

201220005A

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

放射線障害と宿主要因からみた発がんの分子基盤とその臨
床応用に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 安井 弥

平成25年(2013年)5月

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

放射線障害と宿主要因からみた発がんの分子基盤とその臨床応用に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 安井 弥

平成25年(2013年)5月

目 次

I. 総括研究報告	
放射線障害と宿主要因からみた発がんの分子基盤とその臨床応用に関する研究 - 1	
安井 弥	
II. 分担研究報告	
1. マイクロ RNA からみた放射線関連固形がんの特徴 ----- 19	19
安井 弥	
2. 放射線二次がんの研究 ----- 27	27
石川雄一	
3. 放射線障害に基づく乳がん発生の新たな分子機構の解明 ----- 31	31
宮本和明	
4. 放射線誘発乳腺腫瘍における放射線に特徴的なゲノム変異とメチル化異常 - 34	34
臺野和広	
5. 放射線発がんにおける複製後修復機構の役割 ----- 38	38
神谷研二	
6. DNA 修復遺伝子の発現異常によるがん特性の解析 ----- 44	44
宮川 清	
7. 放射線関連発がんに関与する遺伝要因の研究 ----- 48	48
林 奉権	
8. 放射線による遺伝子障害感受性の個体差に基づく発がんメカニズムの研究	
楠 洋一郎 ----- 52	52
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 55	55
IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 64	64

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

放射線障害と宿主要因からみた発がんの分子基盤とその臨床応用 に関する研究

研究代表者 安井 弥 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 教授

研究要旨 放射線発がんの分子基盤を解明し、その成果をリスク評価や治療開発等の臨床応用に展開することを目的として研究を行なった。「放射線関連がんにおけるエピジェネティクス」の解析では、5mGy以上の被曝群の胃がんで有意にmiR-145High症例が多く、被曝線量の増加と相関していた。多変量解析によって、miR-145Highは被曝関連胃がんの独立したマーカーであることが示された。乳がんにおけるゲノム網羅的解析を行い、メチル化異常が認められる遺伝子*GLI3*を同定した。被曝者乳がんにおいて、miR-155、miR-1290、miR-1224-5pが5倍以上に高発現していることを見いだした。放射線二次がん解析のため、がん研究会有明病院におけるデータベースから346症例の重複がんを抽出した。子宮頸がん放射線治療後の大腸がんと一般の大腸がんのパイロット検討から、放射線誘発がん特有のmiRNA発現パターンのあることが示唆された。「放射線障害による発がんモデルにおける検証」においては、放射線誘発乳がんラットモデルの検討で、被曝時年齢の異なる乳がんの特徴的なDNAメチル化異常を同定し、放射線誘発乳がんを高頻度に欠失するゲノム領域を見いだした。思春期後の放射線曝露により誘発された乳がんでは、*Id3*遺伝子の高メチル化と発現抑制が特徴的であった。複製後修復機構と放射線発がんについては、RAD18が、G2期の細胞において放射線によるDNA損傷部位に集積し、損傷修復に寄与することが示された。減数分裂特異的コヒーシンであるSMC1βはがん精巢抗原であり、体細胞における発現は、Rad51を介した相同組換え修復によるDNA二本鎖切断修復を抑制し、放射線やシスプラチンに対する細胞の感受性を亢進させることが明らかとなった。「原爆被曝者コホートを用いた宿主要因と発がん」の研究では、血漿中ROSは体内に蓄積された活性酸素量を、細胞内活性酸素は主に細胞の活性化状態を反映することが示された。細胞内ROSレベルの個人差には*IL6R*遺伝子多型が関与している可能性が示唆された。放射線による遺伝子障害感受性の個体差に基づく発がんメカニズムの研究では、末梢血造血幹細胞BFU-E解析により、放射線被ばくによる線量依存性の造血機能低下が認められた。また、*GPA*突然変異頻度とBFU-Eに負の関連性が認められ、造血幹細胞の遺伝子損傷と機能低下の関係が示された。本研究から得られた成果を活用することにより、放射線障害に対する具体的な評価法や予防策および放射線障害に起因するがんの診断法・治療法を提示することが可能となる。

研究分担者

石川雄一

(財)がん研究会がん研究所・部長

宮本和明

東広島医療センター・医長

臺野和広

独立行政法人放射線医学総合研究所・
研究員

神谷研二

広島大学原爆放射線医科学研究所・
所長

宮川 清

東京大学大学院医学系研究科・教授
林 奉権

(財)放射線影響研究所・副部長

楠 洋一郎

(財)放射線影響研究所・部長

A. 研究目的

放射線は、原子力エネルギーや医療、産業等において広く利用されており、放射線の健康への影響とその管理は重要な課題である。放射線の医療における利用は、CTやMRIなどの疾病の診断とともにがん治療の大きな柱になっている一方で、外的要因として放射線治療後二次がんの発生への影響が懸念されている。2011年の東日本大地震・津波に伴う東京電力福島第一原子力発電所の事故においても、放射線の影響が懸念されており、作業員ならびに周辺住民の健康管理は、きわめて重要な課題である。被爆国として放射線障害に関する研究を蓄積し世界をリードするわが国には、放射線に関する安全・安心に資する学術情報を地域のみならず国際的に発信することが求められている。本研究は、放射線発がんの分子基盤を解明し、その成果をリスク評価や治療開発等の臨床応用に展開することを目的とし、以下の3つの観点から研究を実施する。

「放射線関連がんにおけるエピジェネティクス」では、microRNAおよびDNAメチル化の面から、高線量放射線被ばくである放射線治療後に発生した放射線二次がんと低線量被ばく影響下の発がんである原爆被爆者に発生したがんを対象とし、通常のがんとの違いを遺伝子制御の面から検討する。放射線関連固形がんの特徴的異常を同定することにより、それを標的とした診断法・治療法・予防法の開発を目指すものである。

「放射線障害による発がんモデルにおける検証」としては、3つのモデル系を用い

る。放射線照射により発症するラット放射線誘発乳がんモデルでは、がんでメチル化異常を示す遺伝子領域を同定し、放射線誘発乳がんの特徴的なDNAメチル化を見いだすことで、放射線による発がん機構の理解と予防法構築に寄与するモデル系を確立する。また、点変異誘発機構の制御を担うREV1やRAD18の遺伝子改変細胞の解析により、放射線被ばくによる点変異誘発機構および発がん機構の解明を目指す。さらに、SYCP3やSMC1 β などの減数分裂特異的遺伝子を取り上げ、そのエピジェネティックな変化とDNA修復機能を解析し、個別化治療に応用することを目的とする。

「原爆被爆者コホートをを用いた宿主要因と発がん」の解析の内、炎症・免疫反応の個体差の遺伝的要因を探求する「表現型・遺伝子型ゲノム関連分析」は、本研究独自のアプローチであり、予防研究に有用な「変動する個別のリスクを表す代理指標」の開発が目的である。さらに、ゲノム不安定性、炎症生体指標と遺伝子型ゲノム関連分析により、放射線の影響と遺伝的要因の相互作用に基づく発がんリスクの評価システムの構築を目指す。

これらの研究成果を活用し、事故による放射線被曝、職業被曝や医療被曝による放射線障害に対する具体的な予防策および放射線障害に起因するがんの診断法・治療法を提示することが最終の目的である。

B. 研究方法

1) 放射線関連がんにおけるエピジェネティクス

1. マイクロ RNA からみた放射線関連固形がんの特徴 (安井)

被爆者に発生した胃がんにおけるmicroRNA発現と機能解析：放射線影響研究所のLife Span Study (LSS) 集団に発生した51例のFFPE切片を使用した。miR-145およびmiR-143の発現レベルは、定量的RT-PCRによって測定し、被曝線量、被曝時年齢、臨床病理学的事項との相関性を解析した。また、胃がん細胞株および間質線

維芽細胞を用い、強制発現系およびノックダウン系と定量的 RT-PCR などにより、機能解析を行なった。

CAST 法による未分化型胃癌におけるがん関連膜蛋白・分泌蛋白遺伝子の探索：被爆者に頻度の高い未分化型胃癌組織および細胞株 HSC-44PE と 44As3 (HSC-44PE 由来高腹膜転移株) を材料に CAST 解析を行ない、抽出された遺伝子の内、TM9SF3 と ZDHHC14 に着目した。これらについて、定量的 RT-PCR, western blot, 免疫染色で発現を検証し、種々の機能解析を行なった。

2. 放射線二次がんの研究 (石川)

