

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

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

分担研究者 續 輝久
九州大学 大学院医学研究院 教授

研究要旨 *Msh2* 遺伝子欠損マウスを用いて、臭素酸カリウム (KBrO_3) の飲水投与による消化管での酸化ストレス誘発発がん実験を行い、酸化ストレスを付与された *Msh2* 遺伝子欠損マウスの腸管では、顕著に上皮性腫瘍の発生頻度の上昇が認められた。これらの結果から、MSH2 は酸化ストレスに起因する消化管発がんの抑制に重要な役割を果たしていることが明らかになった。 KBrO_3 により誘発された腫瘍の約 30%には β -カテニンの遺伝子 (*Cttnb1* 遺伝子) に突然変異が認められた。一方、ミスマッチ修復系の *Msh2* 遺伝子が欠損するとマウス小腸のクリプト細胞の酸化ストレス誘発細胞死が減少した。以上の結果は、ミスマッチ修復系欠損個体では、酸化ストレスの負荷によって 8-oxoG に起因しない突然変異が蓄積したがん前駆体細胞がより生存しやすくなり、その結果として腸管でのがん多発を引き起こす可能性があることを示唆している。

A. 研究目的

これまでの研究で、私達は遺伝子欠損マウスを用いて、*MUTYH* 遺伝子に欠損を持つ MAP 患者では酸化ストレスに起因する自然突然変異が大腸腺腫症を引き起こすことを示した。同時に、臭素酸カリウム (KBrO_3) 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確立した。本研究では、この系を用いて、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し、ヒト遺伝性非腺腫性大腸がん (HNPCC) の発がん機序を考察する。

B. 研究方法

1) *Msh2* 遺伝子欠損マウスの飼養

近交系 C57BL6/J の遺伝的背景を持つ *Msh2* 遺伝子欠損マウスのヘテロ接合体同士の掛け合わせにより *Msh2* 遺伝子欠損マウスと対照群の野生型マウスを得た。マウスの飼養については、九州大学遺伝子組換え実験安全管理規則並びに動物実験規則に従って実施した。

2) 臭素酸カリウム溶液の投与

KBrO_3 を純水に溶解し、0.2%溶液を調製後に濾過滅菌し、マウスの飲料水とした。投与法は、16週間の自由飲水で行い、消費量については週一回モニターした。

3) TUNEL 法による細胞死の解析

臭素酸カリウムを投与したマウスの小

腸上皮から組織切片を作製し、TUNEL Kit (TaKaRa Co) を用いてクリプトにおける細胞死 (アポトーシス) 誘導を検討した。

4) 統計的手法

すべての測定値について平均値と標準偏差を求めた。

(倫理面への配慮)

動物実験の実施に際しては、九州大学動物実験委員会の承認を得て、九州大学動物実験規則に従い、実験動物に対する動物愛護に関して十分配慮して行った。

C. 研究結果

KBrO_3 の投与により酸化ストレスが付与された *Msh2* 遺伝子欠損マウスの腸管では、顕著に上皮性腫瘍の発生頻度の上昇が認められた。このことから、ミスマッチ修復遺伝子の欠損による HNPCC の発症には、酸化ストレスが要因であることが示唆された。また、*Msh2* 遺伝子欠損マウスに誘発された腫瘍での *Cttnb1* 遺伝子を解析した結果、8-oxoG に起因する G:C→T:A 変異は少なく (7.4%)、大多数は G:C→A:T 変異 (74.1%) であり、ミスマッチ修復系が 8-oxoG の除去には直接関与していない可能性が示唆された。そこで本年度はミスマッチ修復系が関与していると考えられている酸化ストレス誘発細胞死との関連を解析した。0.2% KBrO_3 投与された野生型マウスと *Msh2* 遺伝子欠損マウスの

小腸組織切片を TUNEL 法で染色し、それぞれ約 100 個のクリプトを観察し、クリプト当たりの TUNEL 陽性細胞の数を計測した。その結果、野生型マウスでは 3.36 ± 0.96 個 (mean \pm SD)、*Msh2* 遺伝子欠損マウスでは 0.80 ± 0.46 個 (mean \pm SD) の細胞が TUNEL 陽性を示した。この差は統計的に有意である ($p < 0.002$; *t*-test) ことから、ミスマッチ修復系はマウス小腸のクリプト細胞の酸化ストレス誘発細胞死に関与していることが示唆された。

