

2010/90/8A

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

疾患モデル動物を用いた環境発がん初期過程の分子機構
および感受性要因の解明とその臨床応用に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 筆宝 義隆

平成23（2011）年5月

目次

I. 総括研究報告

- 疾患モデル動物を用いた環境発がんの初期発生過程及び感受性要因の解明と
その臨床応用に関する研究 _____ 1
中釜 斉 (筆宝 義隆)

II. 分担研究報告

1. ラット大腸がんモデルを用いた発がん初期過程の分子機構および感受性要因
の解明 _____ 20
中釜 斉 (筆宝 義隆)
2. ポリ ADP-リボシル化を標的とする早期からの制がん法 _____ 26
益谷 美都子
3. ラット ES 細胞の樹立およびノックアウトラットの作成 _____ 30
竹下 文隆
4. Bcl11b ヘテロ遺伝子型が与える発がん感受性と放射線発がんリスク予測- 33
木南 凌
5. 大腸発がんにおける炎症の関与とその分子機構の解明 _____ 40
中島 淳
6. 消化器がん発生に関与する炎症反応の分子機構の解明 _____ 44
大島 正伸
7. *Apc* 変異マウスの腸管腫瘍形成に寄与するシグナル経路の解明 _____ 50
青木 正博
8. *Apc* 変異ラットを用いた大腸がん診断・治療評価系の開発 _____ 52
庫本 高志

9. 酸化ストレスに起因する発がんの抑制に関する分子遺伝学的研究	——	55
續 輝久		
10. 低レベル PhIP の持続的曝露により誘発される DDR の分子機構の解明	—	58
山下 克美		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—————	60
IV. 研究成果の刊行物・別刷		

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）
総括研究報告書

疾患モデル動物を用いた環境発がん初期過程の分子機構および
感受性要因の解明とその臨床応用に関する研究

主任研究者 中釜 斉（筆宝 義隆）
国立がんセンター研究所 所長（ユニット長）
（平成23年3月11日付けで中釜から筆宝へ交代）

研究要旨

大腸がん、胃がんなどのヒト発がん過程にはApc/Wnt/mTOR シグナル経路やミスマッチ修復系などの遺伝学的因子と発がん物質、炎症、内臓肥満、酸化ストレス、放射線などの環境因子が協調的に関与している。本研究では将来的な早期診断・治療法や予防的介入法の確立を念頭に、動物モデルを用いて発がんの特に初期過程での変化に注目して分子機構の解析を行った。初期過程での変化としては、環境変異原に対するDNA障害応答や、miRNAの生合成に関わる大腸がん高発現の分子SND1に注目し、その発がん促進機構を解析した。環境因子による発がん感受性を規定する因子についても、主に遺伝学的アプローチにより解析が進み、特に系統間の大腸化学発がん感受性の差と関連するCaspase3遺伝子の多型と発現レベルの差については、トランスジェニックラットの作成により発がん性に関与することを直接証明した。また、従来の発がん研究ではラットや遺伝子改変マウスの個体レベルでの解析が主流であったが、本研究では遺伝子改変ラットの作成やマウスの細胞レベルでの発がん再構成などまったく新しい実験系の構築に成功し、今後この分野での大きな進展が期待される。さらに、Apc変異ラットに誘発される大腸がんを用いた抗がん剤の前臨床試験や、抗糖尿病薬によるヒト大腸がん予防試験など予防や治療への応用を見据えた研究も展開された。動物モデルの利点を最大限に生かして、ヒト発がん機構の解析と治療への展開という二方向について成果が得られた。

分担研究者

筆宝義隆 国立がん研究センターユニット長
中釜 斉 国立がん研究センター 所長
益谷美都子 国立がん研究センター 分野長
竹下文隆 国立がん研究センター主任研究員
木南 凌 新潟大学医歯学総合研究科 教授
中島 淳 横浜市立大学消化器内科 教授
大島正伸 金沢大学がん進展制御研究所 教授
青木正博 愛知県がんセンター研究所 部長
庫本高志 京都大学医学研究科 准教授
續 輝久 九州大学医学研究院 教授
山下克美 金沢大学医薬保健研究域 准教授

A. 研究目的

本研究による動物モデルを用いた解析は、

ヒト発がん研究のための検証系、探索系としての性格を有する。ヒトがんの早期診断や、遺伝子情報に基づいたテーラーメイドながん予防策の構築に資する研究を目指す。最終的にはがんに対する治療薬や予防薬開発のための候補標的分子の同定など臨床応用も視野に入れて研究を展開する。

環境発がん初期過程の分子機構を解明するために、培養細胞を用いてDNA障害応答初期応答としての細胞周期停止機構を細胞周期制御因子の分解に着目して解明する。

大腸がん初期病変の腺腫性ポリープを発症するモデルであるApc^{Δ716}マウスにおいて腫瘍形成にmTORC1とSmoothenedが重要な役割を担うことを示してきたが、mTORC1経路活性化機

序および Smoothed による Wnt シグナル活性化機序を明らかにして大腸がん発生初期段階を制御する分子機構を解明する。

個体レベルでの動物発がん実験の欠点を補完するために、新たにマウス腸管細胞の *in vitro* 発がん再構成系を構築する。さらに、ラット大腸発がん初期病変から高発現の SND1 が発がんを促進するメカニズムの探索を行い発がん初期過程の分子機構を解明する。

Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) によるエピゲノムおよび増殖シグナル伝達系の制御機構を解析し、PARP 機能異常とがん化との関連を明らかにする。また、重粒子線照射時の DNA 損傷修復応答における PARP の役割と PARP 阻害剤による放射線効果増強作用を解析し、治療標的としての PARP の可能性を検討する。

臭素酸カリウム (KBrO₃) の飲水投与による消化管での酸化ストレス誘発発がん系を用いて、ミスマッチ修復系が酸化ストレスに起因する発がんの抑制に果たす役割を解明する。

内臓脂肪型肥満は大腸がんの促進因子であることから、内臓脂肪より分泌されるアディポサイトカインからの AMPK シグナル制御が発がんを促進するメカニズムの解明と、治療標的としての可能性の検討を行う。

COX-2/PGE2 経路の誘導依存的に炎症反応をとともなう胃がんを自然発生するマウスモデルを用いて、胃がん組織における炎症反応の発生機序、および炎症による発がん促進機構を解明する。

放射線傷害の蓄積性や放射線暴露健康リスクへのより適切な理解と評価の基盤として放射線誘発発がんの母体細胞の同定は重要であり、Bel11bKO/+マウスに誘発される放射線感受性胸腺リンパ腫および腸管腫瘍を対象に発がん母細胞および放射線の標的細胞を同定する。

加熱魚肉食品中に含まれる変異原性物質 PhIP、

2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine により誘発されるラット大腸発がんモデルを用いて、化学発がん感受性に影響する候補遺伝子のトランスジェニック動物で発がん性に影響がみられるか検証する。

Apc 遺伝子に変異を持つ KAD ラットは、AOM/DSS 投与後 15 週で全ての個体に約 10 個の大腸腫瘍を誘発する。これに対して化学療法試験を実施し、抗癌剤の検定や開発における KAD ラットの有用性を示す。

ラットはマウスと比較して生理機能などがよりヒトに類似しており、化学発がんモデルとしての蓄積も大きいいため KO ラットの作成が長く望まれていた。ES 細胞の樹立に成功したため、KO ラットの作製を行い環境中の発がん要因に対する標的遺伝子の機能解析に利用可能な新規モデルラットの作製を目指す。

B. 研究方法

(1) ゲノム損傷による細胞周期停止誘導に関与する遺伝子の探索: Cdc25A や Cdc25B の分解誘発系を解明するために、siRNA や shDNA ライブラリーを細胞へ導入し、ゲノム損傷刺激が誘導する分解を阻害するものを分離した。これらの発現阻害核酸に対応する遺伝子産物の機能を解明することにより、ゲノム損傷から Cdc25A/Cdc25B の分解にいたるシグナル伝達に関与する遺伝子を同定した。

