

態制御の理解が進むと考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A. TGF-beta-FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature*. 463:676-80, 2010. (査読有)

2. Tamase A, Muraguchi T, Naka K, Tanaka S, Kinoshita M, Hoshii T, Ohmura M, Shugo H, Ooshio T, Nakada M, Sawamoto K, Onodera M, Matsumoto K, Oshima M, Asano M, Saya H, Okano H, Suda T, Hamada JI, Hirao A. Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106:17163-8, 2009 (査読有)

3. Yamakoshi K, Takahashi A, Hirota F, Nakayama R, Ishimaru N, Kubo Y, Mann DJ, Ohmura M, Hirao A, Saya H, Arase S, Hayashi Y, Nakao K, Matsumoto M, Ohtani N, *Hara E. Real-time in vivo imaging of p16Ink4a reveals cross talk with p53. *J Cell Biol*. 186:393-407, 2009. (査読有)

2. 学会発表

1. Hirao A: Roles of FoxO3a in normal hematopoiesis and leukemia. The 8th Japan-China Joint Conference for Cancer Research, Osaka, Oct 5, 2009

2. Hirao A: Roles of FoxO3a in normal hematopoiesis and leukemia. The 4th International workshop on Cell Regulations in Division and Arrest, Okinawa, Nov.30, 2009

3. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Ooshio T, Motoyama N, Hirao A: Foxo3a is essential for survival of chronic myeloid leukemia-initiating cells. 7th International Society of Stem Cell Research, Barcelona, Spain, July 8-11, 2009

4. Muraguchi T, Hoshii T, Ooshio T, Tadokoro Y, Naka K, Hirao A: Roles of Ras-induced growth suppression of neural stem cell in malignant glioma progression. American Association for Cancer Research (AACR) Special Conference on Genetics and Biology of Brain Cancers, U.S.A. San Diego, Dec. 14, 2009

5. 平尾敦: 幹細胞可視化システムを用いたがん組織不均一性の解析、第98回日本病理学会総会、京都、平成 21 年 5 月 1 日

6. 平尾敦: 寿命制御シグナルと幹細胞、第 51 回日本老年医学会、横浜、平成 21 年 6 月 19 日

7. 平尾敦: 老化・寿命制御シグナルと幹細胞、第5回加齢皮膚医学研究会、徳島、平成 21 年 7 月 11 日

8. 平尾敦: Regulation of stem cell homeostasis and tumorigenesis by microenvironmental factors、第 68 回日本癌学会学術総会、横浜、平成 21 年 10 月 1 日

9. 平尾敦: フォークヘッド転写因子 FoxO による造血幹細胞および白血病幹細胞制御、第 82 回日本生化学大会、神戸、平成 21 年 10 月 21 日

10. 仲一仁、星居孝之、村口輝行、田所優子、大塩貴子、本山昇、平尾敦: Foxo3a is essential for maintenance of chronic

- myelogenous leukemia-initiating cells. 第68回日本癌学会, 横浜、平成21年10月1-3日
11. 村口輝行、星居孝之、大塩貴子、田所優子、仲一仁、平尾敦: Roles of oncogenic Ras-induced differentiation of neural stem cell in malignant glioma progression, Oncogenic Ras signaling による神経幹細胞分化制御機構のグリオーマ悪性化進展における役割 第68回日本癌学会学術総会、横浜、平成21年10月2日
 12. 仲一仁、星居孝之、村口輝行、田所優子、大塩貴子、本山昇、平尾敦: Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第71回日本血液学会総会、京都、平成21年10月23-25日
 13. 星居孝之、村口輝之、大塩貴子、仲一仁、平尾敦: TSC-mTORシグナルによる造血幹細胞制御機構の解明 第71回日本血液学会学術集会、優PS-3-13、京都、平成21年10月25日
 14. 仲一仁、星居孝之、村口輝行、田所優子、大塩貴子、本山昇、平尾敦: Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第7回幹細胞シンポジウム、東京、平成21年5月16-17日
 15. 村口輝行、星居孝之、大塩貴子、田所優子、仲一仁、平尾敦: p53- and Ink4a/Arf-independent growth arrest of neural stem/progenitor cells induced by oncogenic Ras signal in vivo. 第7回幹細胞シンポジウム、東京、平成21年5月15日
 16. 星居孝之、村口輝之、大塩貴子、仲一仁、平尾敦: TSC-mTOR signaling controls the hematopoietic stem cell pool through both intrinsic and extrinsic regulation. 第7回幹細胞シンポジウム、P-19、東京、平成21年5月15日
 17. 村口輝行、星居孝之、大塩貴子、田所優子、仲一仁、平尾敦: Oncogenic Ras signaling による神経幹細胞分化制御機構のグリオーマ悪性化進展における役割 第10回文部科学省特定領域「がん」5領域 若手研究者ワークショップ、長野、平成21年9月2日

