
Okada A., Mochizuki S., Yatabe T., Kimura T., Shiomoto T., Fujita Y., Matsumoto H., Sebara-Fujisawa A., Iwamoto Y. and Okada Y.	ADAM12 (Meltrin \square) is involved in chondrocyte proliferation via cleavage of insulin-like growth factor-binding protein-5 in osteoarthritic cartilage.	Arthritis Rheum.	58	778-789	2008
Imai, K. and Okada Y.	Purification of matrix metalloproteinases by column chromatography.	Nat Protoc.	3	1111-1124	2008
Ikeda E., Kodama T. and Okada Y.	Brain-specific expression of vascular endothelial growth factor 146 correlates with the blood-brain barrier induction in quail embryos.	Dev. Neurosci.	30	331-339	2008
Mikami S., Oya M., Shimoda M., Mizuno R., Ishida M., Kosaka T., Mukai M., Nakajima M. and Okada Y.	Expression of heparanase in renal cell carcinomas: Implications for tumor invasion and progression.	Clin. Cancer Res.	14	6055-6061	2008
佐々木 文、岡田保典	細胞-細胞外基質インターフェイスの病理生理学: 組織内微小環境モジュレーター分子ADAMの機能と疾患への関与	生体の科学	59	129-133	2008
Kimura N., Shukunami C., Hakuno D., Yoshikawa M., Miura S., Docheva D., Kimura T., Okada Y., Matsumura G., Shin'oka T., Yozu R., Kobayashi J., Ishibashi-Ueda H., Hiraki Y. and Fukuda K.	Local tenomodulin absence, angiogenesis, and matrix metalloproteinase activation are associated with the rupture of the chordae tendineae cordis.	Circulation	118	1737-1747	2008
Tanese K, Fukuma M, Yamada T, Mori T, Yoshikawa T, Watanabe W, Ishiko A, Amagai M, Nihikawa T, Sakamoto M	G-Protein-Coupled Receptor GPR49 is Up-regulated in Basal Cell Carcinoma and Promotes Cell Proliferation and Tumor Formation.	Am J Pathol	173	835-843	2008
Kamiya K, Hayashi Y, Douguchi J, Hashiguchi A, Yamada T, Izumi Y, Watanabe M, Kawamura M, Horinouchi H, Shimada N, Kobayashi K, Sakamoto M	Histopathological features and prognostic significance of the micropapillary pattern in lung adenocarcinoma.	Mod Pathol	21	992-1001	2008
Hanada S, Maeshima A, Matsuno Y, Ohta T, Ohki M, Yoshida T, Hayashi Y, Yoshizawa Y, Hirohashi S, Sakamoto M	Expression Profile of Early Lung Adenocarcinoma: Identification of MRP3 as a Molecular Marker for Early Progression.	J Pathol	216	75-82	2008
Kuwabara Y, Yamada T, Yamazaki K, Du W, Banno K, Aoki D, Sakamoto M	Establishment of an ovarian metastasis model and possible involvement of E-cadherin down-regulation in the metastasis.	Cancer Sci	99	1933-1939	2008

○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
Du W, Hozumi N, Sakamoto M, Hata J, Yamada T	Reconstitution of Schwannian Stroma in Neuroblastomas Using Human Bone Marrow Stromal Cells.	Am J Pathol	173	1153-1164	2008
Yamazaki K, Takamura M, Masugi Y, Mori T, Du W, Hibi T, Hiraoka N, Ohta T, Ohki M, Hirohashi S, Sakamoto M.	Adenylate cyclase-associated protein 1 overexpressed in pancreatic cancers is involved in cancer cell motility.	Lab Invest		in press.	2009
Wang B, Suzuki H and Kato M	Roles of mono-ubiquitinated Smad4 in the formation of Smad transcriptional complexes.	Biochem Biophys Res Commun	376(2)	288-292	2008