(2) Apc 変異マウスにおける JNK 依存的 mTORC1 活性化機構の解析: Apc^{Δ716} マウスに SP600125 を経口投与後にポリープの数、大きさを対照群と比較し、免疫染色、ウェスタンブロットにより、JNK、mTORC1 経路への影響を調べた。大腸がん細胞株に anisomycin 投与、SP600125 投与、JNK のノックダウンなどを行い、mTORC1 経路への影響を調べた。また、*in vitro* リン酸化反応等により、JNK による mTORC1 活性化の分子機序を調べた。

(3)SND1 ノックダウン大腸がん細胞株の樹立と miRNA 発現解析：HCT 116 及び SW480 大腸がん細胞株へ SND1 を標的とするレンチウイルス shRNA を導入した後、ノックダウン細胞株とコントロール細胞株に対してマイクロアレイ解析を行い miRNA 発現プロファイルの変化を比較した。

(4)マウス腸管細胞初代培養からの in vitro 発がん再構成系の確立：生後 4 週間の C57BL/6 マウスの小腸から腺窩部分を単離し、マトリゲル内で三次元培養を行った。p53, APC, PTEN などのがん抑制遺伝子に対する shRNA ベクターをレンチウイルスで導入し、ヌードマウス皮下に接種して造腫瘍能を検定した。

(5)Msh2 欠損マウスにおける酸化ストレス誘発発がん機構の解析：HNPCC の原因遺伝子 Msh2 は酸化ストレス誘発突然変異の抑制に関与することが示唆されているため、Msh2 遺伝子欠損マウスを用いて、KBrO₃ 飲水投与による酸化ストレス誘発発がん解析を行った。

(6)PARP 機能欠損下でのエピゲノム制御・増殖シグナルの解析：Parp-1 欠損 ES 細胞分化モデルにおけるゲノムワイドなメチル化異常、エピゲノム制御異常、ヒストン修飾状態や転写因子の結合活性を検討した。

(7)PARP 阻害剤と放射線の併用の有効性の検討：γ 線、炭素線 (LET13 と LET70) の DNA 損傷応答を PARP 阻害剤存在下で細胞レベル、タンパク質レベルの解析で検討した。

(8)アディポネクチン欠損マウス腸管に対して高脂肪食が及ぼす効果の解析：アディポネクチン欠損マウスに高脂肪食を負荷し、ポリプおよび細胞増殖の変化を解析した。

(9)メトホルミンによる大腸腫瘍抑制機構の解析：APCMin/+マウスおよび AOM 誘発化学発がんマウスの 2 つのモデルを用い、メトホルミンによる大腸腫瘍抑制作用を検討した。

(10)大腸がんハイリスク群に対するメトホ

ルミンがん予防効果の検討：ヒト大腸がんのハイリスク群に対しメトホルミンを1カ月投与し、大腸がんのサロゲートマーカーとされる初期病変 ACF 数の変化を検討した。

(11)胃発がんマウスを用いた感染刺激および PGE2 経路の意義の解析：Wnt シグナルと COX-2/PGE2 経路双方の活性化により胃がんを発生する Gan マウスの無菌化飼育、および PGE2 受容体 EP4 阻害薬投与を行い、胃がん発生への感染刺激および PGE2 経路の役割を解析した。

(12)胃発がんにおける腫瘍組織マクロファージの役割の解析：ケモカイン発現解析およびマクロファージ枯渇実験により炎症発生機序および腫瘍組織マクロファージの役割を解析した。

(13)遺伝子発現プロファイルを用いた炎症による発がん促進効果の解析：遺伝子発現解析により炎症と EGFR 活性化の関連を解析した。

(14)ラット大腸発がん感受性遺伝子候補 Caspase3 の腫瘍抑制効果の検討：Caspase3 遺伝子を発がん感受性である F344 ラットに導入したトランスジェニックラットのうち、発がん抵抗性の ACI ラットと同程度の発現レベルであった 2 系統 A, B について、PhIP 誘発発がん実験を行い ACF 数を比較した。

(15)Bcl11b ヘテロマウス腸管細胞に対する放射線照射の影響の検討：生後 8 または 10 週の Bcl11bKO/+マウスに、3Gy から 12Gy の γ 線照射を行った。FACS 解析の分化マーカーには CD4、CD8 などを用い、データの解析は Flow-Jo Software を用いた。細胞増殖の測定は、マウス腹腔に BrdU 投与して 1 時間後、腸管細胞を取り出し計測した。

(16)Apc 変異ラットに発生した大腸がんに対する 5-FU の抗腫瘍効果の検討：5 週齢の雄 KAD ラットに AOM を背部皮下投与し、1 週間後 2% DSS を 1 週間飲水投与した。実験開始 9 週目に内視鏡観察を行い、溶媒投与群、5-FU 50mg/kg 投与群及び 75mg/kg 投与群の各群を設定し、5-FU もしくは生理食塩水の尾静脈内投与を週 1 回 3

週連続で行った後に、1週間休薬させるスケジュールで全2クール実施した。AOM投与16週間後に剖検を実施し、病理解析を行った。

(17)未分化なラットES細胞樹立に必要な培養条件の検討: ES細胞の未分化マーカー遺伝子Oct4のプロモーターで制御される蛍光タンパクを利用し、未分化なラットES細胞を樹立すべく培養条件の検討を行った。ES細胞特異的な遺伝子の発現、染色体数の異常の有無を解析し、ヌードマウスへの移植によるテラトーマ形成の検討を行った。

(18)トランスジェニックラットの作成: ES細胞に遺伝子導入操作を施した後、借り腹となる偽妊娠ラットの子宮にES細胞を移植しキメララットを介して遺伝子改変ラットを作製した。

(倫理面への配慮)

動物実験については、国立がん研究センターの定める動物実験に関する規約を遵守し、実験に用いる動物も統計学的検定に必要な最小限の匹数を用いた。動物の苦痛に対する十分な配慮を払い、屠殺は麻酔と放血の併用で行った。ヒト試料を用いた解析は、疫学研究の倫理指針を遵守して行った。

C. 研究結果

(1)ゲノム損傷による細胞周期停止誘導に関与する遺伝子の探索: Cdc25AおよびCdc25Bのストレス誘発性分解制御に係るN-末端側150-170アミノ酸をコードするcDNAをそれぞれGFPまたはRFPと融合させ、Cdc25A/N-EGFPとCdc25B/N-RFPを構築した。これらの「分解検出用プローブ遺伝子」をHeLa細胞へ導入し、単独または両方を安定発現する細胞株を分離した。これに遺伝毒性ストレス即ちエトポシド処理と、非遺伝毒性ストレス即ちNaCl処理を行い、蛍光の消失を検討したところ、Cdc25A/Nの緑色蛍光は両薬剤処理1時間以内に消失したが、

Cdc25B/N由来の赤色蛍光はNaCl処理の場合は1時間以内に消失し、エトポシド処理の場合は約8時間後に完全な消失が観察された。

(2)Apc変異マウスにおけるJNK依存的mTORC1活性化機構の解析: Apc^{Δ716}マウスにJNK阻害薬SP600125を投与したところ、JNK経路およびmTORC1経路の不活化が見られると同時に腸管腫瘍形成は有意に抑制された。また、大腸がん細胞株にanisomycinを投与してJNKを活性化させたところ、mTORC1経路は顕著に活性化され、逆にJNK経路の抑制によりmTORC1経路は不活化された。JNKはin vitroでmTORC1構成要素のRaptorをリン酸化したが、これは主にセリン863残基に生じており、アラニンへの置換でJNKによるmTORC1活性化は強く抑制された。

(3)SND1ノックダウン大腸がん細胞株の樹立とmiRNA発現解析: SND1ノックダウン細胞におけるmiRNA発現解析を行ったところ、成熟型Let-7ファミリーの発現低下を誘導することを見いだした。したがって、SND1はある特定miRNAの生合成過程の制御を介して、miRNA依存的遺伝子発現制御に関与している可能性が示唆された。