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

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）
分担研究報告書

がん間質における宿主免疫

分担研究者氏名 平岡 伸介 国立がんセンター研究所病理部・室長

研究要旨：ヒト腫瘍に対する宿主免疫応答性とその機序を理解することは、効果的な抗腫瘍免疫療法の開発にとって必須である。本研究では、膵多段階発がん過程の宿主免疫応答性の変化とその分子機序について、膵管内乳頭状粘液性腫瘍を用いて検討し、新たな知見を得た。各発がん過程の腫瘍組織に対する免疫細胞の浸潤様式から、抗腫瘍免疫反応は、前がん病変初期の腺腫段階まではある程度強く認められるが、それよりも進行した病変では反応性が低下し、免疫寛容に向かうと考えられた。次に発がん過程各段階の上皮細胞の網羅的遺伝子発現解析を実施し、腺種において特異的に発現亢進する遺伝子である、ケモカイン CXCL17 と接着分子 ICAM2 の 2 遺伝子を得た。in vitro 実験系およびマウス同種腫瘍移植モデルを用いた実験結果から、これら 2 遺伝子の発現亢進により、腺腫に対する未熟樹状細胞浸潤が促進され、それに続いて細胞性免疫が惹起され、また同時に ICAM2 発現が腫瘍細胞の細胞障害性 T 細胞に対する感受性を増加する、これらの相乗効果により宿主免疫反応性が高められていることが示唆された。一方進行した病変では、これら 2 遺伝子の発現低下が免疫応答性の低下をもたらすと考えられた。

以上、膵多段階発がん過程での宿主免疫応答の変化とその分子機序の一端を明らかとした。抗腫瘍免疫が惹起される分子機序、特にケモカインと接着分子が相乗的に働いて免疫反応を増加させていることは、免疫能を増強させる手段として、新たな免疫療法の礎となると期待される。

A. 研究目的

本研究では多段階発がん過程において変化する宿主免疫応答について、腫瘍上皮細胞と免疫担当細胞の相互関係に注目して、その免疫系の変化を来す分子機序を明らかとすることを目的とする。またそれら免疫応答性(炎症性変化を含めた)の変化の中で、何が発がん過程の進行に寄与し、何が発がんの進行を抑制しているのかをつきとめ、その機構を明らかとしたい。具体的には、ヒト膵多段階発がん過程の腫瘍性上皮細胞における遺伝子発現を網羅的に解析し、各発がん段階に特徴的に発現する免疫関連遺伝子の比較から、上皮細胞によって誘導される免疫担当細胞の同定や誘導の機序、それら免疫担当細胞と上皮細胞によって形作られる免疫微小環境の性格付けをする。さらにその微小環境が発がん過程に

およぼす影響について検討する。

発がん過程における腫瘍性上皮細胞と免疫担当細胞の相互作用によって、どのような分子機序により、どのような免疫微小環境が形成され、そしてそれが発がん過程に如何に影響しているのかが把握できれば、抗腫瘍免疫の発がん過程の進行に伴う変化機構の理解を深め、さらに画期的な免疫療法の開発に道を開くものと期待される。

B. 研究方法

膵管内乳頭状粘液性腫瘍(IPMN)を用いて、ヒト膵多段階発がん各過程の腫瘍に浸潤する免疫担当細胞の浸潤様式の違いを免疫組織化学的に検討し、多段階発がん過程における宿主免疫応答性の変化を評価した。また多段階発がん過程各段階の腫瘍上皮細胞におけ

る遺伝子発現を網羅的に検討し、前述の評価と併せて、宿主免疫応答性の変化に関わる遺伝子を同定した。次に、それら遺伝子にコードされた分子の細胞生物学的・免疫学的な機能を調べ、またマウス腫瘍の同種移植モデルを用いて生物学的機能を検討し、これら分子がもたらす宿主免疫応答性の変化の機序を解析した。

平成15年厚生労働省告示第255号「臨床研究に関する倫理指針」ならびに平成19年8月16日改正文部科学省・厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に従い、倫理面に十分配慮して研究をすすめた。

C. 研究結果

腫瘍に対する免疫細胞浸潤を検討した結果、腺腫(IPMA)では、腫瘍上皮細胞間に顕著なCD8⁺細胞障害性T細胞や骨髄性未熟DC浸潤が見られるが、上皮内がん(IPMC)になるとこれらT細胞・DCの浸潤は有意に減少した。所属リンパ節における成熟DCと未熟DCの比率を見ると、IPMAでは成熟DCが有意であるのに対して、発がん過程の進行に連れて成熟DCの割合が減少し、浸潤がんでは未熟DCが有意であった。以上から、宿主免疫応答は、腺腫の段階まではある程度機能しているが、それよりも進行すると免疫寛容に向かうことが示唆された。

次にIPMA細胞間へのDC浸潤を促進する分子機序を明らかとするために、発がん過程各段階の上皮細胞の網羅的遺伝子発現解析を実施した。正常上皮に比してIPMAで発現が上昇し、IPMCで発現が低下する遺伝子として、ケモカインCXCL17と接着分子ICAM2を得た。化学走化性試験によりCXCL17が単球・DCに特異的な化学走化性活性を持つこと、ICAM2が単球・DCの上皮細胞間浸潤に必要な接着分子に成り得ること、CXCL17とICAM2が相乗的に上皮細胞間浸潤を促進可能であることを*in vitro*実験系により明らかとした。また、CXCL17・ICAM2機能を代償可能な他の遺伝子発現はIPMA、IPMCで見られず、これら2分子の発現変化が腺発がん過程での免疫機能

制御に重要と考えられた。

マウス腫瘍(線維肉腫CMS5, 大腸がんCT26)のBalb/cマウスへの同種移植系を用いて、CXCL17とICAM2の免疫応答性の制御を検討した。これら2遺伝子を個別に強制発現させた腫瘍は、親株を移植した場合に比べて有意に腫瘍増殖が抑制され、さらに2遺伝子を同時に発現した腫瘍では、その移植は拒絶された。これら移植腫瘍内にはリンパ球・DC細胞浸潤が増進されており、またリンパ球を排除したマウスに移植すると親株移植時と同様に腫瘍は増大した。一方、ICAM2の腫瘍発現により、CD8⁺T細胞は腫瘍細胞との接着能が増し、効率よく腫瘍細胞を傷害した。以上から、CXCL17とICAM2の発現が腫瘍局所への効率的なDC浸潤を誘導し、继而て細胞性免疫が惹起され、さらにICAM2発現によりT細胞の標的腫瘍細胞障害の効率がよくなること、これらが相乗的に働いて抗腫瘍免疫能が誘導されたと考えられた。