放射線治療後に発生したがんとして、院内がん登録データベースを基に、2つ以上のがんが登録されている 3,576 例のカルテ調査を実施した。放射線治療後5年以上経過後に重複がんを発症した症例を抽出し、放射線治療との関連性について検討を行った。子宮がん放射線治療後の大腸がん3例、一般大腸がん5例、正常粘膜3例から miRNA を抽出して、約1,100 プローブを搭載する Agilent 社の miRNA マイクロアレイを使用し、クラスター解析を施行した。

3. 放射線障害に基づく乳がん発生の新たな分子機構の解明 (エピジェネティックな機構) (宮本)

MS-RDA (Methylation-sensitive representational difference analysis) 法により乳がん細胞でメチル化異常を示す遺伝子を探索した。原爆被爆者と対照者に発生した乳がんが発現が異なる miRNA を網羅的に解析し、放射線障害に基づく乳腺発がんに関連する miRNA 異常候補の同定を試みた。さらに、放射性発がんスクに関連する遺伝性乳がん遺伝子 *BRCA1* のエピジェネティックな異常の術後予後マーカーとしての意義を非小細胞肺癌症例において検討した。

2) 放射線障害による発がんモデルにおける検証

1. 放射線誘発乳腺腫瘍における放射線に特徴的なゲノム変異とメチル化異常 (臺野)

3 および 7 週齢の Sprague-Dawley 雌ラットに、放射線 (ガンマ線, 2Gy) を全身照射して発症した乳腺腫瘍と、自然発症した乳腺がんおよび正常乳腺組織より抽出したゲノム DNA からメチル化 DNA を濃縮し、ラットカスタム CpG アイランドマイクロアレイ (約 8,000 遺伝子に対応) にて、ゲノム DNA のメチル化パターンを解析した。

乳がん高発系 Sprague-Dawley および低発系 Copenhagen ラットとの雑種第一代に放射線 (ガンマ線, 4Gy) を全身照射して発症した放射線誘発乳腺腫瘍と正常乳腺組織より抽出したゲノム DNA について、ラットゲノム CGH アレイ (Agilent 社) によりゲノムコピー数の変化を解析した。また、ゲノム DNA のメチル化パターンも解析した。

2. 放射線発がんにおける複製後修復機構の役割 (神谷)

ヒト繊維芽肉腫細胞株 HT1080 に、RAD18 に対する siRNA を導入し、放射線照射後の細胞応答、細胞周期の変化について検討した。細胞応答については、western blot にて RAD18, phospho-ATM, phospho-H2AX, phospho-histone H3 の発現を検討した。細胞周期の変化は、BD FACS Canto II Flow Cytometer により解析した。mitotic index (分裂指数) の計測は、放射線照射後にヘマトキシリンによる核染色を行い、細胞集団における染色体像を示す M 期の割合として算出した。Mitotic index, 核内フォーカス数の解析には、student t-test を用いて対照群との有意差を検定した。

3. DNA 修復遺伝子の発現異常によるがん特性の解析 (宮川)

ヒト各種培養細胞株における SMC1 β の発現は RT-PCR で検討した。機能解析には、SMC1 β 強制発現系および siRNA ノックダウン系を用いた。DNA 損傷作用への感受性に対する SMC1 β の影響は、放射線照射およびシスプラチン処理後の細胞のコロニー形成能で解析した。相同組換え修復機能は、Rad51 の核内フォーカス形成で評価し、細胞周期の分布については FACS によって解析した。コヒーシン機能の評価は、姉妹染色分

体の形状を観察することで行った。さらに、SMC1 β とSMC3、Rad21との結合、SMC1 α とSMC3、Rad21との結合を免疫沈降で解析した。また、放射線照射によるSMC1 α とSMC3のリン酸化をwestern blotで評価した。

3) 原爆被爆者コホートをを用いた宿主要因と発がん

1. 放射線関連発がんに関与する遺伝要因の研究 (林)

放射線影響研究所の成人健康調査対象者から収集した血液試料(血漿と血液細胞)を用いて血漿中ROSと細胞内ROSを測定した。血漿中ROS測定は、N, N-diethyl-*para*-phenylene-diamine溶液と5 ml過酸化水素水標準液または血漿を加え、経時的に505nmの吸光度を測定した。細胞内ROSレベルの測定は、フローサイトメーターを用いて測定した。特に、CD4、CD8T細胞のnaïve, central memory, effector memoryの細胞内活性酸素はCD3, CD4, CD8, CD45RAおよびCD62Lに対する抗体の組み合わせにより測定した。ROS関連遺伝子多型については、639名の健常者のDNAを用いて44種類の免疫・炎症関連遺伝子のSNPを測定し、血漿中および細胞内ROSレベルとの関連について調べた。

2. 放射線による遺伝子障害感受性の個体差に基づく発がんメカニズムの研究 (楠)

赤血球グリコフォリン A (GPA) 突然変異体頻度のデータは1988-1996年の約8年間で放射線影響研究所(放影研) 成人健康調査対象者約1, 902名について測定したものをを用いた。赤芽球バースト形成能 (BFU-E) は、末梢血単核細胞を エリスロポイエチン, Kit リガンド, GM-CSF, および Mo 細胞培養上清 (IL-3 などが含まれる) 存在下, メチルセルロース中で14日間培養し, 形成された赤芽球コロニー数を計測した。成人健康調査対象者941名について, BFU-E 測定ならびにフローサイトメトリーによるCD34 陽性細胞数計測を行い, CD34 陽性細胞100個あたりの BFU-E の割合 (%) を

算出した。統計解析は, SPSS により多重回帰解析にて行った。

(倫理面への配慮)

倫理面への配慮については, ヒト由来試料を用いた遺伝子解析では, 「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号:平成16年全部改定)に従って行なった。遺伝子組換え生物等使用実験を含む研究は, 「遺伝子組換え生物等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(平成15年法律第97号), 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律施行規則」(平成15年財務省・厚生労働省・農林水産省・経済産業省・環境省令第1号)等に基づいて行なった。さらに, 各研究機関の倫理委員会の承認の下に実施した。上記に加えて, 放射線影響研究所における被爆者に関する研究では, 同研究所の「人権擁護委員会」他, 当該委員会の承認の下に実施した。

C. 研究結果

1) 放射線関連がんにおけるエピジェネティックス

1. マイクロ RNA からみた放射線関連固形がんの特徴 (安井)

胃がん組織におけるmiR-143とmiR-145の発現レベルには明らかな相関が認められた($P<0.0001$, $r=0.833655$)。miR-145の発現レベルをmiR-145High (H) とmiR-145Low (L) に分けLSS症例51例について解析した。miR-145の発現レベルは, 年齢, 性, 進行度, 組織学的分化度と相関はなかったが, 5mGy以上の被曝群で有意にmiR-145H症例が多かった($P=0.0150$)。また, 被曝線量増加に伴い, miR-145Hの割合が有意に増加した($P=0.0179$)さらに, 5mGy以上被曝と臨床病理事項との多変量解析によって, miR-145Hは被曝関連胃がんの独立したマーカーであることが示された($P=0.0239$)。CAST法で同定したTM9SF3とZDHHC14の発現・機能解析を行なった。進行期のび漫

性低分化腺がんにおいて、TM9SF3陽性例は陰性例に比較して有意に予後不良であり、細胞株において浸潤能を制御することが明らかとなった。ZDHHC14の発現は、ステージの進行および低分化な組織型との相関を示した。細胞株を用いた機能解析では、ZDHHC14が、Integrin $\alpha 5 / \beta 1$, MT4-MMP (MMP17) の発現制御を介して、細胞の接着能、浸潤能、運動能を制御することが示された。

2. 放射線二次がんの研究 (石川)

がん研究会有明病院におけるがん登録データベースを基に、3, 576症例から、照射記録がないもの、詳細の不明なもの、照射後5年未満で第二がんが発生している症例を除外して、343例を抽出した。放射線二次がんの可能性が高い20例の性質を調べた。放射線二次がんの性質を分子生物学的に解析する手段として、miRNA発現パターンに着目し、子宮がん放射線治療後の大腸がんを一般大腸がん、正常粘膜と比較した。miRNAの発現量による階層クラスター解析では、放射線二次がん症例と正常粘膜は、別のクラスターを形成した。また、大腸がん間の検索でも、放射線二次がんは、独立したクラスターを形成した。放射線二次がんの特徴的なmiRNA発現パターンのあることが示唆された。

3. 放射線障害に基づく乳がん発生の新たな分子機構の解明 (エピジェネティックな機構) (宮本)