(4)マウス腸管細胞初代培養からのin vitro発がん再構成系の確立: p53^{-/-}のマウス腸管初代培養細胞にshPTEN+shAPCの組み合わせでshRNAを導入したところ、3週間程度で皮下腫瘍の形成が見られ、in vitroで短期間に発がんが再構成可能であることを示した。C57BL/6マウスでも同様の実験を行い、shp53+shAPCおよびshPTEN+shAPCの組み合わせでは、短期間の培養の後にヌードマウス皮下に移植したところ、4週間程度で腫瘍を形成した。組織学的にもヒト大腸がん類似の腺がんであり、免疫組織化学ではWnt経路活性化に特徴的なβ-cateninの核および細胞質への蓄積を認めた。

(5)Msh2欠損マウスにおける酸化ストレス誘発発がん機構の解析: KBrO₃を投与した野生型マウス5匹およびMsh2遺伝子欠損マウス4匹に生じた1個体当りの平均腫瘍数は、それぞれ

1.2±0.98, 27.3±1.09であった。非投与群の Msh2 遺伝子欠損マウスには1個体当たり平均1.2±0.75個の腫瘍が観察された。これらの KBrO₃ で誘発された腫瘍はすべて十二指腸および空腸の口側領域に生じていた。病理解析の結果、これらの腫瘍は1例を除き全てヴェイナ分類のカテゴリー4と診断された。

(6) PARP 機能欠損下でのエピゲノム制御・増殖シグナルの解析: Parp-1 欠損 ES 細胞では一部の CpG アイランドや Peg3 遺伝子において脱メチル化の誘導を認め、さらに H19-Igf2 ICR における DNA 脱メチル化は活性化ヒストン修飾への移行を伴った。

(7) PARP 阻害剤と放射線の併用の有効性の検討: PARP 阻害剤はγ線及び炭素線照射後の DNA 損傷修復応答に関与し、これらの低 LET 及び高 LET 放射線の効果を増強することを見出した。

(8) アディポネクチン欠損マウス腸管に対して高脂肪食が及ぼす効果の解析: アディポネクチン欠損マウスでは、高脂肪食負荷で有意なポリープの増加、細胞増殖の亢進を認めたが、これには mTOR/S6K/S6 pathway の活性化が関与していることを見いだした。

(9) メトホルミンによる大腸腫瘍抑制機構の解析: アディポネクチンの大腸発がん抑制作用は AdipoR1 の標的分子である AMPK を介することが示唆された。

(10) 大腸がんハイリスク群に対するメトホルミンがん予防効果の検討: 大腸がんのハイリスク群に対するメトホルミンの腫瘍への作用を、大腸がんのサロゲートマーカーである ACF を色素拡大内視鏡で観察し検討したところ、1カ月間の投与で ACF は有意に減少した。

(11) 胃発がんマウスを用いた感染刺激および PGE2 経路の意義の解析: Gan マウスを無菌化すると胃がん発生が抑制され、また PGE2 受容体 EP4 の阻害薬投与により胃がんの顕著な退縮が認められ、細菌感染刺激と EP4 シ

グナル双方が胃がん発生に重要であることを明らかにした。

(12) 胃発がんにおける腫瘍組織マクロファージの役割の解析: 細菌感染刺激と PGE2 の相互作用により CCL2 と CCL8 が胃粘膜で発現誘導され、CCL2 中和抗体投与により Gan マウス胃がんへのマクロファージ浸潤が抑制されることを明らかにした。マクロファージ枯渇領域では腫瘍間質細胞のアポトーシスを認めたことから、細菌感染刺激と PGE2 の相互作用は CCL2/CCL8 発現誘導により腫瘍組織にマクロファージを浸潤させ、腫瘍間質細胞の生存に作用すると考えられた。

(13) 遺伝子発現プロファイルを用いた炎症による発がん促進効果の解析: 炎症反応は、EGFR リガンドおよび ADAM ファミリー遺伝子の発現誘導により EGFR シグナルを活性化させて、胃がん発生に関与していることを明らかにした。

(14) ラット大腸発がん感受性遺伝子候補 Caspase3 の腫瘍抑制効果の検討: TG ラットでの PhIP 誘発発がん実験: 系統 A では平均値で nonTG (AC 3.9, ACF 1.9) に対して TG (AC 1.6, ACF 0.6) と TG で有意に AC, ACF が抑制されていた (p<0.01)。一方、系統 B では nonTG (AC 4.3, ACF 2.4) に対して TG (AC 3.1, ACF 1.3) と、統計的に有意ではないが抑制傾向を示した (p=0.1706)。

(15) Bcl11b ヘテロマウス腸管細胞に対する放射線照射の影響の検討: Bcl11bK0/+マウスに 12Gy の全身照射を行い、細胞の増殖と移動を 16 時間後に観察した。野生型マウスでは、BrdU 陽性細胞はクリプト内から位置 32 まで広く分布し非照射時と比べ移動阻害を示した。一方、Bcl11bK0/+マウスでは移動位置の低下は弱く、クリプト内から位置 42 にまで分布し、クリプト内 p53 陽性細胞は野生型マウスより約2倍多く観察された。

(16) Apc 変異ラットに発生した大腸がんに対する 5-FU の抗腫瘍効果の検討: 1頭あたりの腫瘍数、腫瘍1個あたりの体積、腺腫および腺癌

の腫瘍数のいずれも 5-FU 投与群と溶媒投与群で有意な差を認めなかった。一方、腺癌 1 個あたりの体積では 5-FU 投与群で $34.4 \pm 6.8 \text{ mm}^3$ 、溶媒投与群で $65.9 \pm 9.5 \text{ mm}^3$ ($p < 0.02$) と有意な差が見られた。

(17) 未分化なラット ES 細胞樹立に必要な培養条件の検討: 未分化能をモニターすることで、4 つの分化抑制性低分子化合物がラット ES 細胞の樹立に必要なことを見出した。樹立した ES 細胞はマーカー遺伝子の発現、長期培養における正常染色体の保持、胚様体の形成、テラトマ形成等の ES 細胞の基準を達成した。プラストシストインジェクション法による生殖系譜伝達能を有するキメララットの作製も可能であり、樹立した 6 つの ES 細胞ライン全てでこれが達成されたことから極めて安定的な ES 細胞樹立法の確立と考えられた。

(18) トランスジェニックラットの作成: KO ラット作製の前段階として ES 細胞への遺伝子導入によるトランスジェニックラットの作製を試みた。未分化マーカーである Oct4, Nanog のプロモーター下に蛍光蛋白である Venus, tdTomato をそれぞれ連結させたトランスジーンを ES 細胞に導入し、安定的に発現する ES 細胞クローンを取得し、キメララット、生殖系譜伝達を介することで最終的に世界初となるトランスジェニックラットの作製に成功した。

D. 考察

(1) ゲノム損傷による細胞周期停止誘導に関与する遺伝子の探索: DDR 応答として Cdc25A や Cdc25B の分解を誘発するシグナルに関連する遺伝子を分離するシステムが完成したことから、来年度以降はこれを用いた遺伝子探索が可能となった。DDR 応答の際、Cdc25A はゲノム損傷誘発後 30 分以内に分解が誘発される。この時、Cdc25A 分子内の恒常的分解に係る部位と、損傷誘発性分解に係る部位

の両方が細胞内の急速なタンパク量低下に貢献する。一方、本研究に用いたプローブでは N-末端側の「DDR としての分解に係る部位」のみを用いているため、分解のキネティクスがそれよりも遅いと考えられる。

(2) Apc 変異マウスにおける JNK 依存的 mTORC1 活性化機構の解析: Apc 変異マウスの腸管腫瘍では mTORC1 経路と JNK 経路が共に活性化されていることは既に確認していたが、本年度の SP600125 投与実験の結果から、mTORC1 の活性化には JNK の活性化が重要な役割を果たすことを示した。また、ヒト大腸がん細胞株において、mTORC1 の活性化には JNK の活性化が必要かつ十分であることが示唆された。さらに、JNK は Raptor のセリン 863 をリン酸化することによって mTORC1 経路を活性化すると考えられた。

(3) SND1 と選択的に結合する microRNA の探索: SND1 は、microRNA の制御複合体である RISC の構成因子であり、大腸がんの早期病変から発現亢進が認められる。また PhIP の胃内投与により SND1 と Caspase3 はともに、大腸上皮細胞において mRNA レベルで発現上昇が誘導される。本研究により SND1 が生合成に関わる miRNA が明らかになったことで、それらの発がんへの関与が今後の検討課題である。