D. 考察

多段階発がん過程の進行において、異常細胞を除去するある種の生体防御機序の一つとして、前がん病変初期、腺腫では自らにDC浸潤を誘導し、細胞性免疫を惹起する分子機序が存在するが、発がん過程の進行によりそれが失われていくことが示唆された。マウス同種腫瘍移植モデルではCXCL17・ICAM2が強力に働いて腫瘍移植が宿主免疫により拒絶されるが、臨床の場でIPMAの腫瘍消退は報告されていない。この理由として、IPMAが形成されるまでの発がん進行過程で、腫瘍自身の獲得してきた免疫抑制能による影響が考えられる。実際、IPMAを非腫瘍性炎症と比較すると、免疫反応は減弱している。にもかかわらず、臨床的に10年単位で経過の追えるIPMNでも、容易に発がん過程が進行しないことは、宿主免疫の効果を示唆するものである。

E. 結論

多段階発がん過程の進行に伴い、宿主免疫反応性は抗腫瘍性反応から免疫寛容へと変

化し、それはIPMAとIPMCを境に大きく変化している。IPMAではCXCL17・ICAM2発現が特徴的に亢進し、DCのIPMA細胞間への集積を促進して細胞性免疫を誘導する分子機序の存在することを明らかとした。これら分子機序の解明が、新たな免疫療法の礎となると考えられる。

F. 健康危険情報
なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Heimberger AB, Kong LY, Abou-Ghazal M, Reina-Ortiz C, Yang DS, Wei J, Qiao W, Schmittling RJ, Archer GE, Sampson JH, Hiraoka N, Priebe W, Fuller GN, Sawaya R. The role of tregs in human glioma patients and their inhibition with a novel STAT-3 inhibitor. *Clin Neurosurg* 2009;56:98-106.
2. Kubo T, Kuroda Y, Kokubu A, Hosoda F, Arai Y, Hiraoka N, Hirohashi S, Shibata T. Resequencing analysis of the human tyrosine kinase gene family in pancreatic cancer. *Pancreas* 2009;38:e200-6.
3. Nara S, Onaya H, Hiraoka N, Shimada K, Sano T, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T, Nara S, Onaya H, Hiraoka N, Shimada K, Sano T, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T. Preoperative evaluation of invasive and noninvasive intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas: clinical, radiological, and pathological analysis of 123 cases. *Pancreas* 2009;38:8-16.
4. Nara S, Shimada K, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T, Hiraoka N. Clinical significance of frozen section analysis during resection of intraductal papillary mucinous neoplasm: should a positive pancreatic margin for adenoma or borderline lesion be resected additionally? *J Am Col Surg* 2009; 209: 614-21.
5. Ojima H, Kanai Y, Iwasaki M, Hiraoka N,

Shimada K, Sano T, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T, Sakamoto M, Hirohashi S.

Intraductal carcinoma component as a favorable prognostic factor in biliary tract carcinoma. *Cancer Sci* 2009;100:62-70.

6. Sekine S, Ogawa R, Ito R, Hiraoka N, McManus MT, Kanai Y, Hebrok M. Disruption of Dicer1 induces dysregulated fetal gene expression and promotes hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology* 2009;136:2304-2315.
7. 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;89:425-32.

2. 学会発表

1. 平岡伸介、伊藤理恵、猪野義則、山田哲司、廣橋説雄、金井弥栄。ヒト膵前がん病変はCXCL17とICAM2の発現を介して抗腫瘍免疫を誘導する。第68回日本癌学会学術総会 横浜市。2009年10月。
2. 平岡伸介、伊藤理恵、猪野義則、山田哲司、廣橋説雄、金井弥栄。ヒト膵前がん病変はCXCL17とICAM2の発現を介して抗腫瘍免疫を誘導する。第39回日本免疫学会総会 大阪市。ワークショップ。2009年12月。

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

グリ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：悪性リンパ腫や白血病における悪性Bリンパ球の血管内皮への細胞接着が、リンパ球側のCD22と、血管内皮側のCD22特異的糖鎖リガンドとの結合によって媒介されていることを明らかにした。また、Bリンパ球側にはCD22の結合活性を抑制する内因性糖鎖が存在し、悪性Bリンパ球ではその抑制性糖鎖の減少あるいは消失のために血管内皮との細胞接着が亢進することを明らかにした。これらの結果から、悪性Bリンパ球の内因性抑制糖鎖の検出が、悪性リンパ腫や白血病における血管外浸潤能の評価に役立つ可能性のあることを明らかにした。また、癌化によって糖脂質の糖鎖部分に大きな変化が起こることは以前に報告したが、今年度は近年発達した質量分析法を活用して癌細胞の糖脂質の脂質部分の分子種を解析し、癌の低酸素微小環境下では糖脂質の脂質部分の分子種に大きな変化が生じることを見いだした。この変化は質量分析法によってはじめて簡便な検出が可能であり、質量分析法の近年の発達を癌診断に活用するにあたりひとつの道筋を開くものであると考えられた。