D. 考察

ミスマッチ修復系遺伝子が欠損するとヒトでは HNPCC が発生する。通常の SPF 飼育条件下で育てた野生型マウスの腸管上皮細胞では、加齢と共に酸化ストレスに起因する突然変異が蓄積し、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、酸化ストレスに起因する自然突然変異が大腸腺腫瘍を引き起こす。これらの知見から、ミスマッチ修復系遺伝子の欠損による HNPCC の発症には、酸化ストレスが要因であることが考えられる。昨年度までの研究で、 KBrO_3 の投与により酸化ストレスが付与された *Msh2* 遺伝子欠損マウスの腸管では、顕著に上皮性腫瘍の発生頻度が上昇することが示された。また、*Msh2* 遺伝子欠損マウスに誘発された腫瘍での *Cttnb1* 遺伝子を解析すると、8-oxoG に起因する G:C→T:A 変異は少なく (7.4%)、大多数は G:C→A:T 変異 (74.1%) であることが明らかになった。これらの結果は、ミスマッチ修復系は 8-oxoG の除去には直接関与していないものの、発がんにはミスマッチ修復系が関与する酸化ストレス誘発細胞死が大きく関わっている可能性を示唆する。本年度の研究の成果はこの仮説と一致し、ミスマッチ修復系遺伝子の欠損による HNPCC の発症には、酸化ストレス誘発細胞死の欠損が要因であることを示唆している。*Msh2* 遺伝子欠損マウスにおける KBrO_3 誘発変異の詳細な解析や、長期間 KBrO_3 を投与された *Msh2* 遺伝子欠損のヘテロ接合体マウスを用いた詳細な解析を行うことで、ミスマッチ修復系遺

伝子の欠損によって引き起されるヒトの HNPCC の発がん機序の解明を進めたい。

E. 結論

MSH2 は酸化 DNA 損傷による細胞死を誘導することで、酸化ストレスに起因する発がんの抑制に重要な役割を果たしていることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohno, M., Sakumi, K., Fukumura, R., Furuichi, M., Iwasaki, Y., Hokama, M., Ikemura, T., Tsuzuki, T., Gondo, Y. and Nakabeppu, Y., 8-oxoguanine causes spontaneous *de novo* germline mutations in mice, Scientific Reports, (*in press*)
- 2) Takahashi-Yanaga, F., Yoshihara, T., Jingushi, K., Igawa, K., Tomooka, K., Watanabe, Y., Morimoto, S., Nakatsu, Y., Tsuzuki, T., Nakabeppu, Y. and Sasaguri, T., DIF-1 inhibits tumor growth *in vivo* reducing phosphorylation of GSK-3 β and expressions of cyclin D1 and TCF7L2 in cancer model mice, Biochem. Pharmacol. (*in press*)
- 3) Piao, J., Nakatsu, Y., Ohno, M., Taguchi, K. and Tsuzuki, T., Mismatch repair deficient mice show susceptibility to oxidative stress-induced intestinal carcinogenesis. Int. J. Biol. Sci., 10 (1): 73-79, 2014

2. 学会発表

- 1) 大野みずき, 作見邦彦, 福村龍太郎, 権藤洋一, 岩崎裕貴, 池村淑道, 續輝久, 中別府雄作, [8-Oxoguanine causes spontaneous *de novo* germline mutations: a study from the mutator mouse lines, Mizuki Ohno, Kunihiko Sakumi, Ryotaro Fukumura, Yoichi Gondo, Yuki Iwasaki, Toshimichi Ikemura, Teruhisa Tsuzuki, Yusaku Nakabeppu], SMBE Satellite Meeting / NIG International Symposium, 三島, 2014. 3. 15.