MS-RDA法により *GLI3* (*GLI family zinc finger 3*) を新規に同定した。*GLI3* のメチル化異常は乳がん細胞株8株すべてに認められた。さらに、乳がん症例でも21症例中16例 (76%) にメチル化異常が検出された。被爆者に発生した乳がんにおいて5倍以上に発現が亢進している miRNA として、miR-155, miR-1290, miR-1224-5p の3種類を同定した。*BRCAl* のエピジェネティックな異常は I 期肺がん70例中13例 (18.6%) に認められ、術後再発と有意な関連性が認められた。

2) 放射線障害による発がんモデルに

おける検証

1. 放射線誘発乳腺腫瘍における放射線に特徴的なゲノム変異とメチル化異常 (臺野)

がんにおいてメチル化異常が検出された遺伝子領域のうち、自然発症した乳がん、思春期前 (3週齢)、思春期後 (7週齢) の放射線被ばくにより誘発された乳がんの特徴的に高メチル化を示す遺伝子領域を、それぞれ82ヶ所、28ヶ所、278ヶ所抽出した。遺伝子発現プロファイル解析データを用い、がんにおけるDNAメチル化異常に伴い発現が変動する標的遺伝子候補を同定した。特に、思春期後の被ばくにより誘発された乳がんでは、細胞の分化調節に関わる *Id3* (Inhibitor of DNA binding 3) 遺伝子の高メチル化とその発現抑制が特徴的であることが分かった。また、乳がん高発系および低発系ラットとの雑種第一代に誘発された乳がんでは、1q52, 2q12-15, 3q31-36領域と5番染色体全域において高頻度にゲノムの欠失が見られた。また、放射線誘発乳がんではメチル化レベルに異常がみられる遺伝子領域を合計244ヶ所見出した。

2. 放射線発がんにおける複製後修復機構の役割 (神谷)

RAD18は放射線照射後、核内フォーカスを形成し、gH2AXや53BP1と共局在した。siRNA法によるRAD18の発現抑制系を用いて、放射線照射後の細胞応答を解析した結果、RAD18発現抑制細胞では、放射線照射後の53BP1の核内フォーカス数が低下する知見を得た。また、RAD18発現抑制細胞では、放射線照射後のATMのリン酸化や、H2AXのリン酸化といった損傷応答因子の誘導が抑制される傾向が認められた。細胞周期およびmitotic index (分裂指数) を解析したところ、RAD18は放射線照射後のG2期からM期への移行停止に寄与することが明らかとなった。これらの結果から、RAD18は、G2期の細胞において、放射線によるDNA損傷部位に集積し、損傷修復に寄与することが示唆された。

3. DNA修復遺伝子の発現異常による

がん特性の解析（宮川）

SMC1 β の発現は、肺がん細胞株H358、大腸がん細胞株HCT116など、解析したがん細胞株の半数以上で認められた。SMC1 β 外来発現細胞では、放射線、シスプラチンに対する感受性が亢進し、SMC1 β ノックダウンでは抵抗性となった。放射線照射後のRad51の核内フォーカス形成は、SMC1 β を発現することによって低下した。細胞周期の分布には、SMC1 β 発現の影響はなかった。分裂中期における姉妹染色分体の解離は、SMC1 β の発現によって増加、ノックダウンによって低下した。SMC1 β 発現細胞におけるコヒーシン複合体形成の状況を解析したところ、SMC1 β はSMC3とRad21と結合していることが認められた。また、SMC1 α とSMC3、Rad21の複合体形成に対してSMC1 β 発現の影響は認められなかった。放射線照射後のSMC1 α とSMC3のリン酸化において、SMC1 β 発現の影響は認められなかった。

3) 原爆被爆者コホートをを用いた宿主要因と発がん

1. 放射線関連発がんに関与する遺伝要因の研究（林）

原爆被爆者の約1,500名の血漿中ROSレベルを調べた結果、血漿中ROSレベルは女性に比べ男性で高く、放射線量に伴い増加していた。また、血漿中ROSレベルは炎症指標であるCRPと正の相関を示した。細胞内ROS (H_2O_2 および $\text{O}_2^{\cdot-}$)レベルを測定したところ、リンパ球と顆粒球で女性に比べ男性で高く、特に、CD3とCD8T細胞で明らかであった。また、リンパ球と単球中ROSレベルではCRPと負の相関を示した。細胞内ROSレベルと様々な免疫・炎症関連遺伝子多型について調べた結果では、細胞内ROS ($\text{O}_2^{\cdot-}$)レベルが*IL6R*遺伝子型によって有意に異なっていた。即ち、*IL6R*遺伝子の-208番のプロモーター領域にある遺伝子多型で野生型 (A/A) に比べ、ヘテロ接合体A/G、変異型ホモ接合体G/Gでは細胞内活性酸素量が有意に低かった。

2. 放射線による遺伝子障害感受性の個体差に基づく発がんメカニズムの研究（楠）

原爆被爆者の末梢血造血幹細胞のBFU-Eは、男性で有意に高く ($P < 0.001$)、年齢で有意に低下していた ($P < 0.001$)。また、放射線量の増加に伴うBFU-Eの低下が認められ ($P < 0.017$)、原爆放射線により造血幹細胞の赤血球造血機能が線量依存性に障害されていることが示唆された。BFU-E測定を行った941名の被爆者のうち、335名にはGPA突然変異解析のデータを取得することができた。GPA突然変異頻度と末梢血造血幹細胞のBFU-Eには有意な負の関連性 ($P = 0.020$) が認められ、造血幹細胞における放射線誘発突然変異性と造血能の関係が示唆された。

D. 考察

放射線関連がんにおけるエピジェネティクスに関する研究では、主として原爆被爆者と対照群に発生した胃がん組織を用い、miRNAの発現解析を行ない、放射線治療後二次がんでは症例抽出作業に加え、miRNA発現パターンに関するパイロットスタディーを行なった。

本年度の解析により、miR-143に加えてmiR-145が独立した放射線関連胃がんのマーカであることを明らかにした。miR-143とmiR-145の遺伝子は染色体5q33に近接して存在するが、標的遺伝子はそれぞれ異なっている。miR-143/miR-145 clusterには、2カ所にpromoterが存在しており、活性化には共通性と独自性がある。細胞株の検討においては、miR-143とmiR-145はともに胃がん細胞では殆ど認められず、間質線維芽細胞に発現しているが、miR-143はcollagen type IIIの発現を、miR-145は α -SMAの発現をそれぞれ独自に制御していた。我々は、miR-143-High症例が有意に予後不良であることを通常の胃がん集団で確認している。したがって、miR-143とmiR-145は、独立した放射線関連胃がんのマーカであるのみならず、予後因子として重要である可能性

が考えられる。また、被爆者に多いとされている未分化型胃がんのCAST法で同定したTM9SF3に関しては、浸潤能を制御していることが明らかとなり、TM9SF3の発現と患者の予後との間に有意な関連が確認された。一方、ZDHC14に関する胃がん細胞株を用いた機能解析においては、細胞接着、細胞浸潤、細胞運動を制御することが示された。胃がん、特にび慢性低分化腺がんの治療標的になる可能性がある。放射線発がんとの関連について検討する必要があり、現在、被爆者に発生した胃がんでの発現を解析中である。

放射線治療後に発生した重複がんでは、食道がん、胃がんが多くみられた。発がん因子として放射線治療以外に喫煙や環境、生活習慣などの因子を十分に考慮する必要がある。miRNA解析では、基礎実験として実施した新鮮凍結組織とFFPE組織との比較において、発現しているmiRNAがほぼ相関したことから、FFPE材料を用いても、かなり信頼性の高い結果を得ることができると見なされた。明らかな放射線二次がん3例を用いた階層クラスター解析では、放射線二次がんは独立したクラスターを形成し、放射線誘発がんの特徴的なmiRNA発現パターンのあることが示唆された。放射線二次がんを特徴づけるmiRNAが抽出されれば、個々のがんを見た場合でも、そのmiRNA発現を解析することによりがんの原因を推定できることになり、臨床病理学的意義も大きい。

乳がんのエピジェネティックな異常として*GLI3*を新規に同定した。*GLI3*はHedgehogシグナル経路に関与し幹細胞の維持に関連することが報告されている転写因子である。*GLI3*の乳腺発がんにおける役割は不明であるが、メチル化異常が乳がんを高頻度に認められることから診断マーカーとして応用が期待できる。今回、被爆者乳がんにおいて、miR-155、miR-1290、miR-1224-5pが5倍以上に高発現していることを見いだしたが、これらの機能については不明な点が多く、機能解析が必要である。*BRCA1*はDNA