A.研究目的

癌細胞表面の糖鎖は正常細胞と大きく異なる。癌細胞に出現する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。セレクチ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。

今年度は特に悪性リンパ腫や白血病における悪性Bリンパ球と血管内皮との間の細胞接着について検討し、さらに低酸素抵抗性を獲得した悪性度の高い癌細胞に出現する糖脂質の脂質部分の分子種の変化についても検討を加えた。

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って来つつある。また、正常糖鎖にも生理的機能があり、癌化によってこの正常糖鎖が失われることによって、癌細胞の接着能に変化が生じる場合もある。本研究においてはこれらの癌化に伴う機能性糖鎖の変化を癌診断に応用することを目的とする。

B.研究方法

悪性リンパ腫や白血病における悪性Bリンパ球の治療に抗CD22抗体の利用が考慮されていることに関連して、CD22と特異的に結合する糖鎖を同定し、この糖鎖の体内分布を特異的単クローン抗体で免疫組織学的方法を用いて検索した。血管内皮細胞にこの糖鎖が強発現する事が判明したので、この糖鎖がCD22陽性の悪性Bリンパ球との血管内皮への接着に関与するかどうかを細胞接着実験を用いて解析した。また、大腸癌細胞株を低酸素状態で

大量に培養してリン脂質と糖脂質を抽出し、その脂質部分の分子種を高速液体クロマトグラフィーと質量分析(HPLC-ESI-MS/MS法)によって解析した。また、低酸素状態で培養した大腸癌細胞における脂質部分の代謝に関わる分子をコードする一連の遺伝子の発現変化をRT-PCR法によって解析しその結果を質量分析の結果と比較検討した。

(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) 白血病・悪性リンパ腫における悪性B細胞と血管内皮との接着機構

B細胞に広く分布するCD22が、血管内皮上の特殊な糖鎖リガンドと特異的に反応することを見いだした。この糖鎖に対する抗体を樹立して検索した所、リンパ節の高血管内皮細静脈に強く発現するほか、体内の他の部位の血管内皮にも広範囲に発現することが判明した。

正常B細胞にも同じ糖鎖が発現していることが判明した。正常B細胞では、この糖鎖が内因性リガンドとして同じ細胞のCD22の糖鎖結合能を中和するために、正常B細胞の血管内皮への接着が抑制されていることが判明した。悪性B細胞ではこの内因性の接着抑制糖鎖の発現が消退し、内因性リガンドから自由になって糖鎖結合能を回復したD22を介して、血管内皮の糖鎖と接着するに至る。この糖鎖は硫酸基と α -2-6結合のシアル酸を持つ特殊なもので、細胞接着抑制糖鎖(転移抑制糖鎖)の初めての例であると考えられる。白血病患者症例の予備的検討では、この抑制性糖鎖の発現は、ALL症例では著明に減少している(平均陽性率4.6%)に対し、CLL症例では保持されており(平均陽性率71.6%)、その差は統計的に有意($n=14$, $p<0.0001$)であった。

2) 癌の低酸素微小環境による糖脂質の脂質部分の分子種変化の解析

我々は以前に、局所がん病巣の低酸素環境によりシアル酸トランスポーター遺伝子*Sialin*の

発現が亢進し、このためがん細胞では*N*-グリコリル型シアル酸を持つ糖脂質が出現することを報告した。今年度は糖脂質の脂質部分への低酸素の影響をHPLC-ESI-MS/MS法を用いて検索した。その結果、低酸素により糖脂質のセラミド分子種が変わり、正常なセラミドが減少して、その合成前駆体であるジヒドロセラミドが出現することが明らかになった。正常細胞ではジヒドロセラミドは*DESI*遺伝子産物の働きで正常なセラミドへとすみやかに合成される。この合成には酸素が必要であり、低酸素によっても*DESI*遺伝子の転写が増大しないので補償が行われず、このため低酸素状態では合成が低下して前駆体であるジヒドロセラミドが蓄積すると考えられる。また、脂肪酸部分においても、不飽和脂肪酸が減少して長鎖の飽和脂肪酸が有意に増加することが判明した。これは不飽和長鎖脂肪酸と飽和長鎖脂肪酸のモル比の著明な変化として検出可能であった。不飽和脂肪酸鎖の合成にも酸素が必要とされることから、この変化は低酸素時の変化として妥当であると考えられた。

D. 考察

1) 白血病・悪性リンパ腫における悪性B細胞と血管内皮との接着機構

この糖鎖の発現の低下の程度は悪性B細胞と血管内皮との接着の強さと相関し、悪性細胞の組織浸潤能と深く関連すると考えられる。悪性B細胞系疾患の組織浸潤能の評価に使える可能性があり、今後臨床例について症例数を増して調査する必要がある。これまでの成績では、この糖鎖の発現は悪性リンパ腫・ALLで有意に低下しており、CLLでは保たれていることが判明している。悪性B細胞における発現低下の機序についても、合成遺伝子の同定を含め今後さらに研究を進める必要がある。おそらくはB細胞の悪性化に伴って本糖鎖の合成遺伝子にエピジェネティックサイレンシングが起こるものと考えられ、この仮説のもとに次年度以降の研究計画を考える予定である。