- 2) 大野みずき, 中津可道, 中別府雄作, 續 輝久, 酸化 DNA 損傷と消化管がん, [Oxidative DNA damage and intestinal cancer, Mizuki Ohno, Yoshimichi Nakatsu, Yusaku Nakabeppu, Teruhisa Tsuzuki], 日本分子生物学会第 34 回年会, 神戸, 2013. 12. 5.
- 3) 大野みずき, 作見邦彦, 福村龍太郎, 権藤洋一, 岩崎裕貴, 池村淑道, 續 輝久, 中別府雄作, ミューテーターマウス家系を用いた生殖細胞突然変異の解析システム, [Analyzing system for somatic and germline mutations using mutator mouse line, Mizuki Ohno, Kunihiro Sakumi, Ryotaro Fukumura, Yoichi Gondo, Yuki Iwasaki, Toshimichi Ikemura, Teruhisa Tsuzuki, Yusaku Nakabeppu], 日本環境変異原学会第 42 回大会, 岡山, 2013. 11. 30.
- 4) 青木康展, 松本みちよ, 松本 理, 増村健一, 續 輝久, 能美健彦, 臭素酸カリウムが *gpt delta* マウス小腸で誘導する突然変異の閾値と変異スペクトルの用量依存性変化, [Threshold for *in vivo* mutation induced by potassium bromate in the small intestine of *gpt delta* mice, and dose-dependent changes in the mutation spectrum, Yasunobu Aoki, Michiyo Matsumoto, Michi Matsumoto, Ken-ichi Masumura, Teruhisa Tsuzuki, Takehiko Nohmi], 日本環境変異原学会第 42 回大会, 岡山, 2013. 11. 30.
- 5) Teruhisa Tsuzuki, Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestines of *MutYh*-deficient mice: the effect of low-level exposure to $KBrO_3$, 11th International Conference on Environmental Mutagens, Bourbon Cataratas Convention & Spa Resort - Foz do Iguassu, Brazil, 2013. 11. 6.
- 6) Teruhisa Tsuzuki, Mizuki Ohno, Yusaku Nakabeppu, Yoshimichi Nakatsu, Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of *MutYh*-deficient mice: the effect of low-level exposure to $KBrO_3$, 日本癌学会第 72 回学術総会, 横浜, 10. 6. 2013.
- 7) Charatda Punvittayagul, Yoshimichi Nakatsu, Rawiwan Wongpoomchai, Mizuki Ohno, Teruhisa Tsuzuki, *In vitro* study for mutagenicity of purple rice hull extract using fibroblasts derived from *rpsL*-transgenic mouse, 日本癌学会第 72 回学術総会, 横浜, 10. 5. 2013.
- 8) 大野みずき, 作見邦彦, 福村龍太郎, 権藤洋一, 岩崎裕貴, 池村淑道, 續 輝久, 中別府雄作, 酸化 DNA 損傷に起因する *de novo* germline mutation の解析, [A study of *de novo* germline mutation due to oxidative DNA damage, Mizuki Ohno, Kunihiro Sakumi, Ryutaro Fukumura, Yoichi Gondo, Yuki Iwasaki, Toshimichi Ikemura, Teruhisa Tsuzuki, Yusaku Nakabeppu], 日本遺伝学会第 85 回大会, 横浜, 2013. 9. 19.
- 9) 作見邦彦, 大野みずき, 福村龍太郎, 権藤洋一, 岩崎裕貴, 池村淑道, 續 輝久, 中別府雄作, 酸化 DNA 損傷に起因する *de novo* germline mutation の解析 (II), [A study of *de novo* germline mutation due to oxidative DNA damage (II), Mizuki Ohno, Kunihiro Sakumi, Ryutaro Fukumura, Yoichi Gondo, Yuki Iwasaki, Toshimichi Ikemura, Teruhisa Tsuzuki, Yusaku Nakabeppu], 日本遺伝学会第 85 回大会, 横浜, 2013. 9. 19.
- 10) Teruhisa Tsuzuki, AARR Award (Medicine) Lecture, Prevention of Oxidative Tumorigenesis by DNA Repair Enzymes: Implication in Human Cancer, The 3rd Asian Congress of Radiation Research (ACRR 2013), Beijing International Convention Center, Beijing, China, 2013. 5. 13.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

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

DDR初期応答としての細胞周期停止

分担研究者 山下克美
金沢大学医薬保健研究域 准教授

研究要旨 環境発がん物質である PhIP について、ラットの大腸上皮をモデルに、DNA 損傷応答（DDR）機構の解明を行っている。今年度は昨年度と同様に、F344 ラット大腸上皮由来初代培養細胞を用いて、DDR の解析を行った。今年度は特に、低濃度の PhIP の効果について重点的に解析を行った。まず 1mM の PhIP 6 時間処理での DDR として、p53-Ser15 のリン酸化亢進を認めたが、p53 の発現上昇、p21 の発現亢進、Chk1-S435 のリン酸化亢進は検出できなかった。そこで、sub-mM の PhIP 処理での DDR を p53-Ser15 のリン酸化亢進を指標に検討したところ、0.1mM および 0.3mM PhIP で DDR を認めた。今後は、より低濃度の PhIP による DDR を検出可能な実験系の開発が望まれる。

