

200924002B (1/2)

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

ヒト多段階発がん過程におけるエピジェネティックな異常の
網羅的解明と臨床応用に関する研究

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 牛島 俊和

平成22年(2010)年 4月
1/2冊

目 次

I 総合研究報告	
ヒト多段階発がん過程におけるエピジェネティックな異常の 網羅的解明と臨床応用に関する研究 牛島俊和 1
II 研究成果の刊行に関する一覧表15
III 研究成果の刊行物・別刷19

総合研究報告書

ヒト多段階発がん過程におけるエピジェネティックな異常の網羅的解明と臨床応用に関する研究

研究代表者 牛島俊和 国立がんセンター研究所発がん研究部 部長

研究要旨

DNA メチル化異常誘発には遺伝子特異性が存在すること、その機構として、メチル化に抵抗性を示す遺伝子には Pol II が結合していることを世界で初めて明らかにした。*H. pylori* 菌感染がメチル化異常誘発の原因であること、メチル化異常誘発には感染により誘発された炎症が必須であることを示した。グローバルな低メチル化は、胃、舌発がんを抑制することを示し、DNA メチル化が大腸腫瘍細胞の未分化状態および増殖状態の維持に関与することを示した。実験動物腫瘍での数少ない遺伝子サイレンシングの一つとして、ラット前立腺がんで *Tgfr2* 遺伝子のサイレンシングを見出した。がん抑制的に働くと考えられる *miR-124a* 及び *miR-34b/c* のヒト各種がんにおけるメチル化サイレンシングを見出した。*IGFBP7* が CpG アイランドメチル化形質陽性の大腸がんではメチル化され、p53 シグナルが遮断されることを示した。新規乳がん抑制遺伝子候補 *NTN4* を同定した。肝細胞がんの発がんリスク、各種臨床病理学的性質、及び再発リスクの診断において優れた感度と特異度で判定可能な DNA メチル化マーカーを同定した。胃洗浄液での *MINT25* および *SOX17* のメチル化を用いて、胃がんの存在を診断できる可能性を示した。*RASD1* のメチル化により、骨髄腫のデキサメサゾン感受性が低下することを示した。神経芽細胞腫の予後診断は臨床試験に伴う診断を継続している。

研究分担者

金井 弥栄 国立がんセンター研究所
病理部・部長
豊田 実 札幌医科大学
生化学講座・教授
伊東 文生¹⁾ 聖マリアンナ医科大学
消化器肝臓内科・教授
松林 宏行 静岡県立静岡がんセンター
内視鏡科・医長
山田 泰広²⁾ 岐阜大学大学院医学系研究科
腫瘍制御学講座・准教授
京都大学 iPS 細胞研究センター
特定拠点教授
柳岡 公彦³⁾ 和歌山県立医科大学
第二内科・講師

¹⁾分担研究期間：平成 20 年 4 月 1 日～平成 22 年 3 月 31 日

²⁾平成 22 年 2 月 1 日 岐阜大学から京都大学へ異動

³⁾分担研究期間：平成 19 年 4 月 1 日～平成 20 年 3 月 31 日

A. 研究目的

DNA メチル化に代表されるエピジェネティックな修飾は、体細胞分裂に際して忠実に複製される。

その異常は、がん抑制遺伝子の不活化やゲノム不安定性の誘発を通じて発がんに関与することが明らかとなっている。主任及び分担研究者は、DNA メチル化状態の違いに関するゲノム網羅的解析法である methylation-sensitive representational difference analysis (MS-RDA) 法や methylated CpG island amplification-RDA (MCA-RDA)法を開発、これらの方法は世界的に使用されてきた。

ゲノム網羅的な解析により見出された DNA メチル化異常が遺伝子プロモーター領域 CpG アイランドに存在する場合、下流遺伝子のサイレンシングの原因となる。サイレンシングされる遺伝子には、がん化の原因として関与する遺伝子（ドライバー；主にがん抑制遺伝子）と、がん化の結果または随伴現象としてサイレンシングされた遺伝子（パッセンジャー）とが存在する。従って、ゲノム網羅的な DNA メチル化異常の検索を通じて、新規のがん抑制遺伝子を同定することが出来る。更に、パッセンジャーや、遺伝子サイレンシングの原因とはならない非プロモーター領域の DNA メチル化異常でも、診断的に有用な場合がある。

DNA メチル化異常の診断応用は、発がんリスク診断、存在診断、病態診断に大別できる。まず、研

究代表者らにより、DNA メチル化異常はがん患者の非がん部にも存在し、その量は発がんリスクと相関することが示されている。従って、非がん組織に蓄積した DNA メチル化異常の測定により、発がんリスク診断が行える可能性がある。次に、DNA メチル化異常は、突然変異とは異なり、多くの正常型 DNA に埋没した異常 DNA を鋭敏に検出できるため、がんの存在診断に有用である。さらに、DNA メチル化状態は遺伝子発現と比べて短期的変動が極めて少ないことを活用して、がんの悪性度・予後・治療感受性予測等の病態診断に用いることが出来る。研究代表者による神経芽細胞腫の予後診断など、既存の診断法を上回る有用性を示す場合がある。

一方、DNA メチル化異常が深くヒト発がんに関与し、診断的にも有用であるにも関わらず、どのような要因により、また、どのような分子機構により誘発されるのかについては、不明の点が多い。研究代表者らは、ヒト胃がんの強力な誘発因子である *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染者の胃粘膜では、高度の DNA メチル化異常が蓄積していることを見出してきた。また、ゲノム全体の DNA 低メチル化は、多くのヒト腫瘍で認められる。しかし、その発がんにおける意義は、ゲノムの不安定性を通じて発がん促進的に働くこと以外は、不明の点が多い。研究分担者は DNA 低メチル化マウスを用いて、グローバルな DNA 低メチル化は大腸の微小腺腫や肝がんは促進、大腸肉眼的腫瘍は抑制することを示してきた。

本研究では、(1) DNA メチル化異常の誘発機構や低メチル化の発がんにおける役割を明らかにすること、(2)特にゲノム網羅的な DNA メチル化変化の解析により、がん抑制遺伝子のサイレンシングを含めて、がんでのエピジェネティック異常の全体像を明らかにすること、(3) がんの診断マーカーとして役立つ DNA メチル化変化を同定すること、を目的とする。

B. 研究方法

(1) マウス、スナネズミ、細胞株

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 と null allele を持つマウス (*Dnmt1*^{chip/c}) を使用した。対照には、hypomorphic allele と野生型 allele をもつマウス (*Dnmt1*^{chip/+}) を用いた。家族性大腸腺腫症のモデルマウスである *Apc*^{Min/+} マウスをこれらのマウスと交配して用いた。マウス胃がんは *N*-Methyl-*N*-nitrosourea (MNU) の、舌・食道がんは、4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) の、そして大腸腫瘍は dextran sodium sulfate (DSS) の飲水投与により誘発した。

スナネズミは、日本クレアから購入した。ヒト

細胞株は、ATCC から購入または JCRB から分与をうけた。

(2) ゲノム網羅的な DNA メチル化解析

ゲノム網羅的な DNA メチル化解析には、1) 脱メチル化剤処理後、発現マイクロアレイによりスクリーニングする方法、2) BAC array-methylated CpG island amplification (BAMCA) 法 または MCA-Microarray (MCAM) 法、3) methylated DNA immunoprecipitation (MeDIP)-CGI マイクロアレイ法の、3通りの方法を使い分けた。

脱メチル化剤 5-aza-2'-deoxycytidine (5-aza-dC) 処理後、発現マイクロアレイにより再発現した遺伝子および microRNA (miRNA) を網羅的に解析した。BAMCA および MCAM 法は、MCA 法により準備したプローブを、BAMCA 法では国立がんセンターと東京医科歯科大学の稲沢譲治教授が研究分担者と共同で開発した 4361 種の BAC クローンをプローブとして搭載する Whole-Genome Array 4500 に、MCAM 法では *Xma*I/*Sma*I により切断されてできた PCR 増幅可能な領域をカバーするように設計した DNA マイクロアレイに、それぞれハイブリダイゼーションさせた。同アレイは全染色体に分布する 4361 種の BAC クローンをプローブとして搭載しており、0.7Mb の解像度が期待される。MeDIP-CpG アイランドマイクロアレイ法は、ゲノム DNA を抗 5-メチルシチジン抗体で免疫沈降したものを、ゲノム上の 34,697 カ所の CpG アイランドを搭載するアレイにハイブリダイズさせ、本研究内で独自に開発したアルゴリズムによりメチル化の程度を判定した。

(3) ゲノム領域特異的な DNA メチル化解析

非メチル化シトシンを特異的にウラシルに変換する bisulfite 処理の後、シーケンス法、Methylation-specific PCR (MSP) 法、定量的 MSP 法、COBRA 法、Methylight 法及び、pyrosequencing 法により解析した。LINE1 の低メチル化は pyrosequencing 法により解析した。Pericentromeric repeat のメチル化は、DNA メチル化感受性制限酵素を用いたサブロットで解析した。BAC クローン のメチル化レベルは、蛍光強度比の実測値を用いた。

(4) 遺伝子発現定量

領域特異的解析は定量的 RT-PCR 法により、ゲノム網羅的解析はマイクロアレイ法により行った。胃組織中の *miR-34b/c* の発現については RNA FISH 法により *in situ* で解析した。

(5) クロマチン免疫沈降法

抗ヒストン H3Ac 抗体、H3K4me3 抗体、H3K9me3 抗体、H3K27me3 抗体、Pol II 抗体を用いて、クロマチン免疫沈降を行った。網羅的解析では CpG アイランドマイクロアレイ (ChIP-chip) と次世代シーケンサー (ChIP-seq) を使い分けた。