の2本鎖切断の修復に関与し遺伝性乳がんの原因として知られているが、放射性発がんへの関連も考えられている。今回、*BRCA1*のメチル化異常は、病期1期非小細胞肺がん完全切除症例において再発予測因子となることを明らかにした。*BRCA1*は抗がん剤の感受性・耐性獲得にも関連していることから、*BRCA1*のメチル化異常が個別化治療選択に有用なマーカーである可能性がある。

放射線障害による発がんモデルを用いた解析では、まず、放射線誘発ラット乳がんモデルにおいて、思春期後の被ばくにより誘発された乳がんでは、Id3遺伝子の高メチル化とその発現抑制が特徴的であることが分かった。Id遺伝子ファミリーは、乳腺の発生に機能することが知られていることから、思春期後の放射線誘発乳がんには、乳腺の発生異常が関係していると考えられる。CGH解析により、1q52、2q12-15、3q31-36領域と5番染色体全域において高頻度にゲノムの欠失が見られた。これら欠失領域はヒト乳がんにおいて見られるゲノム欠失領域と共通しており、PTENをはじめとするがん抑制遺伝子が多数存在する。しかし、化学発がん感受性に関わる領域とは異なっている。放射線発がん感受性と化学発がん感受性に関わる遺伝子は異なる可能性が示唆された。今後は、原爆被爆者の検体等を用いた研究へと発展させることにより、放射線誘発がんの指標を見いだし、そのより正確なリスク推定へと展開していきたい。

複製後修復機構は、様々なゲノム損傷に対応しゲノムを防護しその恒常性を維持する機構であるが、点突然変異誘発にも関与することが知られている。これまでの研究から、RAD6-RAD18複合体が複製後修復機構を制御していると考えられている。本年度の研究において、RAD18は、G2期の細胞において、放射線によるDNA損傷部位に集積し、損傷修復に寄与することが示唆された。これまでの報告から、RAD18は放射線照射後、G1期では非相同末端結合、S期では、相同組み換えに関与することが報告されているが、G2/Mチェックポイントへの寄与は報告さ

れていない。放射線照射後の細胞応答におけるRAD18の新規機構を解明することにより、放射線被ばく後のゲノム修復や突然変異誘発に果たす役割を明らかにすることができる。このような放射線発がん機構の新しいメカニズムの解明は、放射線の発がんリスク評価や新たな放射線治療法の開発につながるものである。

DNA修復遺伝子の発現異常によるがん特性の解明に関しては、減数分裂特異的コヒーシンであるSMC1 β に注目して検討し、ヒト各種類のがん細胞株での発現を確認した。また、SMC1 β の発現によるRad51のフォーカス形成の抑制は、相同組換え修復が抑制されたことを意味する。その結果、SMC1 β 発現によって放射線とシスプラチンに対する感受性が亢進したものと考えられる。SMC1 β ががん細胞を含む体細胞に発現すると、コヒーシンの機能が通常のレベルでは維持できずに、姉妹染色分体が解離する傾向が強まり、姉妹染色分体間における相同組換え修復が抑制されることが示唆された。SMC1 β がSMC3およびRad21と複合体を形成することを見いだしたが、SMC1 β の発現により相同組換え修復に関係するコヒーシン機能が低下することについて、明確な分子機序を説明することは現時点では困難である。可能性として、SMC1 β が発現することによって、SMC1 α が形成するコヒーシン複合体のゲノム上における分布が変化することが挙げられる。ゲノム上の特定の部位にDNA二本鎖切断を導入し、その近傍におけるコヒーシンのリクルート状況を解析する必要がある。

原爆被爆者コホートを用いた宿主要因と発がんに関して、本年度は、血漿中と細胞内の活性酸素（ROS）レベルに対する放射線被曝の影響ならびにROSレベルに関係する免疫・炎症関連遺伝子多型について検討した。活性酸素種（ROS）のレベルは、化学物質、放射線によるラジカル反応や感染/炎症による免疫細胞の活性化によって増加するとされている。今回の検討では、血漿中ROSレベルが65年以上前の放射線被曝の

線量とともに有意に増加していた。この血漿中ROSがCRPと有意な正の相関を示すことから血漿中ROSが血液中の炎症状態を示す指標として有用であり、原爆被爆者の長期的炎症状態を強く支持する結果であった。細胞内ROSの測定結果では、リンパ球と顆粒球の細胞内O₂⁻レベルは年齢および被曝線量に比例して有意に増加し、血漿中のROSレベルとは負の関係を示した。血漿中ROSは体内に蓄積された活性酸素量を反映し炎症と関連する一方、細胞内活性酸素は細胞の活性化状態を示していると考えられた。この細胞内活性酸素量の個人差には、ヒトの免疫において重要な役割を果たす*IL6R*遺伝子型が関与しており、免疫・炎症関連疾患発生と関係する可能性が示唆された。

さらに、原爆被爆者の造血幹細胞の機能を末梢血 CD34 陽性細胞のBFU-Eにて評価し、放射線被ばくの影響およびGPA突然変異頻度との関係を検討した。その結果、造血幹細胞における放射線誘発突然変異性の個人差がその機能の個人差に関係している可能性が示唆された。近年、遺伝子損傷応答に関係する分子が造血幹細胞分化のコントローラーとして作用することが提唱されている。今後、発がんの追跡調査を行い、放射線障害に高感受性を有する者は放射線関連がんのリスクがより高くなるという仮説を、放射線造血機能障害を含めて検討する予定である。一方、原爆被爆者では、血液ヘモグロビンやBFU-Eなど赤血球造血機能のみならず、Tリンパ球産生も被ばく放射線量に依存した低下が観察されている。したがって、免疫系維持のための造血幹細胞機能も放射線によって障害されている可能性が考えられる。放射線による造血幹細胞の遺伝子障害とリンパ系細胞産生能との関係を検討する必要がある。

E. 結論

放射線発がんの分子基盤を解明し、その成果をリスク評価や治療開発等の臨床応用に展開することを目的とし、「放射線関連

がんにおけるエピジェネティクス」, 「放射線障害による発がんモデルにおける検証」, 「原爆被爆者コホートをを用いた宿主要因と発がん」の観点から研究を行なった。

胃がんのmicroRNA解析において, 5mGy以上の被曝群で有意にmiR-145High症例が多く, 多変量解析によって放射線被曝関連胃がんの独立したマーカーであることが示された。被爆者乳がんにおいて, miR-155, miR-1290, miR-1224-5pが5倍以上に高発現していることを見いだした。乳がんにおけるゲノム網羅的解析から高頻度にメチル化異常を示す遺伝子*GLI3*を同定した。また, 子宮頸がん放射線治療後の大腸がんと一般の大腸がんの検討から, 放射線誘発がんにて特有のmiRNA発現パターンのあることが示唆された。

放射線誘発乳がんラットモデルを用いた検討で, 被曝時年齢の異なる乳がんにて特徴的なDNAメチル化異常を同定し, 放射線誘発乳がんを高頻度に欠失するゲノム領域を見いだした。複製後修復機構と発がんについては, RAD18が, G2期の細胞において放射線によるDNA損傷部位に集積し, 損傷修復に寄与することが示された。また, 減数分裂特異的コヒーシンであるSMC1 β はがん精巢抗原であり, Rad51を介した相同組換え修復によるDNA二本鎖切断修復を抑制し, 放射線やシスプラチンに対する細胞の感受性を亢進させることが明らかとなった。

原爆被爆者コホートをを用いた検討では, 血漿中ROSは体内に蓄積された活性酸素量を反映し, 細胞内活性酸素は主に細胞の活性化状態を表すことが示された。また, 細胞内ROSレベルの個人差には*IL6R*遺伝子多型が関与している可能性が示唆された。また, 原爆被爆者の末梢血造血幹細胞 BFU-E解析により, 放射線被ばくによる線量依存性の造血機能低下が認められた。また, *GPA*突然変異頻度とBFU-E に負の関連性が認められ, 造血幹細胞の遺伝子損傷と機能低下の関係が示された。本研究から得られた成果を活用することにより, 放射線障害に対する具体的な評価法や予防策および放射