(4) マウス腸管細胞初代培養からの in vitro 発がん再構成系の確立: 世界で初めて大腸がんを in vitro で再現する簡便な系を確立した。遺伝子改変動物を作成せずに遺伝的な相互作用の検討が可能になった。これまでの KO マウスでの解析でも抑制遺伝子単独の欠損ではなく複数の変異で初めて発がんすることが多いことから、本実験系で有望な組み合わせを絞り込むことで研究の迅速化に貢献できると考えられる。

(5) Msh2 欠損マウスにおける酸化ストレス誘発発がん機構の解析: ミスマッチ修復遺伝子の欠損で加齢と共に HNPCC が発生する。また、消化管は酸化ストレス負荷が大きい器官であることが知られており、酸化 DNA 損傷による突然

変異を抑制する MUTYH 遺伝子に欠損を持つ MAP 患者では大腸腺腫症を引き起こす。これらの知見を総合すると、ミスマッチ修復遺伝子の欠損による HNPCC の発症には、酸化ストレスが大きく寄与している可能性が高い。実際、酸化ストレスを付与された Msh2 欠損マウスの腸管で、上皮性腫瘍の発生頻度の上昇が認められた今回の結果はこれを支持する。

(6) PARP 機能欠損下でのエピゲノム制御・増殖シグナルの解析: PARP 阻害はヒトがん細胞においてもエピゲノム変化を誘導し、がん化過程に関与している可能性が考えられた。ヒトがん細胞において、PARP 阻害剤処理後に H19/Igf2 のエピゲノム制御の異常を調べることで、PARP のがん化への関与を明らかにできる可能性がある。

(7) PARP 阻害剤と放射線の併用の有効性の検討: PARP 阻害剤は MIAPaCa2 において γ 線及び炭素線照射による致死効果の増強を示した。今後他の細胞株やマウスモデルにおいても同様の効果が得られるか検討が必要である。PARP 阻害剤による炭素線の増感効果は PARP-1 だけでなく、その他のファミリー分子の阻害も影響している可能性があり、この点も検討する必要がある。

(8) アディポネクチン欠損マウス腸管に対して高脂肪食が及ぼす効果の解析: アディポネクチン欠損マウスの結果から肥満関連大腸がんにおける AMPK/mTOR 経路の重要性が確認された。

(9) メトホルミンによる大腸腫瘍抑制機構の解析: AMPK の活性化薬であるメトホルミンは発がんモデルマウスにおいて糖脂質代謝およびアポトーシスには作用せず、腫瘍増殖に対し抑制的に働いていた。このことは、副作用の少ない抗腫瘍療法に道を開く可能性がある。

(10) 大腸がんハイリスク群に対するメトホルミンがん予防効果の検討: ヒトハイリスク群に対するパイロットスタディーでは ACF

を大腸がんのサロゲートマーカーとして用いたため、短い観察期間で臨床的な効果判定が可能となった。また、動物モデルでの実験結果がヒトで再現されてことになり、動物モデルの有用性を示すことにもなった。

(11) 胃発がんマウスを用いた感染刺激および PGE2 経路の意義の解析: 悪性がんのうち、15%は感染による慢性炎症と関連している。また、細菌感染は直接または間接的に COX-2/PGE2 経路を誘導する。しかし、発がんにおける感染と炎症、COX-2/PGE2 経路の役割は不明な点が多かった。本研究により、細菌感染刺激と PGE2 受容体 EP4 シグナルの双方が、腫瘍組織における炎症反応の誘導に必要であることが明らかとなり、炎症とがんの関連について新たな一面を切り開くことができた。

(12) 胃発がんにおける腫瘍組織マクロファージの役割の解析: ケモカイン CCL2/CCL8 により腫瘍組織に遊走するマクロファージが腫瘍間質維持に作用することを明らかにし、EP4 阻害薬、抗生物質、ケモカイン阻害薬、などが単独または併用で、COX-2 阻害薬にかわる新たな胃がん予防・治療薬となる可能性が考えられた。

(13) 遺伝子発現プロファイルを用いた炎症による発がん促進効果の解析: 炎症性微小環境では EGFR 活性化が明らかとなり、EGFR 阻害薬によるがんの予防・治療が有用である可能性が示唆された。

(14) ラット大腸発がん感受性遺伝子候補 Caspase3 の腫瘍抑制効果の検討: Caspase3 の多型が系統間で mRNA レベル、タンパクレベルの差を引き起こしているが、これが大腸化学発がん性に関与するか TG ラットと KO マウスを用いて検討したところ、ラットでは発現の増加により発がん性の低下を認めたが、遺伝子改変マウスでは発がん性が変化しなかった。この原因として、高脂肪食ではなく普通食を用いたこと、別の遺伝子変異との組み合わせで初めて差が出る可能性が考えられる。後者については、今回開発した再構成系で検証可能であり検討予

定である。また、Caspase3 レベルの個体差がヒト発がんリスクと関連するか検討を行うことも有意義と考える。

(15) Bcl11b ヘテロマウス腸管細胞に対する放射線照射の影響の検討: Bcl11bKO/+マウスは放射線誘発胸腺リンパ腫感受性を示すが、その標的が CD8SP 細胞であることが示唆された。CD8SP 細胞は 2 回 VDJ 座組換えを経験するが、この時に変異が誘発される可能性が高い。Bcl11bKO/+マウスでは照射による腸管上皮細胞の移動抑制は顕著ではなく、移動抑制は増殖抑制に起因すると考えられた。移動細胞分布が移動軸に対し広いことは、移動抑制の減弱が一様でないことを示唆する。照射後の Bcl11bKO/+マウス腸管内では、p53 陽性細胞数が減少しており、p53 タンパク質の安定化に Bcl11b が寄与している可能性がある。

(16) Apc 変異ラットに発生した大腸がんに対する 5-FU の抗腫瘍効果の検討: 5-FU は腫瘍退縮効果を有し、ヒトでの単独投与の効果は約 30% であるが、担がん KAD ラットにおいても同様に約 30% の腫瘍退縮効果が見られた。従来の抗癌剤の検定には、Apc 遺伝子変異をもつ Min マウスや担がんラットが多用されているが、Min マウスの腫瘍は小腸腺腫であり、野生型ラットを用いた担がんモデルは、腫瘍誘発開始から薬剤検定までの期間が非常に長く、腫瘍発生数のばらつきも大きいという問題点を有する。一方、KAD ラットを用いた担がんモデルでは短期間で大腸のみに悪性度の高い腺癌を一定数誘発でき、また内視鏡観察により確実に担がん動物を選抜可能である利点を有し、新規化合物の大腸癌での抗腫瘍効果の評価や投与プロトコールの開発に有用な評価系でと考えられる。

(17) 未分化なラット ES 細胞樹立に必要な培養条件の検討: 他の機関で作製され初めているラット ES 細胞は十分な安定性を保持していないため、遺伝子改変導入ラット作製は困

難とされている。そのため、十分な安定性を有する我々の ES 細胞は、今後遺伝子改変発がんモデルラット供給のための有用なツールとして広く使用されることが期待できる。

(18) トランスジェニックラットの作成: 今回作製したトランスジェニックラットは、がん幹細胞のマーカーとされる Nanog や Oct4 の発現をモニターできることから、発がんメカニズム解明に応用可能である。また、この ES 細胞から今後 KO ラットの作製も可能であり、がん関連遺伝子の KO ラットを作製することでマウスとは異なる新たな表現型の発見のみならず、ラット特有の実験系を組み合わせることで新規の発がんメカニズムの解明が期待される。

E. 結論

DDR 初期応答として細胞周期制御因子 cdc25 の分解誘発制御に関与する遺伝子を同定するシステムを構築したため、今後実際に探索を進めていく。

Apc 変異マウスの腸管においては微小腺腫が大きな腺腫に成長するためには JNK の活性化を介した mTORC1 の活性化が必要なことが明らかとなり、JNK/mTORC1 経路が大腸がんの予防・治療標的となる可能性を示唆した。