(6) 病理解析

組織は 24 時間緩衝ホルマリンにて固定し、パラ

フィンに包埋後、組織切片を作製、病理組織学的に検討した。細胞増殖活性の検討は Ki-67 免疫染色により行った。

(7) 細胞悪性度の評価

細胞増殖能をコロニーフォーメーションアッセイ、アポトーシス細胞の割合を flow cytometry 法により解析した。

(8) 予後解析

Kaplan-Meier 解析、Cox 比例ハザードモデルに基づく多変量解析を行った。

(倫理面への配慮)

臨床材料は同意を得て採取した材料を、文部科学省・厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に従い、各施設の倫理委員会に研究の承認を得て使用した。全ての動物実験は、各施設の動物実験委員会の承認を得て、動物愛護に配慮して施行した。

C. 研究結果

(1) DNA メチル化異常の誘発機構と低DNA メチル化の発がんにおける意義

これまでに研究代表者らは *H. pylori* 感染者の胃粘膜には DNA メチル化異常が存在し、発がんリスクと相関することを明らかにしてきた。本研究では、DNA メチル化異常誘発の特異性およびそのメカニズムについて検討した。まず、胃がん細胞株でメチル化される遺伝子 48 個について、*H. pylori* 感染により胃粘膜で DNA メチル化されるか否かを検討した。その結果、*H. pylori* 感染により全くメチル化されない遺伝子が存在する一方、ほぼ確実にメチル化される遺伝子も存在することが明らかになった。また、食道粘膜でも、喫煙歴に応じて特定の遺伝子が DNA メチル化されることを明らかにした。正常組織での DNA メチル化プロファイルの解析により、個人レベルで過去の発がん因子曝露を推定できる可能性が解明された。

続いて、特定の遺伝子に DNA メチル化異常が誘発される機構を明らかにするために、ヒトがん細胞株で高頻度にメチル化される遺伝子を、MeDIP-CpG アイランドマイクロアレイ法により大規模に分離した。前立腺がん細胞株 4 系統のうち何れかでメチル化される DNA メチル化高感受性プロモーター領域 CpG アイランドをもつ遺伝子 521 個と、全くメチル化されない遺伝子 5,510 個を分離した。同様に、乳がん細胞株でも高感受性と抵抗性の遺伝子を分離した。前立腺がん・乳がんとも、高感受性遺伝子には正常細胞で転写レベルが低い遺伝子が有意に多く含まれ、低転写が DNA メチル化感受性に重要であることがゲノムレベルで示された。さらに、低転写の遺伝子の中にも異なる DNA メチル化感受性を示す遺伝子が存在する機構を解析するため、転写活性型

のヒストン修飾 2 個(H3Ac, H3K4me3)、転写不活性化型のヒストン修飾 2 個(H3K9me3, H3K27me3)、および Pol II 結合について、前立腺および乳腺正常細胞における状態を ChIP-chip によりゲノム網羅的に解析した。その結果、メチル化に抵抗性を示す遺伝子には転写型のヒストン修飾を受けている遺伝子および Pol II が結合している遺伝子が有意に多く含まれていることを世界で初めて明らかにした。また、メチル化に高感受性を示す遺伝子には H3K27me3 の修飾レベルが高いことも確認された。多変量解析の結果、H3K27me3 修飾と Pol II 結合は他の因子と独立して有意に DNA メチル化感受性に関与していることが示された。

H. pylori をスナネズミに感染させることにより、*H. pylori* 感染が DNA メチル化異常誘発の原因となることを明らかにした。その機構として、菌自身と感染に由来する炎症のどちらが重要か解明するために、スナネズミに *H. pylori* を感染させ、感染後 1 週から免疫抑制剤シクロスポリン A を飲水投与した。投与後 20 週において、*H. pylori* の菌体数は非投与と同程度あるいはそれ以上に認められたにも関わらず、シクロスポリン A 投与群では胃粘膜での DNA メチル化異常誘発が強く抑制された。従って、*H. pylori* による DNA メチル化異常誘発には、菌自身ではなく、感染の結果誘発された炎症が重要であることが示された。

グローバルな DNA 低メチル化が消化管腫瘍発生に及ぼす影響を検討した。胃化学発がんモデルでは、DNA 低メチル化マウスでの胃腫瘍発生数は有意に少なかった。家族性大腸腺腫症モデルマウスでも DNA 低メチル化は胃腫瘍発生を強く抑制した。舌化学発がんモデルでも腫瘍発生数は DNA 低メチル化マウスで有意に少なく、腫瘍最大径も小さかった。さらに、*Apc*^{Min/+}マウスに DSS を投与して潰瘍性大腸炎を誘発するモデルでも、DNA 低メチル化マウスでは、腫瘍発生が強く抑制された。また、DNA 低メチル化マウスの腫瘍組織では、胚細胞への分化を示唆する PAS-AB 陽性粘液細胞の出現率が有意に高く、DNA 低メチル化により、腫瘍細胞の分化が特に杯細胞選択的に誘導されることが示唆された。

胃がんにおける高メチル化とグローバルな低メチル化の関係を解析する目的で、CpG アイランドメチル化形質(CIMP)-high、CIMP-low、CIMP-negative 胃がん症例における LINE1 のメチル化レベルを解析した。その結果、CIMP-low で有意に低メチル化 ($P<0.01$)、また *p53* 変異を認める症例においても有意に低メチル化 ($P<0.01$) を認めた。グローバルな低メチル化により染色体不安定性や突然変異が誘導されるパスウェイが存在することが示唆された。

(2) がんでのエピジェネティック異常の全体像の解明とがん抑制遺伝子の同定

ラット前立腺がん細胞株を用いて、脱メチル化剤処理後発現マイクロアレイによる解析を行い、8個のサイレンシング遺伝子を同定した。それらの中に、がん抑制遺伝子 *Tgfb2* が存在した。AOM/DSSで誘発されるマウス大腸がんにおいても、メチル化異常の認められた遺伝子10個を同定した。これらのうち、4個についてはDSS投与後の大腸粘膜におけるメチル化異常の亢進が認められた。従来、実験動物でのサイレンシング遺伝子はほとんど知られておらず、これらの成果は、今後の、*in vivo*でのDNAメチル化異常の誘発機構の解析や、遺伝子サイレンシングに影響する発がん促進・抑制因子の探索に有用である。

これまで、ヒト胃がんでのmiRNA遺伝子のメチル化サイレンシングは知られていなかった。そこで、他のがんでがん抑制作用が報告されており、プロモーター領域 CpG アイランドをもつ miRNA 遺伝子6個について、胃がんでのメチル化サイレンシングを検討した。その結果、1つのmiRNAをコードする3個の遺伝子 *miR-124a-1*、*-2*、及び*-3*が、胃がんでメチル化によりサイレンシングされていることが明らかになった。また、大腸がん細胞株の脱メチル化剤処理により発現が上昇するmiRNAを解析したところ、157種類中37種類について発現上昇を認めた。そのうち、*miR-34b/c*はmiRNAの初期転写産物の転写開始点近傍の異常メチル化により発現が抑制されていた。*MiR-34b/c*の異常メチル化は大腸がん症例の90%、胃がん症例の48%に認められた。*MiR-34b/c*を胃がん細胞株に導入すると、細胞増殖を抑制し、*CDK6*、*MET*が標的であった。*MiR-34b/c*の異常メチル化は、多くの腫瘍の発生進展に関与し、がんの診断や治療の標的として重要である可能性が示唆された。

CIMP陽性大腸がんにおいて、*BRAF*の変異を高率に認めるが、その原因は不明である。最近、*BRAF*-ERK-MEK経路の活性化に伴って、*IGFBP7*がネガティブフィードバックとして働き、*BRAF*変異を有する細胞に細胞老化とアポトーシスを誘導することが報告された。大腸がんにおける*IGFBP7*のメチル化を検討したところ、CIMP陽性群において高頻度に認めた。従って、CIMPをもつ細胞は、*BRAF*変異を起こしてもsenescenceを免れ、がん化する可能性が考えられた。さらに、*IGFBP7*はp53標的遺伝子であることも明らかにした。CIMP陽性大腸がんではp53変異が少ないことが知られており、p53標的遺伝子がDNAメチル化により不活化されることがその機構である可能性が示唆された。

乳がんでは、CIMPと*HER2*遺伝子増幅が関連することを明らかにした。また、乳がん細胞株の脱メチル化剤処理により、プロモーター領域のDNAメチル化によりサイレンシングされた遺伝子10個を

同定した。その中で新規に同定されたメチル化の標的遺伝子 *NTN4* は細胞増殖を抑制する作用を有することが明らかとなった。

(3) 診断的に有用なDNAメチル化異常の同定

発がんリスク診断としては、これまでに、*H. pylori*感染陰性者では、胃粘膜DNAメチル化レベルが胃発がんリスクと相関することを示してきた。近年、内視鏡的胃粘膜剥離術後の異時性多発が多く、リスク診断の早期実用化が望まれている。そこで、胃粘膜DNAメチル化異常を用いたリスク診断については、他の研究費により、大規模な臨床試験を開始した。また、胃粘膜DNAメチル化レベルを用いるリスク診断と、従来、臨床的に有用性が知られる血清ペプシノゲン(PG)I,II及び血清*H. pylori* IgG抗体価によるリスク分類との関係を検討した。健常者63名について、既存のマーカーを測定し、A群*H. pylori*(-)PG(-)、B群*H. pylori*(+)PG(-)、C群*H. pylori*(+)PG(+),D群*H. pylori*(-)PG(+))の4群に分類した。予測通り、A群<<B群<C群の順に、DNAメチル化レベルは高く、*H. pylori*による強力なDNAメチル化異常誘発が確認された。