2) 癌の低酸素微小環境による糖脂質の脂質部分の分子種変化の解析

癌の低酸素微小環境により、がん細胞の糖脂質には、糖鎖部分のみならず脂質部分にも大きな変化が起こることが今年度の成果から明らかとなった。脂質部分の変化は、抗体などのこれまでの方法では検出が困難であったため、こうした変化はこれまであまり研究されてこなかった。しかし、これらの脂質部分の変化は近年飛躍的に発達した質量分析法により容易に分析できるので、多検体への応用を今後可能としたい。質量分析法の発達によって始めて検出可能になった癌マーカーであると考えられる。また、セラミドは従来アポトーシスを引き起こす内因性物質として知られるが、ジヒドロセラミドはアポトーシス惹起能を欠くことが知られ、この知見はがん細胞の不死化と関連する可能性がある。

E. 結論

今年度の成果により、白血病・悪性リンパ腫における悪性B細胞の組織浸潤能の強弱の判定に応用可能な糖鎖マーカーが得られた。また、近年飛躍的に発達した質量分析法によってようやく簡便な解析が可能になった新規の癌マーカーも見いだされた。

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. Kannagi, R., Ohmori, K., and Kimura, N. Anti-oligosaccharide antibodies as tools for studying sulfated sialoglycoconjugate ligands for siglecs and selectins. *Glycoconj. J.*, **26**: 923-928, 2009.
2. Yang, Z., Wu, J.H., Kuo, H.W., Kannagi, R., and Wu, A.M. Expression of sialyl Le^x, sialyl Le^a, Le^x and Le^y glycotopes in secreted human ovarian cyst glycoproteins. *Biochimie*, **91**: 423-433, 2009.
3. Zhang, X., Nakajima, T., Kamijo, Y., Li, G., Hu, R., Kannagi, R., Kyogashima, M., Aoyama, T., and Hara, A. Acute kidney injury induced by protein-overload nephropathy down-regulates gene expression of hepatic cerebroside sulfotransferase in mice, resulting in reduction of liver and serum sulfatides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **390**: 1382-1388, 2009.
4. Li, G., Hu, R., Kamijo, Y., Nakajima, T., Aoyama, T., Ehara, T., Shigematsu, H., Kannagi, R., Kyogashima, M., and Hara, A. Kidney dysfunction induced by protein overload nephropathy reduces serum sulfatide levels in mice. *Nephrology (Carlton)*, **14**: 658-662, 2009.
5. Igarashi, Y. and Kannagi, R. Glycosphingolipids as mediators of phenotypic changes associated with development and cancer progression. *J. Biochem.*, **147**: 3-8, 2010.
6. Ebisuno, T., Katagiri, K., Katakai, T., Ueda, Y., Nemoto, T., Inada, H., Nabekura, J., Okada, T., Kannagi, R., Tanaka, T., Miyasaka, M., Hogg, N., and Kinashi, T. Rap1 controls lymphocyte adhesion cascades and interstitial migration within lymph nodes in a RAPL-dependent and independent manner. *Blood*, **115**: 804-814, 2010.
7. Kannagi, R., Sakuma, K., Miyazaki, K., Lim, K-T., Yusa, A., Yin, J., and Izawa, M. Altered expression of glycan genes in cancers induced by epigenetic silencing and tumor hypoxia: Clues in the ongoing search for new tumor markers. *Cancer Sci.*, **101**: 586-593, 2009.
8. Ueda, M., Shimada, T., Goto, Y., Tei, K., Nakai, S., Hisa, Y., and Kannagi, R. Expression of CC-chemokine receptor 7 (CCR7) and CXC-chemokine receptor 4 (CXCR4) in head and neck squamous cell carcinoma. *Auris Nasus Larynx*, in press, 2010.
9. Yin, J., Miyazaki, K., Shaner, R.L., Merrill, A.H., Jr., and Kannagi, R. Altered sphingolipid metabolism induced by tumor hypoxia - new vistas of glycolipid tumor

markers. *FEBS Lett.*, in press, 2010.