マウス初代腸管培養細胞からレンチウイルスによる複数の shRNA 導入で発がんを再構成する系を世界で初めて確立した。発がん過程での遺伝因子と環境因子の相互作用の解析に加え、カスタムメイドの腸管腫瘍を用いた様々な遺伝子型-表現型の関連の解析に応用が可能であり、がん研究推進の強力なツールになると予測される。

大腸がんで高発現の SND1 が生合成に関わる miRNA を明らかにし、SND1 による大腸発がん促進機構の一端を明らかにした。

細菌感染刺激と PGE2 受容体 EP4 下流シグナルの相互作用によりケモカイン CCL2/CCL8 の発現が誘導され、胃粘膜へマクロファージが浸潤することが胃発がん重要な炎症性微小環境

の形成に必要であることを明らかにした。また、この時 EGFR リガンドとそれを細胞膜から遊離する ADAM ファミリーが発現誘導されて、EGFR を活性化されることを明らかにした。これらを元に、COX-2 阻害薬にかわる新しい胃癌発生予防および治療薬開発戦略の構築が可能と考えられた。

マウス ES 細胞分化系で PARP-1 は特定の遺伝子群の DNA 脱メチル化を誘導し、エピゲノムの調節に関与することを見いだした。H19-Igf2 ICR における DNA 脱メチル化は活性化ヒストン修飾への移行を伴った。PARP-1 が Erk1/2 シグナル伝達経路の活性化に寄与することが示唆された。また、PARP 阻害剤は γ 線及び炭素線照射の DNA 損傷修復応答に関与することを見出した。

ミスマッチ修復系のタンパク質である MSH2 は、酸化ストレスに起因する発がんの抑制にも重要な役割を果たしていることが明らかになった。従って、ミスマッチ修復遺伝子の欠損によって引き起される HNPCC 発症には、酸化ストレスが要因として重要である可能性が示唆された。

大腸がんはリスクファクターとして遺伝的要因のほかに肥満、糖尿病など生活習慣病としての一側面を持つが、これらの改善およびメトホルミンなど抗糖尿病薬が大腸がん予防となる可能性があると考えられた。

ラット大腸化学発がんの感受性候補遺伝子 Caspase3 の発現量が、大腸化学発がんの感受性に直接影響を与えることを示した。

放射線発がん感受性遺伝子 *Bcl11b*^{-/-} マウスでは、照射後に胸腺内に存在する CD8SP 細胞が分化障害と細胞増殖能亢進を示すことから放射線誘発胸腺リンパ腫の母体細胞であることが示唆された。照射後の腸管上皮細胞は増殖抑制および移動抑制の減弱がみられた。これらの結果は、電離放射線規制で問題となる被曝による発がん影響への変異蓄積性について示唆を与える。

AOM/DSS 大腸癌誘発 KAD ラットを化学療法試験法に有用な発がんモデルとして確立した。本評価モデルを利用することで、大腸癌に対する抗癌剤の開発促進が期待される。

未分化マーカーシステムおよび低分子化合物を用いて安定的ラット ES 細胞を樹立し、世界に先駆けてトランスジェニックラットの作製に成功した。今後 KO ラット作製も期待され、発がん研究で多くの蓄積があるラットを利用して新機軸の発がん研究展開が期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Wang R, Dashwood W-M, Nian H, Löhr CV, Fischer KA, Tsuchiya N, Nakagama H, Ashktorab H, Dashwood RH. NADPH oxidase overexpression in human colon cancers and rat colon tumors induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Int. J. Cancer*, 128:2581-2590 (2010).
2. Izumiya M, Okamoto K, Tsuchiya N, Nakagama H. Functional screening using a microRNA virus library and microarrays: a new high-throughput assay to identify tumor-suppressive microRNAs. *Carcinogenesis*, 31:1354-1359 (2010).
3. Tsuchiya N, Nakagama H. MicroRNA, SND1, and alterations in translational regulation in colon carcinogenesis. *Mutation Research*, 693:94-100 (2010).
4. 中釜 斉: マイクロ RNA と癌 (MicroRNAs and Cancer), *細胞*, 42:2(226)-3(227) (2010).
5. 泉谷昌志、土屋直人、中釜 斉: 機能スクリーニング系によるがん抑制的 miRNA の単離, *生体の科学*, 61:4(315-320) (2010).
6. 筆宝義隆、中釜 斉: *メタボリックシンドローム-基礎・臨床の最新知見-*, 日本臨

- 牀, 69:438-443 (2010).
7. 泉谷昌志, 中釜 斉: 大腸癌-最新の研究動向-癌遺伝子と癌抑制遺伝子, 日本臨牀, 69:増刊号 3:72-76 (2010).
 8. Osada T., Ogino H., Hino T., Ichinose S., Nakamura K., Omori A., Noce T., and Masutani M. PolyADP-ribosylation is required for pronuclear fusion during postfertilization in mice. PLoS ONE, 5: e12526, (2010).
 9. Masutani M., Shirai H., Ogino H., Poetsch A., Sasamoto E., Maeda D., Hashimoto A., Sugimura T. Role of poly-ADP-ribosylation in the maintenance of genomic stability. In: Nishimura S., Loeb L.A., Masutani M., Nakagama H., Sekiya T., editors. Extended Abstracts for The 40th International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund: DNA Repair and Human Cancers, Princess Takamatsu Cancer Research Fund, Tokyo, pp 76-79, (2010).
 10. Shirai H., Hirai T., Sasamoto E., Inase A., Ogino H., Sasai K., Sugimura T., Masutani M. Role of Poly(ADP-ribosylation) Reaction in Response to Ionizing Radiation. Radiological Sciences, 53: 69-71, (2010).
 11. Kosaka, N., Iguchi, H., Yoshioka, Y., Takeshita, F., Matsuki, Y. and Ochiya, T. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. J. Biol. Chem., 285: 17442-17452 (2010).
 12. Satow, R., Shitashige, M., Kanai, Y., Takeshita, F., Ojima, H., Jigami, T., Honda, K., Kosuge, T., Ochiya, T., Hirohashi, S. and Yamada, T. Combined Functional Genome Survey of Therapeutic Targets for Hepatocellular Carcinoma. Clin. Cancer Res., 16: 2518-2528 (2010).
 13. Kawamata M. and Ochiya T. Generation of genetically modified rats from embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA., 107:14223-14228 (2010). (連携研究者の川又、落谷らによる発表)
 14. Ikawa, T., Hirose, S., Masuda, K., Kakugawa, K., Satoh, R., Shibano-Satoh, A., Kominami, R., Katsura, Y. and Kawamoto, H. An essential developmental checkpoint for production of the T cell lineage. Science, 329: 93-96 (2010).
 15. Go, R., Hirose, S., Morita, S., Yamamoto, T., Katsuragi, Y., Mishima, Y. and Kominami, R. Bcl11b heterozygosity promotes clonal expansion and differentiation arrest of thymocytes in γ -irradiated mice. Cancer Science, 101: 1347-1353 (2010).
 16. Yamamoto, T., Morita, S., Go, E., Obata, M., Katsuragi, Y., Fujita, Y., Maeda, Y., Yokoyama, M., Aoyagi, Y., Ichikawa, H., Mishima, Y. and Kominami, R. Clonally expanding thymocytes having lineage capability in γ -ray induced mouse atrophic thymus. Int. J. Radiation Oncology Biol, 77: 235-243 (2010).
 17. Okumura, H., Miyasaka, Y., Morita, Y., Nomura, T., Mishima, Y., Takahashi, S. and Kominami, R. Bcl11b Heterozygosity Leads to Age-Related Hearing Loss and Degeneration of Outer Hair Cells of the Mouse Cochlea. Experimental Animals, in press.
 18. Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Uchiyama T, Suzuki K, Nozaki Y, Yoneda K, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Tomatsu A, Chihara T, Shimpo K, Nakagama H,