肝発がんにおけるエピゲノムの変化を明らかにし、診断的に有用なDNAメチル化異常を同定するため、大腸がん肝転移症例より得られた正常肝組織(正常)19検体、肝細胞がん症例より得られた慢性肝炎ないし肝硬変症を呈する非がん肝組織25検体、肝細胞がん組織29検体について、BAMCA法による解析を行った。DNAメチル化減弱あるいは亢進を示したBACクローン数は、正常肝組織に比して、非がん肝組織で既に有意に増加、更に、肝細胞がん組織で増加していた。非がん肝組織の段階でDNAメチル化異常を示し、かつ、その変化が肝細胞がんにも受け継がれるBACクローン25個について、それらの中に存在する203個の*XmaI/SmaI*認識部位のDNAメチル化状態をpyrosequencing法で評価した。その結果、59CpG部位において正常肝組織と肝細胞がん症例より得られた非がん肝組織の間で、DNAメチル化レベルが有意に異なっていた。再現性に優れた30領域を診断指標として、それぞれに学習コホートを用いてDNAメチル化レベルのカットオフ値を設定し、同指標を30領域中15領域以上で満たす場合に発がん高リスク群と診断することとした。その結果、検証コホートにおいても、非がん肝組織を、感度・特異度とも100%で正常肝組織から区別し、高リスク状態にあると診断することができた。慢性肝炎を呈する非がん肝組織と肝硬変症を呈する非がん肝組織との間で、診断基準を満たす領域数に有意な差を認めなかったことから、真の肝がんリスクマーカーとして期待できる。

がんの存在診断として、通常内視鏡検査・治療時に発生する胃洗浄廃液由来DNAを用いてDNA

メチル化異常検出により胃がんを診断する方法を開発した。胃がん細胞株を用いて 38 個の候補遺伝子を選択、胃がんと健常者の胃粘膜とでメチル化レベルが最も異なる 5 遺伝子を同定した。次に、胃がん生検 20 検体、胃がん患者非がん部生検 20 検体、胃がん患者胃洗浄液 20 検体、健常者胃粘膜 48 検体、健常者胃洗浄液 48 検体を用いて、5 遺伝子のメチル化レベルを測定した。*MINT25* は最も優れたマーカー候補であり感度 90%、特異度 96% で胃がんを診断した。さらに MCAM 法による網羅的解析を行い、マーカー候補に *SOX17* を追加した。内視鏡治療前後において *MINT25* および *SOX17* は治療後有意にメチル化レベルの低下を示した。胃洗浄液による胃がんの存在診断が有用であると期待できる。

膵胆道系腫瘍の早期診断は、治癒率向上のために重要である。内視鏡的検査の負担が重い領域であることから、ハイリスク群の絞り込み、また、前がん病変の同定は有用性が高い。そこで、胆嚢がん細胞株 2 系統、胆管がん細胞株 2 系統を用いて、脱メチル化剤処理後発現マイクロアレイ解析を行い、データ解析を進めた。

がんの病態診断としては、これまでに、CIMP が神経芽細胞腫の予後診断に有用であることを示し、さらに別の症例群で検証してきた。本研究で、神経芽細胞腫において、CIMP が個々の遺伝子のメチル化よりも予後へ強い影響を示すこと、また、脱メチル化剤と retinoic acid が相乗的な治療効果を示すことから、CIMP が様々な重要遺伝子のサイレンシングを誘発して予後不良を誘発していると考えられた。また、CIMP による神経芽細胞腫の予後診断の前向き試験を行い、2010 年 5 月時点で検体累積 173 例について CIMP の診断を行った。

肝切除後 6 ヶ月以内に再発を来し、1 年以内に死亡した予後不良群と、肝切除後 4 年以上生存した予後良好群の間で、その DNA メチル化状態が有意に異なる 41BAC クローンを同定した。多変量解析により、これらの BAC クローンにおける DNA メチル化状態は、肝切除標本で評価できる既に予後予測能力が知られている他の臨床病理学的な因子とは独立した予後予測因子であることが示された。また、肝細胞がんの分化度、門脈侵襲の有無、肝内転移の有無、B 型肝炎ウイルス感染患者ならびに C 型肝炎ウイルス感染患者に生じた肝細胞がん、それぞれと関連する BAC クローンを同定した。

多発性骨髄腫において DNA メチル化により不活化されている遺伝子を網羅的に解析し、DNA メチル化の標的遺伝子を 22 個同定した。DNA メチル化される遺伝子の一つ、*RASD1* 遺伝子は異常メチル化によりサイレンシングされていることが明らかになった。*RASD1* が異常メチル化されている多発性骨髄腫細胞株はデキサメサゾンに対する抵抗性を有し、DNA メチル化阻害剤によりデキサメサゾン感受性を

を増強することが出来た。

D. 考察

(1) DNA メチル化異常の誘発機構と低 DNA メチル化の発がんにおける意義

DNA メチル化異常の発がんへの深い関与を考えると、その誘発機構の解明は急務である。DNA メチル化異常誘発の標的については、標的遺伝子特異性があること、その機構として遺伝子低転写に加えて、Pol II 結合が重要であることを世界で初めて明らかにした。同時に、最近報告のあった H3K27me3 修飾がメチル化感受性に重要であることも確認できた。メチル化プロファイルが生成される機構が明らかになったことで、特定の発がん因子への曝露歴の推測にメチル化プロファイルを利用するなど分子疫学への応用が期待できる。

DNA メチル化異常誘発には慢性炎症が深く関与することが知られる。*H. pylori* 感染の場合も、本研究により、*H. pylori* 自体ではなく、感染に伴う炎症が重要であることが明らかになった。今後、DNA メチル化異常誘発に関与する具体的な炎症成分の同定が重要である。そのためには、ゲノム情報や遺伝子工学利用可能な動物モデルが必要であり、潰瘍性大腸炎モデルである DSS 投与マウスの大腸におけるメチル化異常を明らかにした。この系を用いることで、DNA メチル化異常誘発に関与する遺伝子の解明が加速されると期待できる。

グローバルな DNA 低メチル化状態は、大腸、胃、口腔において腫瘍形成抑制的に作用することを明らかにした。特に浸潤がんを抑制することから、DNA メチル化は特に腫瘍の進展に関与している可能性が高いと考えられた。また、DNA メチル化が大腸腫瘍細胞の未分化状態および増殖状態の維持に関与することが示唆された。DNA メチル化修飾が消化管腫瘍発生の予防に応用可能であることを示唆する知見と考えられる。

(2) がんでのエピジェネティック異常の全体像の解明とがん抑制遺伝子の同定

MiR-124a がヒト胃がんで、*miR-34b/c* がヒト大腸、胃、乳がんでサイレンシングされることが明らかになった。*MiR-124a* はがん遺伝子 *CDK6* を抑制することが知られており、さらに、*miR-34b/c* は *CDK6* 及び *MET* を抑制することを示した。従って、これらの miRNA 遺伝子のサイレンシングは、胃発がんのドライバーである可能性が高い。がんの種類により、メチル化される microRNA には差があると考えられ、各種腫瘍の発生に関与する microRNA の同定が重要と考えられる。さらに、miRNA 以外の機能性 RNA が DNA メチル化により不活化されている可能性もあり、今後さらに解析が必要と考えられる。これら

のメチル化解析には転写開始点を正確に決定することが重要である。ChIP-seq 法を用いた転写開始点のマッピングは有用と考えられた。

発がんにも最も重要な遺伝子とされる *p53* 遺伝子にはプロモーター領域 CpG アイランドがなく、そのシグナルがエピジェネティックに不活化される可能性は低いと考えられていた。今回、*p53* の標的遺伝子の一つが *IGFBP7* であり、DNA メチル化異常によりサイレンシングされることを示した。このことは、*p53* 遺伝子変異がなくても、その標的遺伝子が異常メチル化により不活化されることで、*p53* の機能が阻害されるという考え方を支持するものである。

NTN4 は血管新生の抑制に関与する。*NTN4* の異常メチル化は乳がん臨床例において高率に認められ、乳がんの進展に関与すると考えられる。血清中のメチル化検出により乳がんの早期発見や再発予測に利用出来る可能性も示唆された。

(3) 診断的に有用な DNA メチル化異常の同定

DNA メチル化異常の診断的応用は、実用化段階を迎えている。従来開発を進めてきた胃粘膜の DNA メチル化レベルを用いた発がんリスク診断は、前向き臨床試験（他の研究事業）へと移行した。

また、肝細胞がんのリスク診断についても有用な DNA メチル化マーカーセットが得られた。Pyrosequencing 法を用いることで、感度・特異度が向上し、微量の断片化した DNA にも適用可能となった。インターフェロン療法適応の決定のために採取される肝生検標本を用いた発がんリスク評価法として実用化し得ると期待される。今後、大規模な臨床試験へと移行するか否かの判断が必要である。

がんの存在診断に関しては、胃洗浄液を用いて胃がんの存在診断が行える可能性を示した。我が国の内視鏡医の診断能力の高さには定評があるが、判別困難な病変があることも事実である。また、胃がんはアジアで多いがんであるが、アジアの内視鏡医の診断能力が我が国のレベルに達していないことも事実である。通常は廃棄される胃洗浄液を用いた胃がんの存在診断が実用化されれば、価値は大きいと考えられる。胆道系腫瘍の DNA メチル化異常を用いた存在診断に関しては、標的となる DNA メチル化異常の探索を進めた。

がんの病態診断に関しては、神経芽細胞腫の予後診断は臨床応用に十分な精度があることがわかっており、臨床試験に伴う診断を継続して実施している。今後、移植腫瘍等を用いて神経芽細胞腫に対する脱メチル化剤の臨床的有用性を解析すること、CIMP の原因遺伝子を探索することが重要と考えられた。

また、肝細胞がんの臨床病理学的悪性度を規定する、DNA メチル化プロファイルが存在する可能性

が示唆された。また、従来は困難であった、B 型肝炎ウイルス感染を背景とするのか、C 型なのかの判別が、DNA メチル化状態のゲノム網羅的解析により可能であった。発がん機構にそれぞれ関わる DNA メチル化プロファイルが存在する可能性が示された。さらに、DNA メチル化による肝細胞がん患者における予後予測も、これまでのところ既知の予後因子と独立であるなど、臨床的に高い有用性が得られている。肝細胞がん患者では局所治療に伴う肝機能低下があり、再発リスクに応じて治療計画を立てる必要がある。今後、日常臨床に応用可能か否かを、症例数を増やして検討する必要がある。