2.学会発表

1. Kannagi R, Sakuma K, Miyazaki K, Kimura N, Ohmori K: Carbohydrate-mediated cell adhesion involved in pathogenic homing behaviors of T- and B-lymphocytes. GLYCO XX, San Juan, Puerto Rico, Nov.29-Dec.4, 2009.
2. Fujii M, Yusa A, Yokoyama Y, Kokuryo T, Nagino M, Iwata H, Utsunomiya H, Ishimaru T, Kyogashima M, Kannagi R: Cytoplasmic expression of GlcA-GlcNH₃⁺ on heparan sulfate closely correlates with malignancy of breast cancer. GLYCO XX, San Juan, Puerto Rico, Nov.29-Dec.4, 2009.
3. 神奈木玲児: 糖鎖修飾と細胞認識. 第73回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム「ポストゲノム時代の修飾タンパク質研究」, 名古屋, 5月23日, 2009.
4. 宮崎敬子, 佐久間圭一朗, 木村尚子, 大森勝之, 神奈木玲児: CD22とその高親和性リガンド α 2-6シリアル6-スルホ糖鎖を介したBリンパ球系悪性細胞の血管内皮への接着. 第18回日本がん転移学会総会, 旭川, 7月23-24日, 2009.
5. 林 啓智, 近藤幸子, 矢木宏和, 宮崎敬子, 高橋禮子, 加藤晃一, 神奈木玲児: ジシアリルルイスaを発現するN-グリカンの厳密な枝特異性—shRNAを用いた証明. 第68回日本癌学会総会, 横浜, 10月 1日-3日, 2009.
6. 遊佐亜希子, 宮崎敬子, 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ポーター遺伝子DTDSTのエピジェネティック・サイレンシング. 第68回日本癌学会総会, 横浜, 10月 1日-3日, 2009.
7. 宮崎敬子, 木村尚子, 佐久間圭一朗, 井澤峯子, 神奈木玲児: 悪性リンパ腫細胞では内因性の硫酸化リガンドの欠失により活性化された CD22が血管内皮との接着を促進する. 第68回日本癌学会総会, 横浜, 10月 1日-3日, 2009.
8. 佐久間圭一朗, 神奈木玲児: 低酸素によって誘導される急性骨髄性白血病幹細胞の糖鎖構造. 第68回日本癌学会総会, 横浜, 10月 1日-3日, 2009.
9. 田中広治, 京ヶ島守, 小泉恵子, 萩原和美, 村上真史, 村手 隆, 神奈木玲児: スフィンゴミエリン分解によらず生じたセラミド分子種がATRAによる神経芽細胞腫SH-SY5Yのアポトーシスを誘導する. 第68回日本癌学会総会, 横浜, 10月 1日-3日, 2009.
10. 京ヶ島守, 藤井正宏, 遊佐亜希子, 横山幸浩, 國料俊男, 角田伸行, 椰野正人, 宮浦修一, 宇都宮洋才, 岩田広治, 小田高司, 神奈木玲児: Cytoplasmic expression of GlcA-GlcNH₃⁺ on heparan sulfate closely correlates with malignancy of breast cancer (へパラン硫酸糖鎖GlcA-GlcNH₃⁺の細胞質内発現は乳癌の悪性度に密接に相関する). 第68回日本癌学会総会, 横浜, 10月 1日-3日, 2009.
11. 田中広治, 山田真希, 京ヶ島守, 小泉恵子, 神奈木玲児: MALDI-TOF MS を用いた高エネルギーCID によるセラミド及びスフィンゴ糖脂質の包括的解析. 第82回日本生化学会大会, 神戸, 10月21日-24日, 2009.
12. 遊佐亜希子, 宮崎敬子, 木村尚子, 井澤峯子, 神奈木玲児: 大腸がんにおける硫酸トランスポーター遺伝子DTDST のエピジェネティックサイレンシングは硫酸化糖鎖の発現を減少させる. 第82回日本生化学会大会, 神戸, 10月21日-24日, 2009.
13. 佐久間圭一朗, 大森勝之, 神奈木玲児: Th2疾患における6-硫酸化糖鎖の異常発現に対するGATA-3関与の可能性. 第39回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12月2日-4日, 2009.

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
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.	Lang Cancer	63	418-424	2009
Shichuan Zhang, Hayashi R, Fujii M, Hasegawa Y, Yoshino K, Fukayama M, <u>Ochiai A.</u>	Total Microvessel Perimeter Per Tumor Area Is a Predictor of Radiosensitivity In early-Stage Glottic Carcinoma.	Int.J.Radiation Oncology Biol.Phys	73	1104-1109	2009
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.	Biochemical and Biophysical Research Communications.	381	311-316	2009
Kim Y, Ishii G, Goto K, Ota S, Kubota K, Murata Y, Mishima M, Saijo N, Nishiwaki Y, <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	65	105-111	2009
Shirasu M, Nagai S, Hayashi R, <u>Ochiai A.</u> , Touhara K.	Dimethyl Trisulfide as a Characteristic Odor Associated with Fungating Cancer Wounds.	Biosci. Biotechnol. Biochem.,	73(9)	2117-2120	2009
Shimada Y, Ishii G, Nagai K, Atsumi N, Fujii S, Yamada A, Yamane Y, Hishida T, Nishimura M, Yoshida J, Ikeda N, <u>Ochiai A.</u>	Expression of podoplanin, CD44 and p63 in squamous cell carcinoma of the lung.	Cancer Sci.	100(1)	2054-9	2009
Kojika M, Ishii G, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Ota SJ, Murata Y, Nagai K, <u>Ochiai A.</u>	Immunohistochemical differential diagnosis between thymic carcinoma and type B3 thymoma: diagnostic utility of hypoxic marker, GLUT-1, in thymic epithelial neoplasms.	Mod Pathol.	22(10)	1341-50	2009
Shomori K, <u>Ochiai A.</u> , Akimot S, Ito Y, Shudo K, Ito H, Hirohashi S.	Tyrosine-phosphorylation of the 12th armadillo-repeat of beta-catenin is associated with cadherin dysfunction in human cancer.	Int J Oncol.	35(3)	517-24	2009
Horimatsu T, Sano Y, Kaneko K, Ikematsu H, Katagiri A, Yano T, Fuji KI, Muto M, Fujii S, <u>Ochiai A.</u> , Yoshida S.	Relationship between MVD and meshed-capillaries using magnifying NBI colonoscopy in colorectal precursor lesions.	Hepatogastroenterology.	56(90)	372-7	2009
Fujimoto H, Sangai T, Ishii G, Ikehara A, Nagashima T, Miyazaki M, <u>Ochiai A.</u>	Stromal MCP- in mammary tumors induces tumor-associated macrophage infiltration and contributes to tumor progression.	Int J Cancer.	125 (6)	1276-84	2009
Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, Kinoshita T, Saito N, <u>Ochiai A.</u> , Tomita M, Esimi H, Soga T.	Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry.	Cancer Res.	69(11)	4918-25	2009
Nakano M, Ishii G, Nagai K, Kawase A, Kenmotsu H, Kon-No H, Hishida T, Nishimura M, Yoshida J, <u>Ochiai A.</u>	Prognostic significance of carbonic anhydrase IX expression by cancer-associated fibroblasts in lung adenocarcinoma.	Cancer.	115(12)	2732-43.	2009