- Nakajima A: Metformin suppresses azoxymethane-induced colorectal aberrant crypt foci by activating AMP-activated protein kinase. *Molecular Carcinogenesis*, 49(7): 662-671, (2010).
19. Nakajima A, Endo H, Yoneda K, Fujisawa T, Sugiyama M, Hosono K, Nozaki Y, Takahashi H, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Shimamura T, Kobayashi N, Kirikoshi H, Kubota K, Saito S, Wada K, Nakagama H: Molecular mechanisms linking adiponectin receptor signalling and cancer. *The Open Obesity Journal*, 2:43-49 (2010).
20. Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Uchiyama T, Suzuki K, Iida H, Sakamoto Y, Yoneda K, Koide T, Tokoro C, Abe Y, Inamori M, Nakagama H, Nakajima A: Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)*, 3(9): 1077-1083 (2010).
21. Takahashi H, Hosono K, Uchiyama T, Sugiyama M, Sakai E, Endo H, Maeda S, Schaefer KL, Nakagama H, Nakajima A: PPARgamma ligand as a promising candidate for colorectal cancer chemoprevention: A pilot study. *PPAR Res* 2010: 257835(2010).
22. Uchiyama T, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Endo H, Hosono K, Yoneda K, Yoneda M, Inamori M, Nagashima Y, Inayama Y, Wada K, Nakajima A. Leptin receptor is involved in STAT3 activation in human colorectal adenoma. *Cancer Sci.* 102: 367-372(2010).
23. 内山崇, 高橋宏和, 中島淳: メタボリックシンドロームと大腸癌. *G. I. Research*, 先端医学社, 18(3): 23-28 (2010).
24. 高橋宏和, 内山崇, 中島淳: 性差からみた消化器疾患の病態と予後 内臓脂肪およびアディポネクチンと大腸発癌の性差. *消化器内科*, 50(4): 315-319 (2010).
25. 高橋宏和, 細野邦広, 中島淳: 大腸発がんにおけるレジスチンおよびTNF- α の相関解析. *消化と吸収*, 33(2): 262-264 (2010).
26. 高橋宏和, 遠藤宏樹, 中島淳: 肥満と大腸癌. *肥満と消化器疾患*, 119-133 (2010).
27. Oshima, H., Hioki, K., Popivanova, B.K., Oguma, K., van Rooijen, N., Ishikawa, T.O., and Oshima, M. Prostaglandin E₂ signaling and bacterial infection recruit tumor-promoting macrophages to mouse gastric tumors. *Gastroenterology*, 140: 596-607 (2011).
28. Oshima, H., Popivanova, B.K., Oguma, K., Kong, D., Ishikawa, T.O., and Oshima, M. Activation of epidermal growth factor receptor signaling by the prostaglandin E₂ receptor EP4 pathway during gastric tumorigenesis. *Cancer Sci.*, 102: 713-719 (2011).
29. Oshima, H., and Oshima, M. Mouse models of gastric tumors: Wnt activation and PGE₂ induction. *Pathol. Int.*, 60: 599-607 (2010).
30. Deguchi, A., Miyoshi, H., Kojima, Y., Okawa, K., Aoki M., Taketo, M.M. LKB1 suppresses p21-activated kinase-1 (PAK1) by phosphorylation of Thr109 in the p21-binding domain. *J Biol Chem*, 285: 18282-18290 (2010).
31. Kitamura, T., Fujishita, T., Loetscher, P., Revesz, L., Hashida, H., Kizaka-Kndoh, S., Aoki, M., Taketo, M.M.

- Inactivation of chemokine (C-C motif) receptor 1 (CCR1) suppresses colon cancer liver metastasis by blocking accumulation of immature myeloid cells in a mouse model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 13063-13068 (2010).
32. Sonoshita, M., Aoki, M., Fuwa, H., Aoki, K., Hosogi, H., Sakai, Y., Hashida, H., Takabayashi, A., Sasaki, M., Robine, S., Itoh, K., Yoshioka, K., Kakizaki, F., Kitamura, T., Oshima, M., and Taketo, M.M. Suppression of colon cancer metastasis by Aes through inhibition of Notch signaling. *Cancer Cell*, 19:125-137 (2011).
 33. Aoki, K., Kakizaki, F., Sakashita, H., Manabe, T., Aoki, M., and Taketo, M.M. Suppression of colonic polyposis by homeoprotein CDX2 through its non-transcriptional function that stabilizes p27Kip1. *Cancer Res.*, 71:593-602 (2011).
 34. Kuramoto, T., Yokoe, M., Yagasaki, K., Kawaguchi, T., Kumafuji, K., and Serikawa, T. Genetic analyses of fancy rat-derived mutations. *Exp Anim.*, 59:147-55 (2010).
 35. Kuramoto, T., Kuwamura, M., Tagami, F., Mashimo, T., Nose, M., and Serikawa, T. Kyoto rhino rats derived by ENU mutagenesis undergo congenital hair loss and exhibit focal glomerulosclerosis. *Exp Anim.*, 60: 57-63 (2011).
 36. Kuramoto, T., Kuwamura, M., Tokuda, S., Izawa, T., Nakane, Y., Kitada, K., Akao, M., Guénet, J.L., and Serikawa, T. A mutation in the gene encoding mitochondrial Mg²⁺ channel MRS2 results in demyelination in the rat. *PLoS Genet.*, 7: e1001262 (2011).
 37. Tsuzuki, T., Piao, J., Isoda, T., Sakumi, K., Nakabeppu, Y., Nakatsu, Y. Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of various types of DNA repair-deficient mice (Abstract). *Health Physics* 100: 293-294 (2011).
 38. Sagata, N., Iwaki, A., Aramaki, T., Takao, K., Kura, S., Tsuzuki, T., Kawakami, R., Ito, I., Kitamura, T., Sugiyama, H., Miyakawa, T., Fukumaki, Y. Comprehensive behavioral study of GluR4 knockout mice: implication in cognitive function. *Genest, Brain Behavior*, 9: 899-909 (2010).
 39. Nakamura, T., Meshitsuka, S., Kitagawa, S., Abe, N., Yamada, J., Ishino, T., Nakano, H., Tsuzuki, T., Doi, T., Kobayashi, Y., Fujii, S., Sekiguchi, M., Yamagata, Y. Structural and dynamic features of the MutT protein in the recognition of nucleotides with the mutagenic 8-oxoguanine base. *J. Biol. Chem.*, 285: 444-452 (2010).
 40. Yamashita Y, Kasugai I, Sato, M Tanuma N, Yamashita K, Nomura M, Sonoda Y, Kumabe T, Tominaga T, Katakura R, and Shima H.: CDC25A mRNA levels significantly correlate with Ki-67 expression in human glioma samples. *J. Neuro-oncol.*, 100: 43-49 (2010).
 41. Uchida S, Watanabe N, Kudo Y, Yoshioka K, Matsunaga T, Ishizaka Y, Nakagama H, Poon RYC, and Yamashita K.: SCF^{trCP} mediates stress-activated MAP kinases-induced Cdc25B degradation. *J. Cell Sci.*, in press.
2. 学会発表