骨髄腫の治療経過中のデキサメサゾンへの反応性の低下は、臨床上問題となっている。本研究で *RASD1* 遺伝子のメチル化が関与している可能性が示された。5-aza-dC 等の脱メチル化剤との併用により治療効果が得られようになる可能性があり、臨床的意義は大きい。

E. 結論

発がん因子曝露による DNA メチル化異常誘発の標的については、標的遺伝子特異性があること、その機構として遺伝子低転写に加えて、Pol II 結合が重要であることが明らかになった。非がん組織に蓄積した DNA メチル化異常は、胃がんのみならず、肝がんでも発がんリスクマーカーとして有望である。がんでの各種遺伝子の DNA メチル化異常は、がんの検出、及び、予後の診断に有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

本研究費に謝辞があるもの

1. Niwa, T, Tsukamoto, T, Toyoda, T, Mori, A, Tanaka, H, Maekita, T, Ichinose, M, Tatematsu, M and Ushijima, T. Inflammatory processes triggered by H. pylori infection cause aberrant DNA methylation in gastric epithelial cells. **Cancer Res**, 70: 1430-1440, 2010.
2. Takeshima, H and Ushijima, T. Methylation Destiny: Moira Takes Account of Histones and RNA Polymerase II. **Epigenetics**, 5: 89-95, 2010.
3. Ushijima, T and Asada, K. Aberrant DNA methylation in contrast with mutations. **Cancer Sci**, 101: 300-305, 2010.
4. Arai, E and Kanai, Y. DNA methylation profiles in precancerous tissue and cancers: Carcinogenetic risk estimation and prognostication based on DNA methylation status. **Epigenomics**, in press.
5. Kanai, Y and Arai, E. DNA methylation status in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma.

- In: *Molecular Genetics of Liver Neoplasia*. ed. Grisham, JW and Thorgeirsson, S. Springer, in press.
6. Nishiyama, N, Arai, E, Chihara, Y, Fujimoto, H, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Tsukamoto, T, Yokoi, S, Imoto, I, Inazawa, J, Hirohashi, S and Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in urothelial carcinomas and urothelia at the precancerous stage. **Cancer Sci**, 101: 231-240, 2010.
 7. Okamura, J, Sekine, S, Nara, S, Ojima, H, Shimada, K, Kanai, Y and Hiraoka, N. Intraductal carcinosarcoma with a heterologous mesenchymal component originating in intraductal papillary-mucinous carcinoma (IPMC) of the pancreas with both carcinoma and osteosarcoma cells arising from IPMC cells. **J Clin Pathol**, 63:266-269, 2010.
 8. Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in precancerous conditions and cancers. **Cancer Sci**, 101: 36-45, 2010.
 9. Yamashita, M, Toyota, M, Suzuki, H, Nojima, M, Yamamoto, E, Kamimae, S, Watanabe, Y, Kai, M, Akashi, H, Maruyama, R, Sasaki, Y, Yamano, H, Sugai, T, Shinomura, Y, Imai, K, Tokino, T and Itoh, E. DNA methylation of interferon regulatory factors in gastric cancer and noncancerous gastric mucosae. **Cancer Sci**, in press.
 10. Fujikane, T, Nishikawa, N, Toyota, M, Suzuki, H, Nojima, M, Maruyama, R, Ashida, M, Ohe-Toyota, M, Kai, M, Nishidate, T, Sasaki, Y, Ohmura, T, Hirata, K and Tokino, T. Genomic Screening for genes upregulated by demethylation identified novel targets of epigenetic silencing in breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, in press.
 11. Suzuki, H, Igarashi, S, Nojima, M, Maruyama, R, Yamamoto, E, Kai, M, Akashi, H, Watanabe, Y, Yamamoto, H, Sasaki, Y, Itoh, E, Imai, K, Sugai, T, Shen, L, Issa, JPI, Shinomura, Y, Tokino, T and Toyota M. IGFBP7 is p53 responsive gene specifically silenced in colorectal cancer with CpG island methylator phenotype. **Carcinogenesis**, 31: 342-349, 2010.
 12. Yamada, Y, Aoki, H, Kunisada, T and Hara, A. *Rest* promotes the early differentiation of mouse ESCs but is not required for their maintenance. **Cell Stem Cell**, 6: 10-5, 2010.
 13. Nakajima, T, Yamashita, S, Maekita, T, Niwa, T, Nakazawa, K and Ushijima, T. The presence of a methylation fingerprint of *Helicobacter pylori* infection in human gastric mucosae. **Int J Cancer**, 124: 905-910, 2009.
 14. Nakajima, T, Enomoto, S, Yamashita, S, Ando, T, Nakanishi, Y, Nakazawa, K, Oda, I, Gotoda, T and Ushijima, T. Persistence of a component of DNA methylation in gastric mucosae after *Helicobacter pylori* eradication. **J Gastroenterol**, 45: 37-44, 2009.
 15. Takeshima, H, Yamashita, S, Shimazu, T, Niwa, T and Ushijima, T. The presence of RNA polymerase II, active or stalled, predicts epigenetic fate of promoter CpG islands. **Genome Res**, 19: 1974-1982, 2009.
 16. Hosoya, K, Yamashita, S, Ando, T, Nakajima, T, Itoh, F and Ushijima, T. Adenomatous polyposis coli 1A is likely to be methylated as a passenger in human gastric carcinogenesis. **Cancer Lett**, 285: 182-189, 2009.
 17. Terada, K, Okochi-Takada, E, Akashi-Tanaka, S, Miyamoto, K, Taniyama, K, Tsuda, H, Asada, K, Kaminishi, M and Ushijima, T. Association between frequent CpG island methylation and HER2 amplification in human breast cancers. **Carcinogenesis**, 30: 466-471, 2009.
 18. Yamashita, S, Hosoya, K, Gyobu, K, Takeshima, H and Ushijima, T. Development of a novel output value for quantitative assessment in methylated DNA immunoprecipitation-CpG island microarray analysis. **DNA Res**, 16: 275-286, 2009.
 19. Ushijima, T and Yamashita, S. Methylation-sensitive representational difference analysis (MS-RDA). **Methods Mol Biol**, 507: 117-130, 2009.
 20. Oka, D, Yamashita, S, Tomioka, T, Nakanishi, Y, Kato, H, Kaminishi, M and Ushijima, T. The presence of aberrant DNA methylation in noncancerous esophageal mucosae in association with smoking history: a target for risk diagnosis and prevention of esophageal cancers. **Cancer**, 115: 3412-3426, 2009.
 21. Ando, T, Yoshida, T, Enomoto, S, Asada, K, Tatematsu, M, Ichinose, M, Sugiyama, T and Ushijima, T. DNA methylation of microRNA genes in gastric mucosae of gastric cancer patients: its possible involvement in the formation of epigenetic field defect. **Int J Cancer**, 124: 2367-2374, 2009.
 22. Arai, E, Ushijima, S, Fujimoto, H, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Yokoi, S, Imoto, I, Inazawa, J, Hirohashi, S and Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in both precancerous conditions and clear cell renal cell carcinomas are correlated with malignant potential and patient outcome. **Carcinogenesis**, 30: 214-221, 2009.
 23. Arai, E, Ushijima, S, Gotoh, M, Ojima, H, Kosuge,