線障害に起因するがんの診断法・治療法を提示することが可能となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Takami H, Sentani K, Matsuda M, Oue N, Sakamoto N and Yasui W: expression profiling in gastric carcinoma: clinicopathologic significance and comparison with tumor-associated molecules. *Pathobiology* 79: 154-161, 2012
2. Wakamatsu Y, Sakamoto N, Oo HZ, Naito Y, Uraoka N, Anami K, Sentani K, Oue N and Yasui W. Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer. *Pathol Int* 62: 112-119, 2012
3. Hayashi D, Tamura A, Tanaka H, Yamazaki Y, Watanabe S, Suzuki K, Suzuki K, Sentani K, Yasui W, Rakugi H, Isaka Y and Tsukita S. Deficiency of claudin-18 causes paracellular H⁺ leakage, up-regulation of interleukin-1beta, and atrophic gastritis in mice. *Gastroenterology* 142: 292-304, 2012
4. Oue N, Noguchi T, Anami K, Kitano S, Sakamoto N, Sentani K, Uraoka N, Aoyagi K, Yoshida T, Sasaki H and Yasui W. Cytokeratin 7 is a predictive marker for survival and effect of adjuvant chemotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 19: 1902-1910, 2012
5. Naito Y, Oue N, Hinoi T, Sakamoto N, Sentani K, Ohdan H, Yanagihara K, Sasaki H and Yasui W: Reg IV is a direct target of intestinal transcription factor CDX2 in gastric cancer. *PLoS One* 7(11): e47545, 2012
6. Hayashi T, Sentani K, Oue N, Ohara S,

- Teishima J, Anami K, Sakamoto N, Matsubara A and Yasui W: The search for secreted protein in prostate cancer by the Escherichia coli ampicillin secretion trap: Expression of NBL1 is highly restricted in prostate and related in progression. *Pathobiology* 80: 60-69, 2012
7. Sakamoto N, Oue N, Sentani K, Anami K, Uraoka N, Oo HZ, Naito Y, Hinoi T, Ohdan H, Yanagihara K, Aoyagi K, Sasaki H and Yasui W: Liver-intestine cadherin induction by epidermal growth factor receptor is associated with intestinal differentiation of gastric cancer. *Cancer Sci* 103: 1744-1750, 2012
 8. Gersemann M, Becker S, Nuding S, Antoni L, Ott G, Fritz P, Oue N, Yasui W, Wehkamp J and Stange EF: Olfactomedin-4 is a glycoprotein secreted into mucus in active IBD (inflammatory bowel diseases). *J Crohns Colitis* 6: 425-434, 2012
 9. Sentani K, Oue N, Naito Y, Sakamoto N, Anami K, Oo HZ, Uraoka N, Aoyagi K, Sasaki H and Yasui W: Upregulation of HOXA10 in gastric cancer with the intestinal mucin phenotype: Reduction during tumor progression and favorable prognosis. *Carcinogenesis* 33: 1081-1088, 2012
 10. Tamura A, Yamazaki Y, Hayashi D, Suzuki K, Sentani K, Yasui W and Tsukita S: Claudin-based paracellular protein barrier in the stomach. *Ann NY Acad Sci* 1258: 108-114, 2012
 11. Kumamoto T, Sentani K, Oka S, Tanaka S and Yasui W: Clinicopathologic features of minute pharyngeal lesions diagnosed by narrow banding imaging endoscopy and biopsy. *World J Gastroenterol* 18: 6468-6474, 2012
 12. Shinagawa K, Kitadai Y, Tanaka M, Sumida T, Onoyama M, Ohnishi M, Ohara E, Higashi Y, Tanaka S, Yasui W and Chayama K: Stroma-directed imatinib therapy impairs the tumor-promoting effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an orthotopic transplantation model of colon cancer. *Int J Cancer* 132: 813-823, 2013
 13. Goto K, Oue N, Shinmei S, Sentani K, Sakamoto N, Naito Y, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A and Yasui W: Expression of miR-486 is a potential prognostic factor after nephrectomy in advanced renal cell carcinoma. *Mol Clin Oncol* 1: 235-240, 2013
 14. Nakayama H, Enzan H and Yasui W: Expression of podoplanin/D2-40 in pericryptal stromal cells in superficial colorectal epithelial neoplasia. *Med Mol Morphol* 46: 20-23, 2013
 15. Shinmei S, Sakamoto N, Goto K, Sentani K, Anami K, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A, Oue N and Yasui W: MicroRNA-155 is a predictive marker for survival in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Int J Urol* (in press) 2012 Oct 10. doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.03182.x. [Epub ahead of print]
 16. Mori R, Yoshida K, Tanahashi T, Yawata K, Kato J, Okumura N, Tsutani Y, Okada M, Oue N and Yasui W: Decreased FANCI caused by 5FU contributes to the increased sensitivity to oxaliplatin in gastric cancer cells. *Gastric Cancer* (in press) 2012 Sep 12. [Epub ahead of print]
 17. Sentani K, Sakamoto N, Shimamoto F, Anami K, Oue N and Yasui W: Expression of olfactomedin 4 and claudin-18 in serrated neoplasia of the colorectum: A characteristic pattern is associated with sessile serrated lesion. *Histopathology* (in press) 2013 Jan 18. doi: 10.1111/his.12099. [Epub ahead of print]
 18. Inamura K, Fujiwara M, Togashi Y, Nomura K, Mukai H, Fujii Y, Yamamoto S, Yonese J, Fukui I, Ishikawa Y. Diverse

- fusion patterns and heterogeneous clinicopathologic features of renal cell carcinoma with t(6;11) translocation. *Am J Surg Pathol.* 2012, 36(1):35-42
19. Fujiwara T, Hiramatsu M, Isagawa T, Ninomiya H, Inamura K, Ishikawa S, Ushijima M, Matsuura M, Jones HM, Shimane M, Nomura H, Ishikawa Y, Aburatani Y. ASCL1-coexpression profiling but not single gene expression profiling defines lung adenocarcinomas of neuroendocrine nature with poor prognosis. *Lung Cancer* 2012, 75(1):119-125
 20. Kabeya M, Furuta R, Kawabata K, Takahashi S, Ishikawa Y. Prevalence of human papillomavirus in mobile tongue cancer with particular reference to young patients. *Cancer Sci* 2012; 103: 161–168
 21. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, Asaka R, Hamanaka W, Ninomiya H, Uehara H, Lim Choi Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Mano H, Ishikawa Y. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med.* 2012, 18(3):378-381
 22. Tsuji K, Ishikawa Y, Imamura T. Technique for differentiating alveolar soft part sarcoma from other tumors in paraffin-embedded tissue: comparison of immunohistochemistry for TFE3 and CD147 and of reverse transcription polymerase chain reaction for ASPSCR1-TFE3 fusion transcript. *Hum Pathol.* 2012, 43(3):356-363
 23. Sugawara E, Togashi Y, Kuroda N, Sakata S, Hatano S, Asaka R, Yuasa T, Yonese J, Kitagawa M, Mano H, Ishikawa Y, Takeuchi K. Identification of anaplastic lymphoma kinase fusions in renal cancer: Large-scale immunohistochemical screening by the intercalated antibody-enhanced polymer method. *Cancer.* 118(18): 4427-4436, 2012
 24. Satoh Y, Sugai S, Uehara H, Mun M, Sakao Y, Okumura S, Nakagawa K, Ishikawa Y, Miki Y, Miyata S. Clinical Impact of Intraoperative Detection of Carcinoembryonic Antigen mRNA in Pleural Lavage Specimens from Non-small Cell Lung Cancer Patients. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Jan 17. [Epub ahead of print]
 25. Thunnissen E, Beasley MB, Borczuk AC, Brambilla E, Chirieac LR, Dacic S, Flieder D, Gazdar A, Geisinger K, Hasleton P, Ishikawa Y, Kerr KM, Lantejoul S, Matsuno Y, Minami Y, Moreira AL, Motoi N, Nicholson AG, Noguchi M, Nonaka D, Pelosi G, Petersen I, Rekhtman N, Roggli V, Travis WD, Tsao MS, Wistuba I, Xu H, Yatabe Y, Zakowski M, Witte B, Kuik DJ. Reproducibility of histopathological subtypes and invasion in pulmonary adenocarcinoma. An international interobserver study. *Mod Pathol.* 2012, 25:1574-1583
 26. Deardorff MA, Bando M, Nakato R, Watrin E, Itoh T, Minamino M, Saitoh K, Komata M, Katou Y, Clark D, Cole KE, De Baere E, Decroos C, Di Donato N, Ernst S, Francey LJ, Gyftodimou Y, Hirashima K, Hullings M, Ishikawa Y, Jaulin C, Kaur M, Kiyono T, Lombardi PM, Magnaghi-Jaulin L, Mortier GR, Nozaki N, Petersen MB, Seimiya H, Siu VM, Suzuki Y, Takagaki K, Wilde JJ, Willems PJ, Prigent C, Gillessen-Kaesbach G, Christianson DW, Kaiser FJ, Jackson LG, Hirota T, Krantz ID, Shirahige K. HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle. *Nature.* 2012, 13; 489(7415): 313-317
 27. Komai Y, Kawakami S, Numao N, Fujii Y, Saito K, Kubo Y, Koga F, Kumagai J, Yamamoto S, Yonese J, Ishikawa Y, Fukui I, Kihara K. Extended biopsy based criteria incorporating cumulative cancer length for predicting clinically insignificant prostate