1. Nakagama H, Ochiai M, Hippo Y, Critical roles of microRNAs in the early stages of colon carcinogenesis, XII International Congress of Toxicology, Barcelona, Spain (2010年7月)
2. 筆宝義隆、落合雅子、中釜 斉 カスパーゼ3遺伝子多型はラット大腸化学発がん感受性に影響する 第25回発癌病理研究会、松島 (2010年8月)
3. 福田博政、中釜 斉 PhIP曝露に対する細胞応答の解析 第69回日本癌学会学術総会、大阪 (2010年9月)
4. 筆宝義隆、近藤靖之、落合雅子、杉村 隆、中釜 斉 カスパーゼ3遺伝子多型はラット大腸化学発がん感受性に影響する 第69回日本癌学会学術総会、大阪 (2010年9月)
5. 五十嵐麻希、筆宝義隆、落合雅子、中釜 斉 ラットにおけるメタボリック症候群と大腸発がんを関連づける分子機構の探索 第69回日本癌学会学術総会、大阪 (2010年9月)
6. 落合雅子、五十嵐麻希、筆宝義隆、中釜 斉 ヘテロサイクリックアミンにより誘導される microRNA と大腸発がん早期段階におけるその意義 第69回日本癌学会学術総会、大阪 (2010年9月)
7. Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H p53依存的細胞運命決定におけるがん抑制因子 microRNA-22 の役割 第69回日本癌学会学術総会、大阪 (2010年9月)
8. Imai K, Ochiai M, Hippo Y, Igarashi M, Wakui S, Nakagama H ヘテロサイクリックアミン暴露による microRNA の発現変動と大腸発がん早期段階における意義 第39回日本環境変異原学会、筑波 (2010年11月)
9. Nakagama H, Ochiai M, Imai K, Hippo Y, Genetic analysis identified a candidate locus on chromosome 16 for susceptibility to the induction of colon cancer in rats by a food-borne carcinogen, PhIP 第18回国際ラット遺伝システムワークショップ、京都 (2010年11月)
10. Ochiai M, Hippo Y, Imai K, Igarashi M, Nakagama H Induction of distinct microRNAs by carcinogenic heterocyclic amines and its significance in early stages of colon carcinogenesis 第18回国際ラット遺伝システムワークショップ、京都 (2010年11月)
11. Fukuda H, Nakagama H Cellular responses and transformation by exposure to a food-borne carcinogen, PhIP 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会、神戸 (2010年12月)
12. 落合雅子、今井 海、筆宝義隆、五十嵐麻希、和久井 信、中釜 斉 ヘテロサイクリックアミン暴露による microRNA の発現変動と大腸発がん早期段階における意義 平成22年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ、大津 (2011年2月)
13. Tsuchiya N, Izumiya M, Ogata H, Nakagama H miR-22, a novel tumor-suppressor gene, determines p53-dependent apoptosis through repression of p21, Keystone Symposia MicroRNAs and Non-coding RNAs and Cancer, Banff, Canada (2011年2月)
14. Hiroaki Fujimori, Tomoharu Osada, Takashi Sugimura, Mitsuko Masutani, *Parp-1* deficiency induced recovery from LOI-dependent transcriptional suppression of the *H19* gene in mouse ES cells, 第69回日本癌学会学術総会、大阪 (2010年9月)
15. Takahisa Hirai, Hidenori Shirai, Aki

- Inase, Ryuichi Okayasu, Takashi Sugimura, Keisuke Sasai, Mitsuko Masutani. Effect of poly(ADP-ribose) polymerase-1 deficiency on DNA damage response after heavy ion irradiation and g-irradiation. 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪(2010年9月)
16. Hidenori Shirai, Takashi Sugimura and Mitsuko Masutani. Delayed double strand break repair and enhanced S phase arrest induced by functional inhibition of PARG. 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪(2010年9月)
17. Mitsuko Masutani Role of PARP and PARG in DNA repair response and suppression of genomic instability 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪(2010年9月)
18. 藤森浩彰、荻野秀樹、杉村隆、益谷美都子、*Parp-1*欠損は、マウス ES 細胞において *H19* の loss of imprinting 依存的な転写抑制を回復させた 第 33 回日本分子生物学会年会、神戸(2010年12月)
19. 稲瀬安希、中釜斉、益谷美都子、吉岡研一、選択的 DNA 修復経路の阻害による効果的ながん細胞死誘導 第 33 回日本分子生物学会年会、神戸(2010年12月)
20. 竹下文隆、落谷孝広 microRNA 投与による転移性前立腺がんに対する新規治療法の開発 第 2 回日本 RNAi 研究会、広島市(2010年8月)
21. 徐丹、竹下文隆、日野由美子、福永早央里、工藤保誠、玉置彩、高田隆、嶋本顕、落谷孝広、田原栄俊 細胞老化とがん化における miR-22 の役割 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)
22. 尾崎充彦、杉本結衣、竹下文隆、小坂展慶、井藤久雄、押村光雄、落谷孝広 ヒト骨肉種細胞の肺転移抑制効果を示す miR-143 標的遺伝子の検索 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)
23. 山角祐介、小田建昭、船戸洸佑、竹下文隆、落谷孝広、秋山徹 RNA 結合蛋白質 D8 は TGF-beta による IL-11 の発現誘導に必要である 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)
24. 小坂展慶、井口晴久、吉岡祐亮、竹下文隆、落谷孝広 microRNA の分泌機構とその機能 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)
25. 青木一教、宇田川剛、近藤篤、鳴海兼太、後藤尚子、大浪俊平、竹下文隆、落谷孝広、五十嵐美德、吉田輝彦 I 型インターフェロン遺伝子導入は、骨肉種や軟部肉腫に対する自家造血幹細胞移植の抗腫瘍免疫を増強する 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)
26. 高橋陵宇、本間紀美、竹下文隆、尾野雅哉、加藤菊也、落谷孝広 薬剤耐性制御因子を標的とした新規がん幹細胞治療法の開発 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)
27. 藤原智洋、高橋陵宇、竹下文隆、尾崎敏文、川井章、落谷孝広 骨肉腫におけるがん幹細胞の同定と解析 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)
28. 川又理樹、落谷孝広 胚性幹細胞からの遺伝子組換えがんモデルラットの作製 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市(2010年9月)(連携研究者の川又、落谷らによる発表)
29. Kawamata, M., Ochiya, T. Generation of knockout/knockin rats from embryonic stem cells, The XVIIIth International Workshop on Genetic Systems in the Rat, 京都(2010年11月-12月)
30. Kosaka, N., Iguchi, H., Yoshioka, Y., Takeshita, F., Ochiya, T. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNA in living cells in vitro and

- in vivo 第33回日本分子生物学会年会、神戸市 (2010年12月)
31. Takahashi, R.U., Takeshita, F., Ono, M., Ochiya, T. RPN2 exerts a function tole in tumor initiation and progression 第33回日本分子生物学会年会、神戸市 (2010年12月)
 32. Uchino, K., Takeshita, F., Fujiwara, K., Sonoke, S., Yano, J., Ochiya, T. Identification and functional analysis of deregulated microRNA located in aberrant genomic region in bradder cancer patients and cell lines 第33回日本分子生物学会年会、神戸市 (2010年12月)
 33. Hino, H., Xu, D., Takeshita, F., Fukunaga, S., Kudo, Y., Ochiya, T., Tahara, H. Has-miR-22 acts asa a potential regulator of cellular senescence and tumorigenesis 第33回日本分子生物学会年会、神戸市 (2010年12月)
 34. Sugimoto, Y., Osaki, M., Takeshita, F., Kosaka, N., Oshimura, M., Ochiya, T. Detection of lung metastasis inhibitory miR-143 target genes in human osteosarcoma cells 第33回日本分子生物学会年会、神戸市 (2010年12月)
 35. Takeshita, F., Osaki, M., Sugimoto, Y., Kosaka, N., Yoshioka, Y., Oshimura, M., Ochiya, T. MicroRNA Therapy for Inhibition of Lung Metastasis of Osteosarcoma, Keystone Symposia-J5: MicroRNAs and Non-Coding, RNAs and Cancer バンプ、カナダ (2011年2月)
 36. Go, R., Hirose, S., Katsuragi, Y., Mishima, Y. Kominami, R. *Bcl11b* heterozygosity promotes clonal expansion and differentiation arrest of thymocytes in gamma-irradiated. 第69回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010年9月)
 37. Sakamaki, A., Katsuragi, Y., Obata, M., Ochiai, M., Nakagama, H., Gondo, Y., Mishima, Y. Kominami, R. *Bcl11b* is an intestinal tumor suppressor that controls intestinal cell homeostasis. 第69回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010年9月)
 38. Endo H, Hosono K, Uchiyama T, Takahashi T, Inamori M, Nakajima A: Leptin signaling regulates colorectal tumor growth through Stat3 signaling: tumor growth induced by dietary intake. AACR 101st annual meeting, Washington D.C. (2010年4月)
 39. Hosono K, Endo H, Nakajima A, Takahashi H: Metformin suppresses azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis via activating AMP-activated protein kinase. AACR 101st annual meeting, Washington D.C. (2010年4月)
 40. Endo H, Hosono K, Uchiyama T, Iida H, Fujita K, Takahashi H, Yoneda M, Inamori M, Kirikoshi H, Kubota K, Nakajima A: Critical role of leptin in the regulation of colorectal tumor growth through STAT3 signaling: tumor growth induced by dietary intake. DIGESTIVE DISEASE WEEK 2010, New Orleans (2010年5月)
 41. Hosono K, Endo H, Uchiyama T, Suzuki K, Iida H, Sakamoto Y, Takahashi H, Koide T, Tokoro C, Abe Y, Inamori M, Kubota K, Saito S, Ueda A, Miura T, Nakajima A: Capsule endoscopy findings in the small intestine of HIV carrier. DIGESTIVE DISEASE WEEK 2010, New Orleans (2010年5月)
 42. Takahashi H, Sakai E, Uchiyama T, Su-