A. 研究目的

本研究では、私どもが通常の生活において加熱食品から取り込む可能性があり、動物実験で発がん性が証明されている代表的な環境発がん物質の一つである PhIP に着目し、PhIP 誘発多段階発がんの最初のステップである DNA 損傷応答（DDS）について解明し、ヒトへの影響を評価することが最終目的である。

PhIP はラットにおいて、病理学的にヒト大腸がんによく似た上皮性のがんを誘発することから、PhIP のヒトへの発がん影響を、ラット大腸上皮細胞を用いて検討する。

本研究ではラット個体の大腸上皮における PhIP 誘発性の DDS を研究する前段階として、初代培養細胞を用いて PhIP 暴露によって誘発される DDS について検討する。

昨年度までの研究で、ラット肝由来の S9 mix 処理によって活性化された PhIP は 3-10mM の範囲内で細胞を PhIP 処理すると、p53 の発現上昇、p53-S15 のリン酸化、Chk1-S435 のリン酸化、p21 の発現上昇等が認められ、PhIP により明らかに DDS が誘発されることが明らかになってきた。

今年度はこれまでの研究で DDR が検出されていない、1mM および sub-mM の PhIP 処理での DDR に着目して検討する。

B. 研究方法

本研究で使用するラット大腸上皮由来の初代培養細胞は、昨年度に使用したものと同様であり、国立がん研究センター研究所の筆宝義隆、落合雅子両博士によって分離されたものである。

PhIP はラット肝由来の S9 mix により活性化させ使用した。陰性対照としては、加熱食品に含まれる発がん物質であるが、ラット大腸における発がん性は認められない MeAaC を、同様に S9 mix 処理したものを使用した。代謝活性化されたこれらの発がん物質を細胞へ添加後 6 時間で細胞抽出液を調製し、ウエスタンブロッティング（WB）に使用した。

DDR マーカーは、これまでの研究で使用した、p53 の発現上昇、その原因の一つであり DDR 初期因子の ATM/ATR のリン酸化標的である S15 のリン酸化、また、ATR の下流に位置し S15 のリン酸化酵素の一つである Chk1 の活性化指標である S435 のリン酸化、p53 の転写標的因子の一つである p21 等の動態を、それぞれの因子に対する特異抗体を用いた WB 法により解析してきた。

（倫理面への配慮）

培養細胞を用いた研究のため、特に配慮は必要ない。

C. 研究結果

これまでの研究により、ラット肝 S9 mix 処理により代謝活性化された PhIP は 3-10mM の濃度で初代培養細胞において DDR を誘発した。しかしながら、1mM の PhIP 添加では、明確な DDR 関連因子の活性化が認められなかったため、まず上述の DDR 関連因子について、検出が可能となる種々の条件、すなわち抗体、希釈率、タンパク質の転写膜、ブロッキングならびに一次抗体の処理条件等を検討した結果、p53-S15 のリン酸化を検出可能な条件が確立できた（残念ながら他の因子については検出不可能であった）。

得られた条件を用いて、前述のように S9 mix により活性化させた 0.1mM または 0.3mM PhIP で細胞を 6 時間処理し、主として p53-S15 のリン酸化の検出を行った。

その結果、0.3mM PhIP 処理では明らかな p53-S15 のリン酸化が検出された。一方、0.1mM PhIP では非常に微弱ではあるが、再現性よくシグナルが検出された。しかしながら、両濃度の PhIP 処理では、1mM の場合と同様に p53 の発現上昇、Chk1-S435 のリン酸化等を認めることはできなかった。

D. 考察

p53-S15 は DDR の上流因子である ATM/ATR のリン酸化標的でありかつ、ATR によってリン酸化・活性化される Chk1 の標的でもある。p53 は S15 のリン酸化により安定性を獲得し、さらに転写因子として活性化され、標的遺伝子の発現を誘導し、細胞周期停止の誘因の一つとなる。

昨年までの研究では検出が困難であった 1mM PhIP 処理において、p53-S15 のリン酸化が検出された。さらに本年度の研究で、sub-mM の PhIP 処理でも p53-S15 のリン酸化が認められたことは、低濃度の PhIP により ATM/ATR や Chk1 の活性化が引き起こされていることが推測される。従って、1mM 以下の濃度の PhIP 処理において Chk1-S435 のリン酸化が検出されなかったことは、おそらく本研究に使用した抗体の検出感度が原因であると思われる。

低濃度 PhIP による DDR を明確に証明するためには、ATM 活性化の指標であるリン酸化 ATM を検出するなど、他の DDR 初期応答性因子についても検討する必要があると思われる。