- cancer. *BJU Int.* 2012 Jul 3.
28. Nakano K, Takahashi S, Yuasa T, Nishimura N, Mishima Y, Sakajiri S, Yokoyama M, Tsuyama N, Ishikawa Y, Hatake K. Feasibility and efficacy of combined cisplatin and irinotecan chemotherapy for poorly differentiated neuroendocrine carcinomas. *Jpn J Clin Oncol.* 2012; 42(8):697-703
 29. Yamamoto S, Kawakami S, Yonese J, Fujii Y, Urakami S, Masuda H, Numao N, Ishikawa Y, Kohno A, Fukui I. Long-term oncological outcome and risk stratification in men with high-risk prostate cancer treated with radical prostatectomy. *Jpn J Clin Oncol.* 2012 Jun;42(6):541-547
 30. Zhou H, Tamura T, Kusaka Y, Suganuma N, Subhannachart P, Vijitsanguan C, Noisiri W, Hering KG, Akira M, Itoh H, Arakawa H, Ishikawa Y, Kumagai S, Kurumatani N. Development of a guideline on reading CT images of malignant pleural mesothelioma and selection of the reference CT films. *Eur J Radiol.* 2012 Dec;81(12):4203-4210
 31. Nagashima T, Sakao Y, Mun M, Ishikawa Y, Nakagawa K, Masuda M, Okumura S. A Clinicopathological Study of Resected Small-Sized Squamous Cell Carcinomas of the Peripheral Lung: Prognostic Significance of Serum Carcinoembryonic Antigen Levels. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Dec 13. [Epub ahead of print]
 32. Numao N, Kawakami S, Sakura M, Yoshida S, Koga F, Saito K, Masuda H, Fujii Y, Yamamoto S, Yonese J, Ishikawa Y, Fukui I, Kihara K. Characteristics and clinical significance of prostate cancers missed by initial transrectal 12-core biopsy. *BJU Int.* 2012, 109(5):665-671
 33. Zhou H, Tamura T, Kusaka Y, Suganuma N, Subhannachart P, Vijitsanguan C, Noisiri W, Hering KG, Akira M, Itoh H, Arakawa H, Ishikawa Y, Kumagai S, Kurumatani N. Evaluation of the efficacy of the guideline on reading CT images of malignant pleural mesothelioma with reference CT films for improving the proficiency of radiologists. *Eur J Radiol.* 2013, 82(1):169-176
 34. Ishikawa Y, Matsubara O. Molecular biology and pathology of lung cancer: genotype-morphology correlation. Tan, D. ed. *Principle of molecular diagnosis and personalized cancer therapy.* Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, 2012.
 35. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson A, Geisinger K, Yatabe Y, Ishikawa Y, Wistuba I, Flieder DB, Franklin W, Gazdar A, Hasleton PS, Henderson DW, Kerr KM, Nakatani Y, Petersen I, Roggli V, Thunnissen E, Tsao M. Diagnosis of Lung Adenocarcinoma in Resected Specimens: Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Sep 12. [Epub ahead of print]
 36. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson A, Geisinger K, Yatabe Y, Ishikawa Y, Wistuba I, Flieder DB, Franklin W, Gazdar A, Hasleton PS, Henderson DW, Kerr KM, Petersen I, Roggli V, Thunnissen E, Tsao M. Diagnosis of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology: Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Sep 12. [Epub ahead of print]
 37. Ninomiya H, Kato M, Sanada M, Takeuchi K, Inamura K, Motoi N, Nagano H, Nomura K, Sakao Y, Okumura S, Mano H, Ogawa S, Ishikawa Y. Allelotypes of lung adenocarcinomas featuring ALK fusion demonstrate fewer onco- and suppressor

- gene changes. *BMC Cancer*. 2013, 13(1):8. doi:10.1186/1471-2407-13-8
38. Asada K, Ando T, Niwa T, Nanjo S, Watanabe N, Okochi-Takada E, Yoshida T, Miyamoto K, Enomoto S, Ichinose M, Tsukamoto T, Ito S, Tatematsu M, Sugiyama T and Ushijima T: FHL1 on chromosome X is a single-hit gastrointestinal tumor-suppressor gene and contributes to the formation of an epigenetic field defect. *Oncogene* 32:2142-2149, 2013
 39. Harada H, Miyamoto K, Yamashita Y, Nakano K, Miyata Y, Taniyama K, Ohdan H and Okada M: Methylation of breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) predicts recurrence in patients with curatively resected stage I non-small cell lung cancer. *Cancer* 119:792-798, 2013
 40. Harada H, Miyamoto K, Yamashita Y, Nakano K, Kimura M, Miyata Y, Taniyama K, Ohdan H and Okada M: Implication of DNA methylation profiling in oral epithelium for lung cancer screening. *ISRN Pulmonology* 5402/2012/973203, 2012
 41. Imaoka T, Nishimura M, Daino K, Kokubo T, Doi K, Iizuka D, Nishimura Y, Okutani T, Takabatake M, Kakinuma S, Shimada Y. Influence of age on the relative biological effectiveness of carbon ion radiation for induction of rat mammary carcinoma. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, (in press).
 42. Masuda Y, Suzuki M, Kawai H, Hishiki A, Hashimoto H, Masutani C, Hishida T, Suzuki F, Kamiya K: En bloc transfer of polyubiquitin chains to PCNA in vitro is mediated by two different human E2-E3 pairs. *Nucleic Acids Res.* 2012, 40(20):10394-10407
 43. Genet SC, Fujii Y, Maeda J, Kaneko M, Genet MD, Miyagawa K and Kato TA: Hyperthermia inhibits homologous recombination and sensitizes cells to ionizing radiation in a time- and temperature-dependent manner. *J Cell Physiol* (in press)
 44. Hayashi T, Ito R, Cologne J, Maki M, Morishita Y, Nagamura H, Sasaki K, Hayashi I, Imai K, Yoshida K, Kajimura J, Kyoizumi S, Kusunoki Y, Ohishi W, Fujiwara S, Akahoshi M, Nakachi K. Effects of IL10 haplotype and atomic-bomb radiation exposure on gastric cancer risk. *Radiat Res.* in press.
 45. Hayashi T, Morishita Y, Khattree R, Misumi M, Sasaki K, Hayashi I, Yoshida K, Kajimura J, Kyoizumi S, Imai K, Kusunoki Y, Nakachi K. Evaluation of systemic markers of inflammation in atomic-bomb survivors with special reference to radiation and age effects, *FASEB J.* 26:4765-73, 2012.
 46. Cologne J, Preston DL, Imai K, Misumi M, Yoshida K, Hayashi T, Nakachi K. Conventional case-cohort design and analysis for studies of interaction, *Int J Epidemiol.* 41:1174-86, 2012.
 47. Imai K, Hayashi T, Yamaoka M, Kajimura J, Yoshida K, Kusunoki Y, Nakachi K. Effects of NKG2D haplotypes on the cell-surface expression of NKG2D protein on natural killer and CD8 T cells of peripheral blood among atomic-bomb survivors. *Hum Immunol.* 73:686-91, 2012.
 48. Wang C, Nakamura S, Oshima M, Mochizuki-Kashio M, Nakajima-Takagi Y, Osawa M, Kusunoki Y, Kyoizumi S, Imai K, Nakachi K, Iwama A. Compromised hematopoiesis and increased DNA damage following non-lethal ionizing radiation of a human hematopoietic system reconstituted in immunodeficient mice. *Int J Radiat Biol.* 2013; 89(2):132-7.
 49. Taga M, Eguchi H, Shinohara T, Takahashi K, Ito R, Yasui W, Nakachi K, Kusunoki Y, Hamatani K. Improved PCR amplification