○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
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)	2363-9	2009
Ota S, Ishii G, Goto K, Kubota K, Kim YH, Kojima 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
Hikata T, Takaishi H, Takito J, Hakozaiki A, Furukawa M, Uchikawa S, Kimura T, <u>Okada Y.</u> Matsumoto M, Yoshimura A, Nishimura A, Reddy S V, Asahara H, Toyama	PIAS3 negatively regulates RANKL-mediated osteoclastogenesis directly in osteoclast precursors and indirectly via osteoblasts.	Blood	113	2202-2212	2009
Horiuchi K, Kimura T, Miyamoto T, Miyamoto K, Akiyama H, Takaishi H, Morioka H, Nakamura T, <u>Okada Y.</u> Blobel CP, <u>Tovama Y.</u>	Conditional inactivation of TACE by a Sox9 promoter leads to osteoporosis and increased granulopoiesis via dysregulation of IL-17 and G-CSF.	J. Immunol.	182	2093-2101	2009
Mochizuki S. <u>Okada Y.</u>	ADAM28 as a target for human cancers.	Curr. Pharm. Des.	15	2349-2358	2009
Mikami S., Katsube K., Oya M., Ishida M., Kosaka T., Mizuno R., Mochizuki S., Ikeda T., Mukai M. <u>Okada</u>	Increased RANKL expression is related to tumor migration and metastasis of renal cell carcinomas.	J. Pathol.	218	530-539	2009
Hattori N., Mochizuki S., Kishi K., Nakajima T., Takaishi H., D' Armiento J. <u>Okada Y.</u>	MMP-13 plays a role in migration, angiogenesis and contraction in mouse skin wound healing.	Am. J. Pathol.	175	533-546	2009
Effendi K, Mori T, Komuta M, Masugi Y, Du W, <u>Sakamoto M.</u>	Bmi-1 gene is upregulated in early-stage hepatocellular carcinoma and correlates with ATP-binding cassette transporter B1 (ABCB1) expression.	Cancer Sci			in press.
Tanese K, Fukuma M, Ishiko A, <u>Sakamoto M.</u>	Endothelin-2 is upregulated in basal cell carcinoma under control of Hedgehog signaling pathway.	Biochem Biophys Res Commun.	391	486-491	2010
<u>Sakamoto M.</u>	Early HCC: diagnosis and molecular markers. 44 Suppl	J Gastroenterol.	19	108-11	2009
Yamazaki K, Takamura M, Masugi Y, Mori T, Du W, Hibi T, Hiraoka N, Ohta T, Ohki M, Hirohashi S, <u>Sakamoto M.</u>	Adenylate cyclase-associated protein 1 overexpressed in pancreatic cancers is involved in cancer cell motility.	Lab Invest.	89(4)	425-32	2009
International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia.	Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia.	Hepatology.	49(2)	658-64	2009

○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
Ojima H, Kanai Y, Iwasaki M, Hiraoka N, Shimada K, Sano T, <u>Sakamoto M</u> , Esaki M, Kosuge T, Sakamoto M, Hirohashi S.	Intraductal carcinoma component as a favorable prognostic factor in biliary tract carcinoma.	Cancer Sci.	100(1)	62-70	2009;
Douguchi J, Hashiguchi A, <u>Sakamoto M</u> .	Construction of human monoclonal single-chain Fv antibodies against small-cell lung cancer by phage display libraries derived from cell-immunized SCID mice engrafted with human peripheral blood lymphocytes.	Proteomics Clin Appl,	3	1265-1272	2009
Hibi T, Mori T, Fukuma M, Yamazaki K, Hashiguchi A, Yamada T, Tanabe M, Aiura K, Kawakami T, Ogiwara A, Kosuge T, Kitajima M, Kitagawa Y, <u>Sakamoto M</u> .	Synuclein-gamma is closely involved in perineural invasion and distant metastasis in mouse models and is a novel prognostic factor in pancreatic cancer.	Clin Cancer Res	15(8)	2864-71	2009
Tanaka A, Itoh F, Takezawa T, Itoh S, <u>Kato M</u> .	bHLH Protein E2-2 inhibits VEGFR2 expression and blocks endothelial cell activation.	Blood			in press
Watanabe Y, Itoh S, Goto T, Ohnishi E, Inamitsu M, Itoh F, Satoh K, Wiercinska E, Yang W, Shi L, Tanaka A, Nakano N, Mommaas AM, Shibuya H, ten Dijke P, <u>Kato M</u> .	TMEPAI, a transmembrane TGF- β -inducible protein, sequesters Smad proteins from active participation in TGF- β signaling.	Mol Cell	37	123-134	2010
Itoh F, Itoh S, Carvalho RLC, Adachi T, Ema M, Goumans MJ, Larsson J, Karlsson S, Takahashi S, Mummery CL, ten Dijke P, <u>Kato M</u> .	Poor Vessel Formation in Embryos from Knock-in Mice Expressing ALK5 with L45 Loop Mutation Defective in Smad Activation.	Lab Invest	89	800-810	2009
Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, <u>Hirao A</u> .	TGF-beta-FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia.	Nature	463	676-80	2010
Tamase A, Muraguchi T, Naka K, Tanaka S, Kinoshita M, Hoshii T, Ohmura M, Shugo H, Ooshio T, Nakada M, Sawamoto K, Onodera M, Matsumoto K, Oshima M, Asano M, Saya H, Okano H, Suda T, Hamada JI, <u>Hirao A</u>	Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin.	Proc Natl Acad Sci U S A.	106	17163-8	2009