Shi L, Itoh F, Itoh S, Takahashi S, Yamamoto M and Kato M.	Ephrin-A1 promotes the malignant progression of intestinal tumors in Apcmin ^{+/+} mice.	Oncogene	27(23)	3265-3273	2008
Suzuki H, Kato Y, Kato-Kaneko M, Okita Y, Narimatsu H and Kato M.	Induction of podoplanin by transforming growth factor- β in human fibrosarcoma.	FEBS Lett	582	341-345	2008
Ohmura M, Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Shugo H, Tamase A, Uema N, Ooshio T, Arai F, Takubo K, Nagamatsu G, Hamaguchi I, Takagi M, Ishihara M, Sakurada K, Miyaji H, Suda T, Hirao A.	Identification of stem cells during prepubertal spermatogenesis via monitoring of nucleostemin promoter activity.	Stem Cells	26	3237-46	2008
Oguma K, Oshima H, Aoki M, Uchio R, Naka K, Nakamura S, Hirao A, Saya H, Taketo MM, Oshima M	Activated macrophages promote Wnt signalling through tumour necrosis factor-alpha in gastric tumour cells.	EMBO J.	27	1671-81	2008
Naka K, Muraguchi T, Hoshii T, Hirao A.	Regulation of reactive oxygen species and genomic stability in hematopoietic stem cells.	Antioxid Redox Signal.	10	1883-94	2008
Lim, K-T., Miyazaki, K., Kimura, N., Izawa, M., and Kannagi B.	Clinical application of functional glycoproteomics - dissection of glycotopes carried by soluble CD44 variants in sera of patients with cancers.	Proteomics	8	3263-3273	2008
Koyama H, Kobayashi N, Harada M, Takeoka M, Kawai Y, Sano K, Fujimori M, Amano J, Ohhashi T, Kannagi B, Kimata K, Taniguchi S, and Itano N	Significance of tumor-associated stroma in promotion of intratumoral lymphangiogenesis - Pivotal role of a hyaluronan-rich tumor microenvironment	Am. J. Pathol.	172	179-193	2008
Nonomura C, Kikuchi J, Kiyokawa N, Ozaki H, Mitsunaga K, Ando H, Kanamori A, Kannagi B, Fujimoto J, Muroi K, Furukawa Y and Nakamura M	CD43, but not P-selectin glycoprotein ligand-1, functions as an E-selectin counter-receptor in human pre-B-cell leukemia NALL-1	Cancer Res.	68	790-799	2008

○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
Kawamura, Y.I., Toyota, M., Kawashima, R., Hagiwara, T., Suzuki, H., Imai, K., Shinomura, Y., Tokino, T., Kannagi, R., and Dohi, T.	DNA hypermethylation contributes to incomplete synthesis of carbohydrate determinants in gastrointestinal cancer.	Gastroenterology	135	142-151	2008
Zhang, H., Yoshioka, S., Miyazaki, M., Kannagi, R., and Suzuki, A.	Core 2 GlcNAc modification and megalin ligand-binding activity.	Biochim. Biophys. Acta	1780	479-485	2008
Kyogashima, M., Tadano-Aritomi, K., Aoyama, T., Yusa, A., Goto, Y., Tamiya-Koizumi, K., Ito, H., Murate, T., Kannagi, R., and Hara, A.	Chemical and apoptotic properties of hydroxy-ceramides containing long-chain bases with unusual alkyl chain lengths.	J. Biochem. (Tokyo)	144	95-106	2008
Suzuki K, Yamamoto K, Kariya Y, Maeda H, Ishimaru T, Miyaura S, Fujii M, Yusa A, Joo E.J, Kimata K, Kannagi R, Kim Y.S, Kyogashima M.	Generation and characterization of a series of monoclonal antibodies that specifically recognize [HexA(+/-2S)-GlcNAc]n epitopes in heparan sulfate.	Glycoconj. J.	25	703-712	2008