現在までのところ、本実験系では 0.11mM 以下の濃度の PhIP による DDR を検出することは不可能であろう。ヒト大腸上皮への影響を検討するためには、指標となる DDR 因子に対する特異抗体を用いて試料を濃縮する等の工夫が必要であると思われる。これは今後の検討課題である。

E. 結論

今年度の研究では、ラット大腸上皮由来の初代培養細胞における、PhIP 投与による DDR の検出を試みた。今年度のテーマは、sub-mM の PhIP 処理による DDR の誘発であった。昨年度までの実験条件では DDR 指標を検出できなかった 1mM の PhIP 処理において、p53-S15 のリン酸化は明確に認められた。しかしながら、p53 の発現上昇、Chk1-S435 のリン酸化、p21 の発現等の検出はできなかった。従って、0.1mM または 0.3mM PhIP 処理における DDR の検出は、p53-S15 のリン酸化を指標とした。

その結果、p53-S15 のリン酸化は、0.3mM PhIP 処理においては明確に再現性よく検出された。一方、1mM の PhIP 処理の場合は、弱いシグナルながら再現性のよい結果が得られた。

これらのことから、sub-mM の濃度でも PhIP はラット大腸上皮由来初代培養細胞に DDR を誘発することが明らかとなった。

今後は、より感度の高い DDR 指標や検出条件を検討するとともに、このような DDR が加熱食品に含まれる他の環境発がん物質によっても誘発されるか否かについて検討する必要があると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表

Katsumi Yamashita: Stability of Cdc25B, a CDK activating dual-specificity protein

phosphatase is controlled by its phosphorylation status. The 2nd Taiwan-Japan Bilateral Conference on Protein Phosphatases, Taipei (Nov 2013)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記すべきものなし。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

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
Ochiai M, <u>Hippo Y*</u> , Izumiya M, Watanabe M, Nakagama H. (*corresponding author)	Newly Defined Aberrant Crypt Foci as a Marker for Dysplasia in the Rat Colon.	<i>Cancer Sci.</i>	in press		2014
Igarashi M, <u>Hippo Y*</u> , Ochiai M, Fukuda H, Nakagama H. (*corresponding author)	AKT is critically involved in cooperation between obesity and the dietary carcinogen amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5- <i>b</i>] (PhIP) toward colon carcinogenesis in rats.	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i>	443(3)	852-7	2014
Onuma K, Ochiai M, Orihashi K, Takahashi M, Imai T, Nakagama H, <u>Hippo Y.</u>	Genetic reconstitution of tumorigenesis in primary intestinal cells.	<i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i>	110(27)	11127- 32	2013
Fujimori H, Mukai H, Murakami Y, Hemberger M, Hippo Y, <u>Masutani M.</u>	The <i>H19</i> induction triggers trophoblast lineage commitment in mouse ES cells.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	436(2)	313-8	2013
Nozaki T, Fujimori H, Wang J, Suzuki H, Imai H, Watanabe M, Ohura K, <u>Masutani M.</u>	Parp-1 deficiency in ES cells promotes invasive and metastatic lesions accompanying induction of trophoblast giant cells during tumorigenesis in uterine environment.	<i>Pathol Int</i>	63(8)	408-14	2013
<u>Masutani M</u> , Fujimori H.	Poly(ADP-ribosylation) in carcinogenesis.	<i>Mol Aspects Med</i>	34(6)	1202-1 6	2013
Fujita, Y., <u>Takeshita, F.</u> , Mizutani, T., Ohgi, T., Kuwano, K., Ochiya, T.	A novel platform to enable inhaled naked RNAi medicine for lung cancer	<i>Sci. Rep.</i>	3	3325	2013
Takahashi, RU., <u>Takeshita, F.</u> , Honma, K., Ono, M., Kato, K., Ochiya, T..	Ribophorin II regulates breast tumor initiation and metastasis through the functional suppression of GSK3 β	<i>Sci. Rep.</i>	3	2474	2013