- T, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Yokoi, S, Imoto, I, Inazawa, J, Hirohashi, S and Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in liver tissue at the precancerous stage and in hepatocellular carcinoma. **Int J Cancer**, 125: 2854-2862, 2009.
24. Sekine, S, Ogawa, R, Ito, R, Hiraoka, N, McManus, MT, Kanai, Y and Hebrok, M. Disruption of Dicer1 induces dysregulated fetal gene expression and promotes hepatocarcinogenesis. **Gastroenterology**, 5: 2304-2315, 2009.
25. Sekine, S, Ogawa, R, Mcmanus, MT, Kanai, Y and Hebrok, M. Dicer is required for proper liver zonation. **J Pathol**, 219: 365-372, 2009.
26. Sekine, S, Nakanishi, Y, Ogawa, R, Kouda, S and Kanai, Y. Esophageal melanomas harbor frequent *NRAS* mutations unlike melanomas of other mucosal sites. **Virchows Arch**, 454: 513-517, 2009.
27. Akishima-Fukasawa, Y, Nakanishi, Y, Ino, Y, Moriya, Y, Kanai, Y and Hirohashi, S. Prognostic significance of CXCL12 expression in patients with colorectal carcinoma. **Am J Clin Pathol**, 132: 202-210, 2009.
28. Yamanashi, T, Nakanishi, Y, Fujii, G, Akishima-Fukasawa, Y, Moriya, Y, Kanai, Y, Watanabe, M and Hirohashi, S. Podoplanin expression identified in stromal fibroblasts as a favorable prognostic marker in patients with colorectal carcinoma. **Oncology**, 77: 53-62, 2009.
29. Ojima, H, Kanai, Y, Iwasaki, M, Hiraoka, N, Shimada, K, Sano, T, Sakamoto, Y, Esaki, M, Kosuge, T, Sakamoto, M and Hirohashi, S. Intraductal carcinoma component as a favorable prognostic factor in biliary tract carcinoma. **Cancer Sci**, 100: 62-70, 2009.
30. Nojima, M, Maruyama, R, Yasui, H, Suzuki, H, Maruyama, Y, Tarasawa, I, Sasaki, Y, Asaoku, H, Sakai, H, Hayashi, T, Mori, M, Imai, K, Tokino, T, Ishida, T, Toyota, M and Shinomura, Y. Genomic Screening for Genes Silenced by DNA Methylation Revealed an Association between *RASD1* Inactivation and Dexamethasone Resistance in Multiple Myeloma. **Clin Cancer Res**, 15: 4356-4364, 2009.
31. Toyota, M, Suzuki, H, Yamashita, T, Hirata, K, Shinomura, Y, Tokino, T and Imai, K. Cancer Epigenomics: Implications of DNA methylation in personalized therapy. **Cancer Sci**, 100: 787-791, 2009.
32. Toyota, M, Suzuki, H and Shinomura, Y. The Epigenome of colorectal cancer. **Current Colorectal Cancer Reports**, 5: 84-89, 2009.
33. Toyota, M, Suzuki, H, Yamamoto, E, Yamano, H, Imai, K and Shinomura, Y. Integrated analysis of genetic and epigenetic alterations in cancer. **Epigenomics**, 1: 291-299, 2009.
34. Watanabe, Y, Kim, HS, Castoro, RJ, Chung, W, Estecio, MR, Kondo, K, Guo, Y, Ahmed, SS, Toyota, M, Itoh, F, Suk, KT, Cho, MY, Shen, L, Jelinek, J and Issa, JP. Sensitive and specific detection of early gastric cancer with DNA methylation analysis of gastric washes. **Gastroenterology**, 136: 2149-2158, 2009.
35. Baba, S, Yamada, Y, Hatano, Y, Miyazaki, Y, Mori, H, Shibata, T and Hara, A. Global DNA hypomethylation suppresses squamous carcinogenesis in the tongue and esophagus. **Cancer Sci**, 100: 1186-1191, 2009.
36. Abe, M, Watanabe, N, McDonell, N, Takato, T, Ohira, M, Nakagawara, A and Ushijima, T. Identification of genes targeted by CpG island methylator phenotype in neuroblastomas, and their possible integrative involvement in poor prognosis. **Oncology**, 74: 50-60, 2008.
37. Yamashita, S, Takahashi, S, McDonell, N, Watanabe, N, Niwa, T, Hosoya, K, Tsujino, Y, Shirai, T and Ushijima, T. Methylation silencing of transforming growth factor-beta receptor type II in rat prostate cancers. **Cancer Res**, 68: 2112-2121, 2008.
38. Kanai, Y. Alterations of DNA methylation and clinicopathological diversity of human cancers. **Pathol Int**, 58: 544-558, 2008.
39. Arai, E, Ushijima, S, Tsuda, H, Fujimoto, H, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Imoto, I, Inazawa, J, Hirohashi, S and Kanai, Y. Genetic clustering of clear cell renal cell carcinoma based on array-comparative genomic hybridization: its association with DNA methylation alteration and patient outcome. **Clin Cancer Res**, 14: 5531-5539, 2008.
40. Nara, S, Shimada, K, Kosuge, T, Kanai, Y and Hiraoka, N. Minimally invasive intraductal papillary-mucinous carcinoma of the pancreas: clinicopathologic study of 104 intraductal papillary-mucinous neoplasms. **Am J Surg Pathol**, 32: 243-255, 2008.
41. Yamamoto, E, Toyota, M, Suzuki, H, Kondo, Y, Sanomura, T, Murayama, Y, Ohe-Toyota, M, Maruyama, R, Nojima, M, Ashida, M, Fujii, K, Sasaki, Y, Hayashi, N, Mori, M, Imai, K, Tokino, T and Shinomura, Y. LINE-1 hypomethylation is associated with increased CpG island methylation in *Helicobacter pylori*-related enlarged fold gastritis. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 17: 2555-2564, 2008.

42. Maruyama, R, Akino, K, Toyota, M, 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**, 29: 1312-1318, 2008.
43. Imai, T, Toyota, M, 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 *RASSF2* in oral squamous cell carcinoma. **Cancer Sci**, 99: 958-966, 2008.
44. Maehata, T, Taniguchi, H, Yamamoto, H, Noshio, K, Adachi, Y, Miyamoto, N, Miyamoto, C, Akutsu, N, Yamaoka, S and Itoh, F. Transcriptional silencing of Dickkopf gene family by CpG island hypermethylation in human gastrointestinal cancer. **W J Gastroenterol**, 14: 2702-2714, 2008.
45. Oyama, T, Yamada, Y, 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 *Apc^{Min/+}* mice. **Carcinogenesis**, 29: 666-672, 2008.
46. Nobeyama, Y, Okochi-Takada, E, Furuta, J, Miyagi, Y, Kikuchi, K, Yamamoto, A, Nakanishi, Y, Nakagawa, H and Ushijima, T. Silencing of tissue factor pathway inhibitor-2 gene in malignant melanomas. **Int J Cancer**, 121: 301-307, 2007.
47. Ushijima, T. Epigenetic field for cancerization. **J Biochem Mol Biol**, 40: 142-150, 2007.
48. Enomoto, S, Maekita, T, Tsukamoto, T, Nakajima, T, Nakazawa, K, Tatematsu, M, Ichinose, M and Ushijima, T. 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.
49. Cai, LY, Abe, M, Izumi, S, Imura, M, Yasugi, T and Ushijima, T. Identification of *PRTFDC1* silencing and aberrant promoter methylation of *GPR150*, *ITGA8* and *HOXD11* in ovarian cancers. **Life Sci**, 80: 1458-1465, 2007.
50. Abe, M, Westermann, F, Nakagawara, A, Takato, T, Schwab, M and Ushijima, T. Marked and independent prognostic significance of the CpG island methylator phenotype in neuroblastomas. **Cancer Lett**, 247: 253-258, 2007.
51. Kanai, Y 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.
52. Sawada, M, Kanai, Y, 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.
53. Loukopoulos, P, Shibata, T, Katoh, H, Kokubu, A, Sakamoto, M, Yamazaki, K, Kosuge, T, Kanai, Y, 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.
54. Kobayashi, N, Hiraoka, N, Yamagami, W, Ojima, H, Kanai, Y, 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.
55. Takahashi, Y, Akishima-Fukasawa, Y, Kobayashi, N, Sano, T, Kosuge, T, Nimura, Y, Kanai, Y 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.
56. Yoshida, Y, Kokubu, A, Suzuki, K, Kuribayashi, H, Tsuta, K, Matsuno, Y, Kusumoto, M, Kanai, Y, 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.
57. Nishikawa, N, Toyota, M, 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.
58. Watanabe, Y, Toyota, M, 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.
59. Tomita, H, Yamada, Y, Oyama, T, Hata, K, Hirose, Y, Hara, A, Kunisada, T, Sugiyama, Y, Adachi, Y, Linhart, H and 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.
60. Yamada, Y and Mori, H. Multistep carcinogenesis of the colon in *Apc^{Mim/+}* mouse. **Cancer Sci**, 98: 6-10, 2007.
2. 学会発表
1. Ushijima, T. Instructive induction of aberrant DNA methylation, and epigenomic analysis of its underlying mechanisms. Epigenetics 2009 Australian Scientific Meeting. Melbourne, December, 2009.
 2. Ushijima, T. Epigenetic Field Defect for Gastric Cancers. Guangzhou First International Symposium of Cancer Epigenetics. Guangzhou, November, 2009.
 3. Ushijima, T. The Role of Epigenetics in the Development of Gastric Cancer. SIDDS 2009. Seoul, November, 2009.
 4. Ushijima, T. Induction of aberrant DNA methylation as a major carcinogenic pathway by *Helicobacter pylori* infection. 15th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter, and related-organisms. Niigata, September, 2009.
 5. Ushijima, T. The presence of strong target gene specificity in induction of DNA methylation, and its mechanisms. Epigenetics in Development and Diseases Conference: 4th Asian Epigenomics Meeting. Singapore, August, 2009.
 6. Ushijima, T. Induction of aberrant DNA methylation by inflammation caused by *H. pylori* infection. 29th Sapporo Cancer Seminar on "*Helicobacter pylori* and gastric cancer". Sapporo, July, 2009.
 7. Ushijima, T. The presence of strong target gene specificity in induction of DNA methylation, and its mechanisms. 18th Cancer Research Institute cancer symposium on "DNA and Histone Methylation in Cancer". Seoul, June, 2009.
 8. Ushijima, T and Takeshima, H. Instructive induction of aberrant DNA methylation, and epigenomic analysis of its underlying mechanisms. 第 32 回日本分子生物学会年会シンポジウム 2009 年 12 月
 9. Ushijima, T. The presence of strong target gene specificity in induction of DNA methylation, and its mechanisms. 第 68 回日本癌学会学術総会 international session 2009 年 10 月
 10. Ushijima, T. Unique Nature of Epigenetic Alterations: Epigenetic Field Defect and Instructive Induction. 第 68 回日本癌学会学術総会 Mauverny 賞受賞講演 2009 年 10 月
 11. 牛島俊和 胃がんから消化器がんにおける DNA メチル化異常を考える 第 20 回日本消化器癌発生学会総会シンポジウム 2009 年 11 月
 12. 牛島俊和、丹羽 透 *H. pylori* 感染に伴う慢性炎症による DNA メチル化異常誘発 第 51 回日本消化器病学会大会シンポジウム S9: 炎症と消化器発癌 2009 年 10 月
 13. Kanai, Y. DNA methylation profiles in precancerous conditions and cancers: Carcinogenic risk estimation and prognostication based on DNA methylation status. 8th Joint Conference of the American Association for Cancer research and the Japanese Cancer Association "Cancer Genomics, Epigenomics, and the Development of Novel Therapeutics". Hawaii, February, 2010.
 14. Arai, E, Ushijima-Wakai, S, Fujimoto, H, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Yokoi, S, Imoto, I, Inazawa, J, Hirohashi, S and Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in renal tumors of various histological subtypes and nontumorous renal tissues. American Association for Cancer Research Special Conference on Cancer Epigenetics. Puerto Rico, January, 2010.
 15. Kanai, Y. Epigenetic analyses in HCC. Basic workshop: Current Frontier in Genomic and Epigenetic Research on Liver Cancer. International Liver Cancer Association Third Annual Conference. Milan, September, 2009.
 16. Arai, E, Ushijima, S, Fujimoto, H, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Yokoi, S, Imoto, I, Inazawa, J, Hirohashi, S and Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation alterations and copy number alterations during renal carcinogenesis. 100th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research. Denver, April, 2009.
 17. 金井弥栄 がんの臨床病理学的特性の基盤となる DNA メチル化異常 シンポジウム: エピジェネティック異常の基礎から臨床応用まで 第 68 回日本癌学会学術総会 2009 年 10 月
 18. 新井恵吏、牛島抄織、後藤政広、尾島英知、小菅智男、細田文恵、柴田龍弘、近藤 格、横井左奈、井本逸勢、稲澤譲治、廣橋説雄、金井弥栄 肝細胞がんとその前がん状態である慢性肝炎・肝硬変症におけるゲノム網羅的 DNA メチル化プロファイル 第 68 回日本癌学会学術総会 2009 年 10 月
 19. 西山直隆、新井恵吏、藤元博行、細田文恵、柴田龍弘、近藤 格、塚本泰司、横井左奈、井本逸勢、稲澤譲治、廣橋説雄、金井弥栄 尿路上皮がんならびに前がん段階にある尿路上皮における DNA メチル化プロファイル-発がんリスク