- for molecular analysis using DNA from long-term preserved formalin-fixed, paraffin-embedded lung cancer tissue specimens. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013; 6(1):76-9.
50. Hamatani K, Mukai M, Takahashi K, Hayashi Y, Nakachi K, Kusunoki Y. Rearranged anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene in adult-onset papillary thyroid cancer among atomic-bomb survivors. *Thyroid*, 2012; 22(11): 1153-1159.
- 学会発表
1. Uraoka N, Sakamoto N, Oue N, Sentani K, Anami K, Noguchi T, Yoshida K and Yasui W: Transcriptome analysis of esophageal squamous cell carcinoma by SAGE identifies a new biomarker, NRD1. The 103rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Chicago, Illinois (USA), March 31-April 4, 2012
 2. Yasui W: Molecular pathology of gastric cancer – microRNA and novel diagnostic & therapeutic targets. The 96th Annual Meeting of the German Society of Pathology, English Session, Lecture, Berlin (Germany), May 31-June3, 2012
 3. Oue N, Sakamoto N, Naito Y, Sentani K, Harris CC and Yasui W: Alteration of microRNA expression in gastrointestinal cancer. The 22nd Hiroshima Cancer Seminar and the 4th Japanese Association for RNA interference Joint International Symposium “MicroRNAs in cancer”, Hiroshima (Japan), August 30, 2012
 4. Yasui W: Novel biomarkers of gastric cancer identified by SAGE data analysis. Korea-Japan Cancer Workshop on Gastric Cancer and Liver Cancer, Busan (Korea), November 30, 2012
 5. Yasui W: Molecular targets for diagnosis and therapeutics of gastric cancer - Present and future. The 17th Japan-Korea Cancer Research Workshop, Busan (Korea), November 30-December 1, 2012
 6. 安井 弥, 仙谷和弘, 坂本直也, 大上直秀: 統括病理学の現状と展望: 消化管がんの発生と制御・形態の理解における統括病理学. 第101回日本病理学会総会, シンポジウム3, 4月26-28日, 東京, 2012
 7. 坂本直也, 内藤 寛, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井 弥: 胃癌におけるDNAメチル化によるmiR-148aの発現低下とMMP7を介した浸潤への関与. 第101回日本病理学会総会, 4月26-28日, 東京, 2012
 8. 内藤 寛, 大上直秀, 坂本直也, 浦岡直礼, 仙谷和弘, 安井 弥: スキルス胃癌におけるmicroRNA-143の発現と機能解析. 第101回日本病理学会総会, 4月26-28日, 東京, 2012
 9. 後藤景介, 神明俊輔, 坂本直也, 林哲太郎, 亭島 淳, 松原昭郎, 大上直秀, 安井 弥: 進行腎細胞癌におけるmiR-486の発現上昇と予後との相関. 第101回日本病理学会総会, 4月26-28日, 東京, 2012
 10. 阿南勝宏, 大上直秀, 坂本直也, 仙谷和弘, 浦岡直礼, Htoo Zarni Oo, 内藤 寛, 野口 剛, 横崎 宏, 安井 弥: エクソソーム構成分子TSPAN8の胃癌における発現と予後との関連および生物学的機能に関する検討. 第101回日本病理学会総会, 4月26-28日, 東京, 2012
 11. 大上直秀, 仙谷和弘, 坂本直也, Aaron J. Schetter, 安井 弥, Curtis C. Harris: 大腸癌パラフィン切片を用いたmiR-21の発現解析と薬剤感受性・予後との関連. 第101回日本病理学会総会, 4月26-28日, 東京, 2012
 12. 伊藤玲子, 濱谷清裕, 矢野志保, 篠原智子, 高橋恵子, 大上直秀, 安井 弥, 中地 敬, 楠洋一郎: 原爆被爆者の大腸癌におけるマイクロサテライト不安定性とMLH1蛋白発現の関連. 第101回日本病理学会総会, 4月26-28日, 東京, 2012
 13. 坂根潤一, 宮本和明, 谷山清己, 浦岡直礼, 阿南勝宏, 坂本直也, 仙谷和弘, 倉

- 岡和矢, 大上直秀, 安井 弥: 子宮頸部病変におけるDNAメチル化異常の検討 (第2報). 第101回日本病理学会総会, 4月26-28日, 東京, 2012
14. 安井 弥: 消化管がんの新規診断・治療開発に向けた分子病理学的アプローチ. 第21回日本がん転移学会学術集会・総会, 会長講演, 7月12-13日, 広島, 2012
 15. 北台靖彦, 品川 慶, 斧山美恵子, 大西真由, 田中信治, 安井 弥, 茶山一彰: 転移機構を標的とした治療展開: 腫瘍間質を標的とした治療展開- 消化管がんを中心に. 第21回日本がん転移学会学術集会・総会, シンポジウム2, 7月12-13日, 広島, 2012
 16. 伊藤玲子, 濱谷清裕, 矢野志保, 篠原智子, 高橋恵子, 大上直秀, 安井 弥, 中地 敬, 楠洋一郎: 原爆被爆者の大腸癌におけるマイクロサテライト不安定性 (MSI) とそれに関わる遺伝子の変異. 第21回日本がん転移学会学術集会・総会, 7月12-13日, 広島, 2012
 17. 安井 弥: 胃癌研究のマイルストーンと今後の展望 Milestone and future of gastric cancer research. 第71回日本癌学会学術総会, モーニングレクチャー, 9月19-21日, 札幌, 2012
 18. 仙谷和弘, 坂本直也, 大上直秀, 嶋本文雄, 安井 弥: 大腸鋸歯状病変におけるolfactomedin 4とclaudin-18の発現パターンの検討. 第71回日本癌学会学術総会, 9月19-21日, 札幌, 2012
 19. Htoo Zarni Oo, 坂本直也, 浦岡直礼, 阿南勝宏, 仙谷和弘, 大上直秀, 柳原五吉, 安井 弥: Identification of gene expression profile in scirrhous type gastric cancer cell lines by CAST method. 第71回日本癌学会学術総会, 9月19-21日, 札幌, 2012
 20. 神明俊輔, 坂本直也, 後藤景介, 仙谷和弘, 阿南勝宏, 林哲太郎, 亭島 淳, 松原昭郎, 大上直秀, 安井 弥: microRNA-155発現の腎細胞癌における予後予測因子としての意義. 第71回日本癌学会学術総会, 9月19-21日, 札幌, 2012
 21. 林哲太郎, 仙谷和弘, 阿南勝宏, 内藤 寛, 神明俊輔, 後藤景介, 坂本直也, 大上直秀, 松原昭郎, 安井 弥: CAST法で同定したTMEM50Bの発現は前立腺癌の進展と相互する. 第71回日本癌学会学術総会, 9月19-21日, 札幌, 2012
 22. 内藤 寛, 坂本直也, 浦岡直礼, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井 弥: スキルス胃癌におけるmicroRNA-143の機能の解析. 第35回日本分子生物学会年会, 12月11-14日, 福岡, 2012
 23. 大上直秀, 野口 剛, 仙谷和弘, 阿南勝宏, 坂本直也, 浦岡直礼, 安井 弥: 食道扁平上皮癌におけるサイトケラチン7の免疫染色は術後補助化学療法の効果予測マーカー, 予後予測マーカーとして有用である. 第23回日本消化器癌発生学会, ワークショップ4, 11月15-16日, 徳島, 2012
 24. 浦岡直礼, 坂本直也, 大上直秀, 仙谷和弘, 阿南勝宏, 野口 剛, 吉田和弘, 安井 弥: SAGE法で同定したNRD1の食道扁平上皮癌における発現と機能解析. 第23回日本消化器癌発生学会, ワークショップ4, 11月15-16日, 徳島, 2012
 25. 安井 弥, Htoo Zarni Oo, 坂本直也, 大上直秀: スキルス胃癌の病態と臨床応用- bench to bedside- : スキルス胃癌の分子病理と治療標的. 第85回日本胃癌学会総会, シンポジウム2, 2月27日-3月1日, 大阪, 2013
 26. 大島 貴, 坂本直也, 安井 弥, 吉川貴己, 利野 靖, 國崎主税, 増田宗孝, 今田敏夫: 胃癌診療における新規バイオマーカー: Stage II/III胃癌のbiomarker探索と個別化治療への展開. 第85回日本胃癌学会総会, シンポジウム1, 2月27日-3月1日, 大阪, 2013
 27. 安井 弥: これからの日本の胃癌はどうか: 病理学的見地から. 第85回日本胃癌学会総会, 特別企画, 2月27日-3月1日, 大阪, 2013
 28. 安井 弥: 胃癌の分子・遺伝子を標的と