Uchino, K., Ochiya, T., Takeshita, F.	RNAi therapeutics and applications of microRNAs in cancer treatment.	Jpn. J. Clin. Oncol.,	43	596-607	2013
Katsuda, T., Kosaka, N., Takeshita, F., Ochiya, T.	The therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles	Proteomics	13	1637-1653	2013
Kosaka, N., Iguchi, H., Hagiwara, K., Yoshioka, Y., Takeshita, F., Ochiya, T.	Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2)-dependent exosomal transfer of angiogenic microRNAs regulate cancer cell metastasis	J Biol Chem.	288	10849-10859	2013
Kosaka, N., Takeshita, F., Yoshioka, Y., Hagiwara, K., Katsuda, T., Ono, M., Ochiya, T.	Exosomal tumor-suppressive microRNAs as novel cancer therapy: "Exocure" is another choice for cancer treatment.	Adv Drug Deliv Rev.	65	376-382	2013
Oshima, H., and Oshima, M.	The role of PGE2-associated inflammatory responses in gastric cancer development.	Semin Immunopathol	35	139-150	2013
Oshima, H., Ishikawa, T., Yoshida, G.J., Naoi, K., Maeda, Y., Naka, K., Ju, X., Yamada, Y., Minamoto, T., Mukaida, N., Saya, H., and Oshima, M.	TNF- α /TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Nox1 and Gna14 in tumor cells.	Oncogene	in press		2013
Ju, X., Ishikawa, T., Naka, K., Ito, K., Ito, Y., and Oshima, M.	Context-dependent activation of Wnt signaling by tumor suppressor RUNX3 in gastric cancer cells.	Cancer Sci	105	418-424	2014
Yoshimi K, Tanaka T, Serikawa T, Kuramoto T.	Tumor suppressor APC protein is essential in mucosal repair from colonic inflammation through angiogenesis.	Am J Path	182	1263-1274	2013
Ohno, M., Sakumi, K., Fukumura, R., Furuichi, M., Iwasaki, Y., Hokama, M., Ikemura, T., Tsuzuki, T., Gondo, Y. and Nakabeppu, Y.,	8-Oxoguanine causes spontaneous de novo germline mutations in mice	Scientific Reports	in press		2014
Takahashi-Yanaga, F., Yoshihara, T., Jingushi, K., Igawa, K., Tomooka, K., Watanabe, Y., Morimoto, S., Nakatsu, Y., Tsuzuki, T., Nakabeppu, Y. and Sasaguri, T.	DIF-1 inhibits tumor growth in vivo reducing phosphorylation of GSK-3 β and expressions of cyclin D1 and TCF7L2 in cancer model mice	Biochem. Pharmacol.	in press		2014

Piao, J., Nakatsu, Y., Ohno, M., Taguchi, K. and <u>Tsuzuki, T.</u>	Mismatch repair deficient mice show susceptibility to oxidative stress-induced intestinal carcinogenesis	Int. J. Biol. Sci.	10	73 - 79	2014
Nonaka T, Sekino Y, Iida H, Yamada E, Ohkubo H, Sakai E, Higurashi T, Hosono K, Endo H, Koide T, Takahashi H, Fujita K, Yoneda M, Goto A, Kusakabe A, Kobayashi N, Gotoh E, Maeda S, <u>Nakajima A</u> , Nosaka C, Inamori M.	Early Effect of Single-dose Sitagliptin Administration on Gastric Emptying: Crossover Study Using the (13)C Breath Test.	J Neurogastroenterol Motil.	19	227-32	2013
Kitamoto A, Kitamoto T, Mizusawa S, Teranishi H, So R, Matsuo T, Nakata Y, Hyogo H, Ochi H, Nakamura T, Kamohara S, Miyatake N, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Yoneda M, <u>Nakajima A</u> , Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Masuzaki H, Ueno T, Chayama K, Hamaguchi K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Sakata T, Tanaka K, Matsuzawa Y, Nakao K, Sekine A, Hotta K.	NUDT3 rs206936 is associated with body mass index in obese Japanese women.	Endocr J	60(8)	991-1000	2013
Kurita Y, Koide T, Watanabe S, Ogawa T, Sekino Y, Iida H, Nonaka T, Kusakabe A, Gotoh E, Maeda S, <u>Nakajima A</u> , Inamori M.	Postpyloric decompression tube placement through a gastrostomy for malignant bowel obstruction.	BMC Res Notes.	6	217	2013
Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Tomeno W, Shinohara Y, Kato S, Mawatari H, Nozaki Y, Fujita K, Kirikoshi H, Maeda S, Saito S, Wada K, <u>Nakajima A</u> .	Soluble CD14 Levels Reflect Liver Inflammation in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis.	PLoS One	8(6)	e65211	2013
Iida H, Ohkubo H, Inamori M, <u>Nakajima A</u> , Sato H.	Epidemiology and clinical experience of chronic intestinal pseudo-obstruction in Japan: a nationwide epidemiologic survey.	J Epidemiol.	23(4)	288-94	2013