- 評価と予後予測 第 68 回日本癌学会学術総会
2009 年 10 月
20. 千原良友、Gangning Liang、Jones Peter A、新井恵史、藤元博行、菅野康吉、藤本清秀、平尾佳彦、金井弥栄 定量的 DNA メチル化解析に基づく尿路上皮がん診断示標 第 68 回日本癌学会学術総会 2009 年 10 月
 21. 金井弥栄 多段階発がん過程における DNA メチル化異常-ゲノム網羅的解析を中心に 第 14 回東京肝臓シンポジウム「発癌とその制御」2009 年 6 月
 22. 金井弥栄 DNA メチル化プロファイルを指標とする発がんリスク評価とがんの病態診断 大阪大学蛋白質研究所セミナー「疾患の基盤としてのエピジェネティクス」2009 年 6 月
 23. 金井弥栄 ヒト多段階発がん過程における DNA メチル化異常のゲノム網羅的解析 第 3 回日本エピジェネティクス研究会年会 2009 年 5 月
 24. 新井恵史、牛島抄織、藤元博行、細田文恵、柴田龍弘、近藤 格、横井左奈、井本逸勢、稲澤譲治、広橋説雄、金井弥栄 種々の組織亜型の腎腫瘍における DNA メチル化プロファイル 第 3 回日本エピジェネティクス研究会年会 2009 年 5 月
 25. Toyota, M, Suzuki, H, Akashi, H, Maruyama, R, Yamamoto, E, Nojima, M, Shinomura, Y and Imai, K. Genome wide analysis of transcription start sites of epigenetically silenced genes using next-generation sequencer. AACR Special Conference on Cancer Epigenetics. Puerto Rico, January, 2010.
 26. Watanabe, Y, Maehata, T, Toyota, M and Itoh, F. Usefulness of DNA Methylation Analysis Using Gastric Washes as a Treatment. AACR Cancer Epigenetics. PuertoRico, January, 2010.
 27. Toyota, M. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. The 14th Korean-Japan Cancer Research Workshop. Kanazawa, December, 2009.
 28. Toyota, M, Suzuki, H, Yamamoto, E, Kamimae, S, Nijima, M, Shinomura, Y and Imai, K. Colorectal cancer epigenome and clinical implication. First Guangzhou Symposium of Cancer Epigenetics and Kick-off Meeting of A3 Foresight Program and 973 Project. Guangzhou, November, 2009.
 29. Toyota, M. Colorectal cancer epigenetics. 37th Meeting of International Society for Oncology and Biomarkers. Amsterdam, September, 2009.
 30. 豊田 実、今井浩三、篠村恭久 エピゲノム解析による炎症を介した胃発癌の分子機構解析と診断・発癌リスク予測への応用 第 51 回日本消化器病学会大会 2009 年 10 月
 31. 豊田 実、篠村恭久、今井浩三 エピゲノム解析による消化器癌の診断と発癌リスク予測 シンポジウム: 第 46 回日本臨床分子医学会学術総会 2009 年 4 月
 32. 豊田 実 癌抑制遺伝子の DNA メチル化と RNAi エピジェネティクス: ゲノムを管理し活用する戦略 千里ライフサイエンスセミナー 2009 年 4 月
 33. 伊東文生 胃洗浄液を用いたメチル化解析の胃癌診断への応用 第 68 回日本癌学会学術集会 2009 年 10 月
 34. 渡邊嘉行、山下真幸、伊東文生 新たな胃癌特異的メチル化遺伝子の網羅的解析 第 68 回日本癌学会学術集会 2009 年 10 月
 35. 渡邊嘉行、前畑忠輝、伊東文生 胃洗浄液 MCAM による胃がん分子内視鏡診断 JDDW2009 2009 年 10 月
 36. Yamada, Y, Aoki, H, Kunisada, T and Hara, A. Tumor suppressor Rest promotes the early differentiation of embryonic stem cell. The 14th Korea-Japan Cancer Research Workshop "Translational cancer research and progress in colorectal cancer". Kanazawa, December, 2009.
 37. 山田泰広、波多野裕一郎、平田暁大、原 明 Role of epigenetic modifications in colon tumorigenesis. 第 68 回日本癌学会学術総会シンポジウム 2009 年 10 月
 38. 山田泰広、波多野裕一郎、廣瀬善信、原 明 発がんにおけるエピジェネティック異常の意義 第 98 回日本病理学会総会ワークショップ 2009 年 5 月
 39. Ushijima, T, Niwa, T and Takeshima, H. Epigenetic Field for Cancerization: As a Target for Risk Diagnosis, Cancer Prevention, and Marker for Molecular Epidemiology. Avison Symposium at Yonsei University. Seoul, January, 2009.
 40. Ushijima, T. Epigenetic field for gastric cancerization, and its induction by Helicobacter pylori infection. Northeastern Asian Symposium on Cancer Epigenetics. Jeju, November, 2008.
 41. Ushijima, T, Niwa, T and Ando, T. Epigenetic field for gastric cancerization, and its induction by Helicobacter pylori infection. ISOBM 2008, Tokyo, October, 2008.
 42. Ushijima, T. Epigenetic field for gastric cancerization, and its induction by Helicobacter pylori infection. Peter MacCallum Cancer Centre Symposium "Cancer Epigenetics". Melbourne, October, 2008.
 43. Ushijima, T, Nakajima, T, Ando, T and Niwa, T. Epigenetic carcinogenic factors in the environment. 38th Annual Meeting of European Environmental

- Mutagen Society. Dubrovnik, September, 2008.
44. Ushijima, T. Formation of epigenetic field for cancerization by environmental factors. The 2nd Shanghai Symposium of Epigenetics in Development and Diseases. Shanghai, July, 2008.
 45. Ushijima, T., Terada, K, Okochi-Takada, E, Asada, K, Watanabe, N, Hattori, N and Miyamoto, K. Strong association between frequent DNA methylation and HER2 amplification in human breast cancers. 2nd AACR-JCA special joint conference, "The Latest Advances in Breast Cancer Research". Awaji, July, 2008.
 46. Ushijima, T. Epigenetic field defect, and cancer risk diagnosis. AACR Special Conference "Cancer Epigenetics". Boston, May, 2008.
 47. Ushijima, T., Furuta, J and Nobeyama, Y. Epigenetics of melanoma. International Pigment Cell Conference/International Melanoma Research Conference. Sapporo, May, 2008.
 48. Ushijima, T. Epigenetics in neuroblastoma. Advances in Neuroblastoma Research, 2008. Chiba, May, 2008.
 49. Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in precancerous conditions and cancers: Carcinogenetic risk estimation and prognostication based on DNA methylation status. Japan-Denmark Joint Workshop on "Molecular Cancer Research". Tokyo, January, 2009.
 50. Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in precancerous conditions are inherited by cancers: Carcinogenetic risk estimation and prognostication based on DNA methylation status. Northeast Asian Symposium 2008 "Cancer Epigenetics". Jeju, November, 2008.
 51. Kanai, Y. Carcinogenetic risk estimation and prognostication based on genome-wide analysis of DNA methylation status. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Nagoya, October, 2008.
 52. Arai, E, Ushijima, S, Tsuda, H, Fujimoto, H, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Imoto, I, Inazawa, J, Hirohashi, S and Kanai, Y. Regional DNA hypermethylation and copy number alterations during renal carcinogenesis. American Association for Cancer Research Special Conference "Cancer Epigenetics". Boston, May, 2008.
 53. 新井恵吏、牛島抄織、藤元博行、細田文恵、柴田龍弘、近藤格、横井佐奈、井本逸勢、稲澤譲治、広橋説雄、金井弥栄 前がん状態におけるDNAメチル化プロファイルは通常型腎細胞がん継承されてその悪性度ならびに予後と相関する 第2回日本エピジェネティクス研究会年會 2008年5月
 54. Toyota, M. Epigenetic gene silencing and microRNA in human colon cancer. Symposium, 36th Congress of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine. Tokyo, October, 2008.
 55. Toyota, M. The role of DNA methylation changes in signaling pathway. AACR Special Conference on Cancer Research: Cancer Epigenetics. Boston, May, 2008.
 56. 豊田 実 新規エピゲノム法の開発と消化器癌発生の分子機構 第5回日本消化管学会総会シンポジウム 2009年2月
 57. 豊田 実 癌におけるエピジェネティックな異常の網羅的解析 第31回日本分子生物学会第81回日本生化学会合同年会 シンポジウム 2008年12月
 58. 豊田 実 大腸癌のシグナル経路異常におけるDNAメチル化の役割 第67回日本癌学会総会シンポジウム 2008年10月
 59. Watanabe, Y, Toyota, M, Itoh, F and Issa, JP. DNA methylation analysis of gastric washes as a new molecular diagnostic tool for gastric cancer. 36th congress of the International Society of Oncology and Biomarkers (ISOBM)". Tokyo, October, 2008.
 60. Watanabe, Y, Kim, HS, Castoro, RJ, Chung, W, Estecio, MR, Kondo, K, Guo, Y, Ahmed, SS, Toyota, M, Itoh, F, Suk, KT, Cho, MY, Shen, L, Jelinek, J and Issa, JP. Discovering sensitive and specific methylation markers using gastric washes as a new diagnostic tool for early gastric cancer. AACR Cancer Epigenetics. Boston, May, 2008.
 61. 渡邊嘉行、豊田 実、伊東文生 遺伝子メチル化異常を用いた様々な消化管癌診断への応用 第5回日本消化管学会総会学術大会ワークショップ 2009年2月
 62. 渡邊嘉行、前畑忠輝、豊田 実、伊東文生 胃洗浄液を用いた新たなメチル化解析の胃癌診断への応用 第5回日本消化管学会総会学術大会コアシンポジウム 2009年2月
 63. 渡邊嘉行、豊田 実、伊東文生 胃洗浄液を用いたメチル化解析の胃癌診断への応用 第16回日本消化器病関連学会週間 2008年10月
 64. Yamada, Y. Role of DNA methylation in multistage colon carcinogenesis. Northeastern Asian Symposium on "Cancer Epigenetics". Jeju, November, 2008.
 65. 山田泰広 The role of DNA methylation in carcinogenesis in digestive tract. 日本癌学会 67回総会シンポジウム 2008年10月
 66. 山田泰広、原 明、平田暁大、廣瀬善信、ルドルフ イェーニッシュ、森秀樹 未分化性の維