- giyama M, Hosono K, Endo H, Maeda S, Nakajima A: Analysis of aberrant crypt foci as an effective predictor after colorectal polypectomy. 2010 JCA, English Workshops (cancer prevention and chemoprevention), Osaka (2010年9月).
43. Takahashi H, Sakai E, Sugiyama M, Uchiyama T, Iida H, Hosono K, Endo H, Sakamoto Y, Koide T, Tokoro C, Inamori M, Abe Y, Maeda S, Nakajima A: Analysis of human aberrant crypt foci after colorectal polypectomy. 18th United European Gastroenterology Week, Barcelona (2010年10月).
44. Takahashi H, Sakai E, Uchiyama T, Sugiyama M, Hosono K, Endo H, Nakajima A: Relationship of human aberrant crypt foci and formation of colorectal polyps. 9th annual AACR international conference frontiers in cancer prevention research, Philadelphia (2010年11月).
45. Hosono K, Takahashi H, Sakai E, Uchiyama T, Endo H, Nakajima A: Metformin treatment suppresses colorectal aberrant crypt foci in humans: Results from a short-term feasibility study. Frontiers in Cancer Prevention Research 2010, Philadelphia (2010年11月).
46. Sakai E, Endo H, Uchiyama T, Hosono K, Sugiyama M, Takahashi H, Nakajima A: The effect of resveratrol on azoxymethane (AOM)-induced colon carcinogenesis in mice with aberrant crypt foci (ACF). Frontiers in Cancer Prevention Research 2010, Philadelphia (2010年11月).
47. 内山崇, 高橋宏和, 中島淳: 大腸腫瘍におけるレプチンシグナル経路の解析 第96回日本消化器病学会総会, 新潟(2010年4月).
48. 高橋宏和, 細野邦広, 内山崇, 飯田洋, 遠藤宏樹, 野崎雄一, 坂本康成, 藤田浩司, 米田正人, 古出智子, 所知加子, 後藤歩, 稲森正彦, 阿部泰伸, 小林規俊, 桐越博之, 窪田賢輔, 斉藤聡, 上野規男, 中島淳: 大腸腫瘍進展における糖尿病関連因子の相関解析 第96回日本消化器病学会総会, 新潟(2010年4月).
49. 細野邦広, 高橋宏和, 中島淳: 大腸癌における生活習慣関連因子の実態と化学予防による対策の可能性 第96回日本消化器病学会総会, 新潟(2010年4月).
50. 遠藤宏樹, 高橋宏和, 中島淳: 食事摂取により増大する大腸腫瘍: レプチンシグナルの関与 第96回日本消化器病学会総会, 新潟(2010年4月).
51. 中島淳, 高橋宏和: 肥満と大腸がん. なぜ, 今, 消化器病研究に肥満が重要か? トピックスセミナー(第28回日本医学会総会プレシンポジウム), 第96回日本消化器病学会総会, 新潟(2010年4月).
52. 高橋宏和, 細野邦広, 中島淳: 大腸腺腫切除後の再発予測因子としての aberrant crypt foci の検討. 第49回日本消化器がん検診学会総会, 沖縄(2010年6月).
53. 杉山美智子, 酒井英嗣, 内山崇, 篠原義康, 細野邦広, 遠藤宏樹, 高橋宏和, 中島淳: IL-6の過剰発現による化学発癌モデルマウスにおける大腸ポリープの検討 第69回日本癌学会学術総会, 大阪(2010年9月).
54. 遠藤宏樹, 内山崇, 酒井英嗣, 杉山美智子, 細野邦広, 高橋宏和, 前田慎, 中島淳: レプチンによる Stat3 経路を介した大腸腫瘍増大の制御. 第69回日本癌学会学術総会, 大阪(2010年9月).
55. 高橋宏和, 酒井英嗣, 内山崇, 杉山美智

- 子, 細野邦広, 遠藤宏樹, 前田慎, 中島淳: 大腸線種切除後の線種再発予測因子としてのヒト ACF の検討. 第 69 回日本癌学会学術総会 English workshops, 大阪 (2010 年 9 月) .
56. 細野邦広, 遠藤宏樹, 杉山美智子, 高橋宏和, 中島淳: 大腸線種における TNF- α , TNF-R1, TNF-R2 の発現解析 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪 (2010 年 9 月) .
57. 高橋宏和, 内山崇, 中島淳: 大腸発癌におけるレジスチンおよび TNF- α の相関解析. 第 18 回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2010) (消化吸収学会・消化器病学会・肝臓学会合同), 横浜 (2010 年 10 月) .
58. 細野邦広, 高橋宏和, 中島淳: 大腸発癌過程における TNF- α 関連因子の解析 第 18 回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2010) (消化器病学会・消化器内視鏡学会・消化器外科学会合同), 横浜 (2010 年 10 月) .
59. 内山崇, 高橋宏和, 遠藤宏樹, 細野邦広, 飯田洋, 坂本康成, 藤田浩司, 古出智子, 米田正人, 所知加子, 阿部泰伸, 稲森正彦, 桐越博之, 小林規俊, 鳶村健, 窪田賢輔, 斉藤聡, 中島淳: 大腸癌治療・予防の新しい分子標的としてのレプチンシグナル経路の解析 第 18 回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2010), ポスター, 横浜 (2010 年 10 月) .
60. Oshima, H., Oguma, K., Hioki, K., and Oshima, M. Recruitment of tumor-associated macrophages by cooperation of PGE₂ pathway and infectious stimulation. 第 101 回アメリカ癌学会学術総会, 米国ワシントン DC (2010 年 4 月)
61. 大島正伸 胃癌モデルマウスにおける initiation-promotion 解析 第 19 回日本がん転移学会学術集会, 金沢市 (2010 年 6 月)
62. 大島正伸 Wnt 活性化と炎症による胃癌発生の分子機序 第 29 回分子病理学研究会, つくば市 (2010 年 7 月)
63. 大島正伸 胃癌発生を促進する炎症反応の分子機序 第 7 回日本病理学会カンファレンス, 岡山市 (2010 年 8 月)
64. 大島正伸 胃癌がんにおける炎症反応とプロスタグランジン E₂ の役割 第 25 回発癌病理研究会, 松島町 (2010 年 8 月)
65. Oshima, M. Gastric tumorigenesis in mice through Wnt activation and PGE₂-induced inflammatory responses. 第 14 回国際免疫学会サテライトシンポジウム, 金沢市 (2010 年 8 月)
66. Oshima, H., and Oshima, M. Gastric tumorigenesis through bacterial infection and COX-2/PGE₂ signaling pathway. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪市 (2010 年 9 月)
67. Oshima, M. Promotion of gastric tumorigenesis by inflammatory prostaglandin E₂. 第 33 回日本分子生物学会年会 / 第 83 回日本生化学会大会合同大会 [BMB2010], 神戸市 (2010 年 12 月)
68. Oshima, H., and Oshima, M. Inflammatory microenvironment by cooperation of PGE₂ and bacterial infection in mouse gastric tumors. 第 15 回日韓がん研究ワークショップ, 韓国仁川市 (2010 年 12 月)
69. Oshima, M. Prostaglandin E₂-associated inflammation and bacterial infection in gastric tumorigenesis. 第 1 回発がんスパイラル国際シンポジウム, 東京 (2011 年 2 月)
70. Oshima, H., Kong, D., Ishikawa, T.O., and Oshima, M. Downregulation of tumor suppressor microRNA in inflammatory microenvironment. 第 1 回発がんスパイ