○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
Yamakoshi K, Takahashi A, Hirota F, Nakayama R, Ishimaru N, Kubo Y, Mann DJ, Ohmura M, Hirao A, Saya H, Arase S, Hayashi Y, Nakao K, Matsumoto M, Ohtani N, Hara E.	Real-time in vivo imaging of p16Ink4a reveals cross talk with p53.	J Cell Biol.	186	393-407	2009
Heimberger AB, Kong LY, Abou-Ghazal M, Reina-Ortiz C, Yang DS, Wei J, Qiao W, Schmittling RJ, Archer GE, Sampson JH, Hiraoka N, Priebe W, Fuller GN, Sawaya R.	The role of tregs in human glioma patients and their inhibition with a novel STAT-3 inhibitor.	Clin Neurosurg	56	98-106	2009
Kubo T, Kuroda Y, Kokubu A, Hosoda F, Arai Y, Hiraoka N, Hirohashi S, Shibata T.	Resequencing analysis of the human tyrosine kinase gene family in pancreatic cancer.	Pancreas	38	e200-6	2009
Nara S, Onaya H, Hiraoka N, Shimada K, Sano T, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T, Nara S, Onaya H, Hiraoka N, Shimada K, Sano T, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T.	Preoperative evaluation of invasive and noninvasive intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas: clinical, radiological, and pathological analysis of 123 cases.	Pancreas	38	8-16.	2009
Nara S, Shimada K, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T, Hiraoka N.	Clinical significance of frozen section analysis during resection of intraductal papillary mucinous neoplasm: should a positive pancreatic margin for adenoma or borderline lesion be resected additionally?	J Am Col Surg	209	614-21	2009
Ojima H, Kanai Y, Iwasaki M, Hiraoka N, Shimada K, Sano T, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T, Sakamoto M, Hirohashi S.	Intraductal carcinoma component as a favorable prognostic factor in biliary tract carcinoma.	Cancer Sci	100	62-70	2009
Sekine S, Ogawa R, Ito R, Hiraoka N, McManus MT, Kanai Y, Hebrok M.	Disruption of Dicer1 induces dysregulated fetal gene expression and promotes hepatocarcinogenesis.	Gastroenterology	136	2304-15	2009
Yamazaki K, Takamura M, Masugi Y, Mori T, Du W, Hibi T, Hiraoka N, Ohta T, Ohki M, Hirohashi S.	Adenylate cyclase-associated protein 1 overexpressed in pancreatic cancers is involved in cancer cell motility.	Lab Invest	89	425-32	2009
Kannagi R., Ohmori K., Kimura, N.	Anti-oligosaccharide antibodies as tools for studying sulfated sialoglycoconjugate ligands for siglecs and selectins	Glycoconj. J.	26	923-928	2009
Yang, Z., Wu, J.H., Kuo, H.W., Kannagi R., and Wu, A.M.	Expression of sialyl Lex, sialyl Lea, Lex and Ley glycotopes in secreted human ovarian cyst glycoproteins.	Biochimie	91	423-433	2009

○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
Zhang, X., Nakajima, T., Kamijo, Y., Li, G., Hu, R., <u>Kannagi, R.</u> , Kyogashima, M., Aoyama, T., Hara, A.	Acute kidney injury induced by protein-overload nephropathy down-regulates gene expression of hepatic cerebroside sulfotransferase in mice, resulting in reduction of liver and serum sulfatides.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	390	1382-1388	2009
Li, G., Hu, R., Kamijo, Y., Nakajima, T., Aoyama, T., Ehara, T., Shigematsu, H., <u>Kannagi, R.</u> , Kyogashima, M., Hara, A.	Kidney dysfunction induced by protein overload nephropathy reduces serum sulfatide levels in mice.	Nephrology	14	658-662	2009
Igarashi, Y. <u>Kannagi, R.</u>	Glycosphingolipids as mediators of phenotypic changes associated with development and cancer progression.	J. Biochem.	147	3-8	2010
Ebisuno, T., Katagiri, K., Katakai, T., Ueda, Y., Nemoto, T., Inada, H., Nabekura, J., Okada, T., <u>Kannagi, R.</u> , Tanaka, T., Miyasaka, M., Hogg, N., Kinashi, T.	Rap1 controls lymphocyte adhesion cascades and interstitial migration within lymph nodes in a RAPL-dependent and independent manner.	Blood	115	804-814	2010
<u>Kannagi, R.</u> , Sakuma, K., Miyazaki, K., Lim, K-T., Yusa, A., Yin, J., Izawa, M.	Altered expression of glycan genes in cancers induced by epigenetic silencing and tumor hypoxia: Clues in the ongoing search for new tumor markers.	Cancer Sci.	101	586-593	2010
Ueda, M., Shimada, T., Goto, Y., Tei, K., Nakai, S., Hisa, Y., <u>Kannagi, R.</u>	Expression of CC-chemokine receptor 7 (CCR7) and CXC-chemokine receptor 4 (CXCR4) in head and neck squamous cell carcinoma.	Auris Nasus Larynx		in press (e-pub)	2010
Yin, J., Miyazaki, K., Shaner, R.L., Merrill, A.H., Jr., <u>Kannagi, R.</u>	Altered sphingolipid metabolism induced by tumor hypoxia - new vistas of glycolipid tumor markers.	FEBS Lett.		in press (e-pub)	2010