- 持と発がん 日本病理学会 97回総会シンポジウム 2008年4月
67. Ushijima, T and Nakajima, T. Epigenetic field defect for gastric cancers, and its use as a cancer risk marker. The 11th Annual Meeting of Taiwan Cooperative Oncology Group. Taipei, December, 2007.
 68. Ushijima, T and Yamashita, S. Silencing of *Tgfr2* due to promoter methylation in rat prostate cancers. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting "Rat Genomics and Models". Cold Spring Harbor, December, 2007.
 69. Nakajima, T, Maekita, T, Enomoto, S and Ushijima, T. Epigenetic field for cancerization. 11th German-Japan Cancer Research Workshop. Kyoto, November, 2007.
 70. Ushijima, T. Environment - epigenome interaction. Symposium by Asian Network of Epigenomics, Osaka, June, 2007.
 71. Ushijima, T. DNA methylation as a marker for the past and future. The New Zealand Society for Oncology Conference. Dunedin, May, 2007.
 72. Ushijima, T, Nakajima, T and Enomoto, S. Epigenetic field defect for gastric cancers. Gordon Research Conference. Il Ciocco, May, 2007.
 73. Ushijima, T. DNA methylation induction by *Helicobacter pylori*, and use as a cancer risk marker. The 19th Federation of Asian and Oceanian Biochemists and Molecular Biologists (FAOBMB) Conference. Seoul, May, 2007.
 74. 牛島俊和、阿部雅修 神経芽腫の強力予後因子としてのDNAメチル化 小児癌学会・小児血液学会シンポジウム 2007年12月
 75. 岡 大嗣、山下 聡、中西幸浩、加藤抱一、上西紀夫、杉村 隆、牛島俊和 食道扁平上皮がんにおけるサイレンシング遺伝子のゲノム網羅的探索 第18回日本消化器癌発生学会総会 2007年11月
 76. 牛島俊和 エピジェネティックな発がんの場 日本癌学会 66回総会シンポジウム 2007年10月
 77. 岡 大嗣、山下 聡、中西幸浩、加藤抱一、上西紀夫、杉村 隆、牛島俊和 Genome-wide screening for genes silenced in esophageal squamous cell carcinomas using a demethylating agent 第66回日本癌学会総会 2007年10月
 78. 丹羽 透、塚本徹哉、田中晴就、一瀬雅夫、杉村 隆、立松正衛、牛島俊和 *Helicobacter pylori* 感染は胃粘膜上皮に異常 DNAメチル化を誘発する 発癌病理研究会 2007年8月
 79. 牛島俊和 Epigenetics in Cancers and Polyclonal Disorders 日本薬物動態学会ビジョンシンポジウム 2007年7月
 80. 牛島俊和 エピジェネティクスからみた多段階発がん 日本エピジェネティクス研究会 2007年6月
 81. Arai, E, Kanai, Y, Ushijima, S, Fujimoto, H, Hosoda, F, Shibata, T, Kondo, T, Imoto, I, Inazawa, J and Hirohashi, S. Genetic classification of renal cell carcinoma associated with DNA methylation alteration and prognosis of patients. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October, 2007.
 82. Kikuchi, R, Imoto, I, Tsuda, H, Kanai, Y, Kasamatsu, T, Sengoku, K, Hirohashi, S and Inazawa, J. CTGF is a tumor-suppressor gene frequently inactivated by promoter hypermethylation in ovarian cancer. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer. Yokohama, October, 2007.
 83. Satow, R, Shitashige, M, Honda, K, Kanai, Y, Hirohashi, S and Yamada, T. Whole-genome exon-level transcriptome survey of human hepatocellular carcinoma. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Yokohama, October, 2007.
 84. 金井弥栄 慢性肝炎・肝硬変症・肝細胞がんにおけるDNAメチル化異常 第4回日本病理学会カンファレンス「肝疾患研究の最前線: 現状と課題」 2007年7月
 85. 新井恵吏、金井弥栄、牛島抄織、尾島英知、細田文恵、柴田龍弘、近藤 格、横井佐奈、井本逸勢、稲澤譲治、広橋説雄 肝多段階発がん過程におけるDNAメチル化の変化のゲノム網羅的解析 第4回日本病理学会カンファレンス 2007年7月
 86. 新井恵吏、金井弥栄、牛島抄織、藤元博行、細田文恵、柴田龍弘、近藤 格、横井佐奈、井本逸勢、稲澤譲治、広橋説雄 腎がんの発生過程におけるDNAメチル化の変化のゲノム網羅的解析 第1回日本エピジェネティクス研究会年会 2007年6月
 87. Toyota, M. Epigenetic alterations in gastrointestinal cancer: functional consequences and clinical application IARC workshop, "Epigenetics and Cancer." Lyon, December, 2007.
 88. Toyota, M. Epigenetic silencing of genes involved in signaling pathways in gastric cancer. 35th Congress of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine. Plaque, Czech Republic, September, 2007.
 89. 豊田 実 エピジェネティックな異常の発がんにおける役割と診断・治療への応用 日本電気泳動学会 シンポジウム 2007年11月
 90. 豊田 実 The role of DNA methylation changes

in signal transduction in gastric cancer. 日本癌学会 66 回総会シンポジウム 2007 年 10 月

91. 豊田 実、山本英一郎、篠村恭久 慢性胃炎におけるエピジェネティックな異常-DNA メチル化のおこるプロセス- 第 49 回日本消化器病学会大会シンポジウム 2007 年 10 月
92. 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. Washington DC, May, 2007.
93. 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
94. 柳岡公彦、出口久暢、一瀬雅夫 シンポジウム (1) *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
95. 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 2007 年 6 月
96. 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 2007 年 9 月
97. Yamada, Y, Hara, A, Jaenisch, R and 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.
98. 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. 知的財産権の取得状況

1. 特許取得

1. 金井弥栄、新井恵吏、長塩亮 「Pyrosequencing 技術を用いて DNA メチル化状態を定量評価し肝細胞がんの発生リスクを評価する方法」(2010 年 5 月出願予定)
2. 豊田 実、山本英一郎、神前正幸、鈴木 拓、山野泰穂. Method for detection of diseases using colonic mucosa. 出願先: 米国、出願番号: 61/238,106、平成 21 年 8 月 28 日出願
3. 金井弥栄、新井恵吏、廣橋説雄、稲澤譲治 「BAC クローンを用いる腎細胞癌の予後予測方法」(特願 2008-233491)
4. 金井弥栄、新井恵吏、稲澤譲治 「BAC クローンを用いる肝細胞癌の発生リスク評価方法及び予後予測方法」(特願 2008-329872)
5. 金井弥栄、新井恵吏、西山直隆、稲澤譲治 「BAC クローンを用いる尿路上皮癌の細胞癌の発生リスク評価方法及び予後予測方法」(2009 年 3 月出願予定)
6. 鈴木拓、豊田実、今井浩三、篠村恭久、時野隆至. 癌の検出方法および検出用キット、ならびに癌治療剤. 特願 2008-121671、平成 20 年 5 月 7 日出願
7. Date of Filing: 15.05.07 Priority: JP/15.05.06/ JPA 2006134878. Title: Method for Detecting Disease-related Marker Using Gastric Mucosal Lavage Fluid. Designated States: AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL PL PT RO SE SK TR

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

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
<u>Kanai, Y</u> and <u>Arai, E.</u>	DNA methylation status in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma.	Grisham, JW and Thorgeirsson, S.	Molecular Genetics of Liver Neoplasia	Springer		in press	