- した診断. 第85回日本胃癌学会総会, 教育セミナー, 2月27日-3月1日, 大阪, 2013
29. Htoo Zarni Oo, 坂本直也, 大上直秀, 柳原五吉, 安井 弥: Analysis of gene expression profile in scirrhous type gastric cancer cell lines by CAST method. 第85回日本胃癌学会総会, International Session, 2月27日-3月1日, 大阪, 2013
 30. 大上直秀, 阿南勝宏, 仙谷和弘, 坂本直也, 浦岡直礼, 安井 弥: The expression and molecular analysis of TSPAN8, which is one of the components of exosome, in gastric cancer. 第85回日本胃癌学会総会, International Session, 2月27日-3月1日, 大阪, 2013
 31. 宮本和明: エピジェネティクスに基づく乳癌早期診断マーカーの開発. 第20回日本乳癌学会学術総会, 6月30日, 熊本, 2012
 32. 宮本和明: Aberrant methylation of CpG islands in human breast cancers. 第71回日本癌学会学術総会, 9月19-21日, 札幌, 2012
 33. 宮本和明: エピジェネティクスに基づく癌診断マーカーの開発. 第50回日本癌治療学会学術集会, 10月26日, 横浜, 2012
 34. Daino K, Nishimura M, Imaoka T, Takabatake M, Takabatake T, Kakinuma S and Shimada Y: Genetic and epigenetic alterations in radiation-induced rat mammary carcinomas. Keystone Symposia March 2013 Epigenetic Marks and Cancer Drugs, New Mexico
 35. Takabatake M, Daino K, Imaoka T, Nishimura M, Fukushi M, Shimada Y: Global DNA Methylation Profiling of Rat Mammary Carcinomas Induced by Ionizing Irradiation at Pre-or Post-Pubertal Age. Keystone Symposia March 2013 Epigenetic Marks and Cancer Drugs, New Mexico
 36. 高畠 賢, 臺野和広, 今岡達彦, 西村まゆみ, 福士政広, 島田義也: 思春期前後での放射線被ばくにより発症したラット乳がんにおけるゲノムDNAメチル化の網羅的解析, 第35回日本分子生物学会年会, 12月11-14日, 福岡, 2012
 37. Xu Y, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K: Function of RAD18 on radioresponse. The 2nd International Symposium Phenix Leader Education Program (Hiroshima Initiative) for Renaissance for Radiation Disaster. Hiroshima, 2013/2/11.
 38. 飯塚大輔, 笹谷めぐみ, 神谷研二: 放射線発がん分子機構の解明. 第8回広島大学・長崎大学連携研究事業カンファレンス- 放射線災害医療の国際教育研究拠点に向けた機関連携事業 -, 長崎, 2012/06/02.
 39. 河合秀彦, 曹 麗麗, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 笹谷めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 慢性的な放射線照射に対する細胞応答の先端技術を用いた解析. 第8回広島大学・長崎大学連携研究事業カンファレンス- 放射線災害医療の国際教育研究拠点に向けた機関連携事業 -, 長崎, 2012/06/02.
 40. 徐衍賓, 笹谷めぐみ, 河合秀彦, 増田雄司, 神谷研二: 複製後修復機構が放射線損傷応答におよぼす寄与. 第53回原子爆弾後障害研究会, 長崎, 2012/6/3.
 41. 曹麗麗, 河合秀彦, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 笹谷一豊めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 慢性的な γ 線照射に対する細胞応答の先端技術を用いた解析. 第53回原子爆弾後障害研究会, 長崎, 2012/6/3.
 42. 増田雄司, 鈴木美紀, 益谷央豪, 神谷研二: ヒトPCNAのユビキチン化酵素RAD6-RAD18複合体の構造と機能. 日本放射線影響学会第55回大会, 仙台, 2012/09/07.
 43. Xu Yanbin, 笹谷めぐみ, 河合秀彦, 増田雄司, 神谷研二: Role of post-replication repair system on radioresponse: 日本放射線影響学会第55回大会, 仙台, 2012/09/06.

44. 河合秀彦, CaoLili, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 笹谷めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 異なる線量率のg線照射下での細胞応答の多次元解析, 日本放射線影響学会第55回大会, 仙台, 2012/09/06.
45. 笹谷めぐみ, 徐衍賓, 本田浩章, 増田雄司, 渡辺敦光, 神谷研二: 白血病モデルマウス (Bcr-Ablトランスジェニックマウス) を用いた放射線誘発胸腺リンパ腫発症機構解明日本放射線影響学会第55回大会, 仙台, 2012/09/07.
46. 林 奉権, 吉田健吾, 大石和佳, 京泉誠之, 楠 洋一郎, 加齢と放射線の影響に特に関連した原爆被爆者の炎症状態の評価, 第41回 日本免疫学会総会・学術集会, 12月5-7日, 神戸, 2012
47. 京泉誠之, 吉田健吾, 林 奉権, van den Brink MRM, Moore MA, 楠 洋一郎, ヒト循環造血前駆細胞における T および NK 細胞産生能の評価, 第41回 日本免疫学会総会・学術集会, 12月5-7日, 神戸, 2012
48. 大石和佳, Cologne JB, 藤原佐枝子, 林 奉権, 丹羽保晴, 植田慶子, 柘植雅貴, 茶山一彰, 炎症性マーカーは肝細胞がんのリスクと関連する: コホート内症例対照研究, 第63回 米国肝臓学会議, 11月8-14日, 米国マサチューセッツ州ボストン, 2012
49. 京泉誠之, 久保美子, 梶村順子, 吉田健吾, 今井一枝, 林 奉権, van den Brink MRM, 中地 敬, 楠 洋一郎, ヒト血液前駆細胞における年齢にともなうリンパ球分化能のT細胞系からNK細胞系への偏移, 第74回 日本血液学会, 10月19-21日, 京都, 2012
50. 林 奉権, 今井一枝, 京泉誠之, 楠 洋一郎, 中地 敬, CD14とOIL18遺伝子多形および放射線被曝線量に基づく原爆被爆者の結腸直腸がんリスクの推定, 第71回 日本癌学会学術総会, 9月19-21日, 札幌, 2012
51. 林 奉権, 大石和佳, 吉田健吾, 今井一枝, 林 幾江, 梶村順子, 京泉誠之, 楠 洋一郎, 中地 敬, 原爆被爆者コホートでみられた肝炎ウイルス感染と肝細胞発がんの免疫遺伝学的要因, 第21回 日本組織適合性学会大会, 9月15-17日, 東京, 2012
52. 林 奉権, 伊藤玲子, Cologne JB, 林 幾江, 今井一枝, 吉田健吾, 梶村順子, 京泉誠之, 大石和佳, 赤星正純, 楠 洋一郎, 中地 敬, IL10ハプロタイプと原爆放射線被曝が胃癌リスクに及ぼす影響, 第55回 日本放射線学会, 9月6-8日, 仙台, 2012
53. 林 奉権, 放射線関連がんの分子疫学, 第35回 日本がん疫学・分子疫学研究会総会, 7月5-6日, 広島, 2012
54. Cologne JB, 三角宗近, 今井一枝, Preston DL, 吉田健吾, 林 奉権, 中地 敬, ケース・コホートデザインおよび遺伝子と環境の交互作用とがんとの関係に関する研究, 第35回 日本がん疫学・分子疫学研究会総会, 7月5-6日, 広島, 2012
55. 濱谷清裕, 向井真弓, 高橋恵子, 林 雄三, 中地 敬, 楠 洋一郎. 原爆被爆者に発生した甲状腺乳頭がんの遺伝子変異の特徴. 第35回 日本がん疫学・分子疫学研究会総会 2012/7/5-6 広島
56. 楠 洋一郎, 吉田健吾, 久保美子, 山岡美佳, 梶村順子, 林 奉権, 中島栄二, 大石和佳, 藤原佐枝子, 箱田雅之, 赤星正純. 原爆放射線のヒト免疫応答に及ぼす影響 第26報:末梢血リンパ球における Th1 および Th2 細胞の割合の被ばく線量依存性増加第53回. 原子爆弾後障害研究会 2012/6/3 長崎
57. 濱谷清裕, 高橋恵子, 中地 敬, 楠 洋一郎. 放射線被曝と関連した成人甲状腺乳頭発がんの初期分子事象の特徴. 第71回 日本癌学会学術総会 2012/9/19-21札幌
58. 鵜飼明子, 濱崎幹也, 児玉喜明, 野田朝男, 楠 洋一郎, 本間正充. DNA マイクロアレイによるヒト正常細胞での放射線損傷領域のゲノムマッピング. 第