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
Niwa, T, <u>Ushijima, T.</u> , et al.	Inflammatory processes triggered by H. pylori infection cause aberrant DNA methylation in gastric epithelial cells.	Cancer Res	70	1430-1440	2010
Takeshima, H and <u>Ushijima, T.</u>	Methylation Destiny: Moira Takes Account of Histones and RNA Polymerase II.	Epigenetics	5	89-95	2010
<u>Ushijima, T</u> and Asada, K.	Aberrant DNA methylation in contrast with mutations.	Cancer Sci	101	300-305	2010
Arai, E and <u>Kanai, Y.</u>	DNA methylation profiles in precancerous tissue and cancers: Carcinogenetic risk estimation and prognostication based on DNA methylation status.	Epigenomics			in press
Nishiyama, N, <u>Kanai, Y.</u> , et al.	Genome-wide DNA methylation profiles in urothelial carcinomas and urothelia at the precancerous stage.	Cancer Sci	101	231-240	2010
Okamura, J, <u>Kanai, Y.</u> , et al.	Intraductal carcinosarcoma with a heterologous mesenchymal component originating in intraductal papillary-mucinous carcinoma (IPMC) of the pancreas with both carcinoma and osteosarcoma cells arising from IPMC cells.	J Clin Pathol	63	266-269	2010
<u>Kanai, Y.</u>	Genome-wide DNA methylation profiles in precancerous conditions and cancers.	Cancer Sci	101	36-45	2010
Yamashita, M, <u>Toyota, M.</u> , <u>Itoh, E.</u> , et al.	DNA methylation of interferon regulatory factors in gastric cancer and noncancerous gastric mucosae	Cancer Sci			in press
Fujikane, T, <u>Toyota, M.</u> , et al.	Genomic Screening for genes upregulated by demethylation identified novel targets of epigenetic silencing in breast cancer.	Breast Cancer Res Treat			in press
Suzuki, H, <u>Itoh, E.</u> , <u>Toyota, M.</u> , et al.	IGFBP7 is p53 responsive gene specifically silenced in colorectal cancer with CpG island methylator phenotype.	Carcinogenesis	31	342-349	2010
<u>Yamada, Y.</u> , et al.	<i>Rest</i> promotes the early differentiation of mouse ESCs but is not required for their maintenance.	Cell Stem Cell	6	10-15	2010
Nakajima, T, <u>Ushijima, T.</u> , et al.	The presence of a methylation fingerprint of <i>Helicobacter pylori</i> infection in human gastric mucosae.	Int J Cancer	124	905-910	2009

Nakajima, T, <u>Ushijima, T</u> , et al.	Persistence of a component of DNA methylation in gastric mucosae after <i>Helicobacter pylori</i> eradication.	J Gastroenterol	45	37 -44	2009
Takeshima, H, <u>Ushijima, T</u> , et al.	The presence of RNA polymerase II, active or stalled, predicts epigenetic fate of promoter CpG islands.	Genome Res	19	1974 -1982	2009
Hosoya, K, Itoh, F, <u>Ushijima, T</u> , et al.	Adenomatous polyposis coli 1A is likely to be methylated as a passenger in human gastric carcinogenesis.	Cancer Lett	285	182 -189	2009
Terada, K, <u>Ushijima, T</u> , et al.	Association between frequent CpG island methylation and HER2 amplification in human breast cancers.	Carcinogenesis	30	466 -471	2009
Yamashita, S, <u>Ushijima, T</u> , et al.	Development of a novel output value for quantitative assessment in methylated DNA immunoprecipitation-CpG island microarray analysis.	DNA Res	16	275 -286	2009
<u>Ushijima, T</u> and Yamashita, S.	Methylation-sensitive representational difference analysis (MS-RDA).	Methods Mol Biol	507	117 -130	2009
Oka, D, <u>Ushijima, T</u> , et al.	The presence of aberrant DNA methylation in noncancerous esophageal mucosae in association with smoking history: a target for risk diagnosis and prevention of esophageal cancers.	Cancer	115	3412 -3426	2009
Ando, T, <u>Ushijima, T</u> , et al.	DNA methylation of microRNA genes in gastric mucosae of gastric cancer patients: its possible involvement in the formation of epigenetic field defect.	Int J Cancer	124	2367 -2374	2009
Arai, E, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Genome-wide DNA methylation profiles in both precancerous conditions and clear cell renal cell carcinomas are correlated with malignant potential and patient outcome.	Carcinogenesis	30	214 -221	2009
Arai, E, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Genome-wide DNA methylation profiles in liver tissue at the precancerous stage and in hepatocellular carcinoma.	Int J Cancer	125	2854 -2862	2009
Sekine, S, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Disruption of Dicer1 induces dysregulated fetal gene expression and promotes hepatocarcinogenesis.	Gastroenterology	5	2304 -2315	2009
Sekine, S, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Dicer is required for proper liver zonation.	J Pathol	219	365 -372	2009
Sekine, S, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Esophageal melanomas harbor frequent NRAS mutations unlike melanomas of other mucosal sites.	Virchows Arch	454	513 -517	2009
Akishima-Fukasawa, Y, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Prognostic significance of CXCL12 expression in patients with colorectal carcinoma.	Am J Clin Pathol	132	202 -210	2009
Yamanashi, T, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Podoplanin expression identified in stromal fibroblasts as a favorable prognostic marker in patients with colorectal carcinoma.	Oncology	77	53 -62	2009
Ojima, H, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Intraductal carcinoma component as a favorable prognostic factor in biliary tract carcinoma.	Cancer Sci	100	62 -70	2009
Nojima, M, <u>Toyota, M</u> , et al.	Genomic Screening for Genes Silenced by DNA Methylation Revealed an Association between RASD1 Inactivation and Dexamethasone Resistance in Multiple Myeloma.	Clin Cancer Res	15	4356 -4364	2009
<u>Toyota, M</u> , et al.	Cancer Epigenomics: Implications of DNA methylation in personalized therapy.	Cancer Sci	100	787 -791	2009

<u>Toyota, M</u> , et al.	The Epigenome of colorectal cancer.	Current Colorectal Cancer Reports	5	84 -89	2009
<u>Toyota, M</u> , et al.	Integrated analysis of genetic and epigenetic alterations in cancer.	Epigenomics	1	291 -299	2009
Watanabe, Y, <u>Toyota, M</u> , <u>Itoh, F</u> , et al.	Sensitive and specific detection of early gastric cancer with DNA methylation analysis of gastric washes.	Gastroenterology	136	2149 -2158	2009
Baba, S, <u>Yamada, Y</u> , et al.	Global DNA hypomethylation suppresses squamous carcinogenesis in the tongue and esophagus.	Cancer Sci	100	1186 -1191	2009
Abe, M, <u>Ushijima, T</u> , et al.	Identification of genes targeted by CpG island methylator phenotype in neuroblastomas, and their possible integrative involvement in poor prognosis.	Oncology	74	50 -60	2008
Yamashita, S, <u>Ushijima, T</u> , et al.	Methylation silencing of transforming growth factor-beta receptor type II in rat prostate cancers.	Cancer Res	68	2112 -2121	2008
<u>Kanai, Y</u> .	Alterations of DNA methylation and clinicopathological diversity of human cancers.	Pathol Int	58	544 -558	2008
Arai, E, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Genetic clustering of clear cell renal cell carcinoma based on array-comparative genomic hybridization: its association with DNA methylation alteration and patient outcome.	Clin Cancer Res	14	5531 -5539	2008
Nara, S, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Minimally invasive intraductal papillary-mucinous carcinoma of the pancreas: clinicopathologic study of 104 intraductal papillary-mucinous neoplasms.	Am J Surg Pathol	32	243 -255	2008
Yamamoto, E, <u>Toyota, M</u> , et al.	LINE-1 hypomethylation is associated with increased CpG island methylation in <i>Helicobacter pylori</i> -related enlarged fold gastritis.	Cancer Epidemiol Biomarkers Prev	17	2555 -2564	2008
Maruyama, R, <u>Toyota, M</u> , <u>Itoh, F</u> , et al.	Cytoplasmic RASSF2A is a proapoptotic mediator whose expression is epigenetically silenced in gastric cancer.	Carcinogenesis	29	1312 -1318	2008
Imai, T, <u>Toyota, M</u> , <u>Itoh, F</u> , et al.	Epigenetic inactivation of <i>RASSF2</i> in oral squamous cell carcinoma.	Cancer Sci	99	958 -966	2008
Maehata, T, <u>Itoh, F</u> , et al.	Transcriptional silencing of Dickkopf gene family by CpG island hypermethylation in human gastrointestinal cancer.	W J Gastroenterol	14	2702 -2714	2008
Oyama, T, <u>Yamada, Y</u> , et al.	Further upregulation of β -catenin/Tcf transcription is involved in the development of macroscopic tumors in the colon of <i>Apc</i> ^{Min/+} mice.	Carcinogenesis	29	666 -672	2008
Nobeyama, Y, <u>Ushijima, T</u> , et al.	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, <u>Ushijima, T</u> , et al.	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, <u>Ushijima, T</u> , et al.	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, <u>Ushijima, T</u> , et al.	Marked and independent prognostic significance of the CpG island methylator phenotype in neuroblastomas.	Cancer Lett	247	253 -258	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> , et al.	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, <u>Kanai, Y</u> , et al.	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, <u>Kanai, Y</u> , et al.	FOXP3+ regulatory T cells affect the development and progression of hepatocarcinogenesis.	Clin Cancer Res	13	902 -911	2007
Takahashi, Y, <u>Kanai, Y</u> , et al.	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, <u>Kanai, Y</u> , et al.	Molecular markers and changes of computed tomography appearance in lung adenocarcinoma with ground-glass opacity.	Jpn J Clin Oncol	37	907 -912	2007
Nishikawa, N, <u>Toyota, M</u> , et al.	Gene amplification and overexpression of PRDM14 in breast cancer.	Cancer Res	67	9649 -9657	2007
Watanabe, Y, <u>Toyota, M</u> , et al.	PRDM5 identified as a target of epigenetic silencing in colorectal and gastric cancer.	Clin Cancer Res	13	4786 -4794	2007
Tomita, H, <u>Yamada, Y</u> , et al.	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
<u>Yamada, Y</u> and Mori, H.	Multistep carcinogenesis of the colon in <i>Apc^{Min/+}</i> mouse.	Cancer Sci	98	6 -10	2007