

た。さらに、PhIP によるAktの活性化は GSK-3 β の不活性化を誘導しているにも関わらず、予想に反して β カテニンの蓄積を誘導していないこと、また、高脂肪食は著明に β カテニンの蓄積を誘導することを見いだした。これらの興味深い観察はこれまで未報告であり、またその分子機構も全く未解明であることから、本研究で得られた知見を元に解析を継続することで、今後大腸発がん和肥満の関連に関して新たな一面が明らかになる可能性がある。

(3) 大腸異形成の簡易診断法の確立：過去の大腸化学発がん研究においては、マーカーとしての利便性から初期病変である Aberrant Crypt Foci (ACF) の数を長期発がん性の指標とすることが一般的だったが、dysplasia を伴わない多くの ACF はがん化しないため ACF 数を発がん性の予測に用いることの正当性を疑問視する声も根強かった。一方で、dysplasia の診断には煩雑な組織切片の作成が必須であり、また ACF 以外の進行した前がん病変は数が極端に少ないことから、いまだに両者ともその使用が一般的ではない。今回 ACF 染色後に脱色過程を追加し、さらに crypt の開口部の形状が狭小化しているもののみを抽出することで、組織学的検査を行わなくても dysplasia が簡便かつ実質的に検出可能（特異性 94%、感受性 90%）であることを示し、数も充分あることからマーカーとして実用性が高いと考えられた。我々は本病変を dysplasia-associated ACF (dACF) と命名し、今後この領域における世界標準とすべくマウスやヒトでの類似病変の確認を現在進めている。dACF は真の前がん病変としての意義を有しながら、実用的には ACF と同等の発がん性の早期マーカーとしても有用であることから、大腸発がん初期病変として今後 ACF に代わる標準となる可能性を有すると考えられた。

(4) ファーマコゲノミクスによる変異原物質の大腸発がん性予測：miRNA は近年発がんへの関与やがんの診断マーカーとして注目を集めているが、本研究では、化合

物の大腸発がん性予測に投与後早期に誘導される miRNA プロファイルが有用であることを示し、miRNA が発がん過程の最も早期の段階にも関与している可能性を強く示唆した。変異原物質の発がん性は臓器毎に大きく異なることが知られているが、miRNA も臓器特異性が高い発現パターンを示すことから、該当臓器を用いて解析することで有意な結果が得られた可能性がある。また、本研究で得られた結果をもとにすると、大腸発がん性が未知の新規の化合物についても短期間の実験で長期発がん性を予測することが可能となると考えられ、環境因子のリスク評価の観点からも有用性が高いと考えられる。

(5) 細胞レベル新規大腸発がんモデルの確立とその利用：大腸発がん分子機構としては「多段階発がんモデル」が広く受け入れられており、大腸粘膜での遺伝子異常の蓄積が発がん過程を段階的に進展させていくと考えられている。一方、間質細胞や炎症・肥満などの環境要因も、個体レベルでの発がん過程の進展に多大な影響を及ぼすことが知られているが、発がんに不可欠かどうかは検証する手法がなかったこともあり、これまで不明だった。今回マウス腸管 3 次元初代培養細胞に対する高効率の遺伝子導入法を確立し、全くの正常上皮細胞のみからでも APC のノックダウンだけで 70% の頻度で腺管構造を有する腫瘍が誘導されることを確認した。また、他の遺伝子異常の追加により腫瘍形成率が 100% になり、腫瘍径の増大や組織型の悪性化が見られるなど、遺伝子改変動物における個体レベルの解析と同様な結果が得られ、発がん過程の段階的な進展が再現可能であることを示した。腸管の微少環境に非依存的条件下においても大腸発がん過程を簡便に再現可能な細胞レベルの大腸発がんモデルになると考えられた。一方、shAPC によりイニシエーションが確立された細胞について、炎症を模倣した短時間の共培養を用いて腫瘍形成が促進されることを示した。すなわち、遺伝要因のみならず、環境要因によるプロモーションも in

vitro で再現可能であることを示した。特に、炎症と関連し、多くのがんで活性化されている転写因子 STAT3 について実際に活性化を誘導できたことは興味深く、同系を用いた炎症と大腸発がんの関連の研究に道を開くものと考えられる。PhIP は、大腸発がんのイニシエーション、プロモーションのそれぞれに関与している可能性が高いとされているが、分子機構に関する理解はいまだ不完全である。本実験系を用いることで shAPC よりは弱いもののイニシエーション作用が存在することが示唆された。現在プロモーション作用の有無を用いて検討中である。なお、PhIP はマウスへ個体への投与では大腸がんよりもリンパ腫が先に発症するため、DSSなどを組み合わせることが必要であったが、本実験では in vitro で腸管細胞のみを対象にした解析であるため純粋に PhIP の腸管上皮への影響を観察することが可能なのは大きな利点といえる。

(6) SND1 ノックダウン大腸がん細胞株の樹立と miRNA 発現解析: SND1 は、microRNA の制御複合体である RISC の構成因子であり、大腸発がんの早期病変から発現亢進が認められる。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ことを見いだしている。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。また、最近アポトーシス時に SND1 が Caspase3 により標的基質として分解されることが報告されており、SND1 の過剰発現と Caspase3 の低レベル発現は、協調して発がんに貢献している可能性がある。SND1 の過剰発現は APC の発現を抑制して大腸発がんに関与していることをすでに報告しているが、これとは別の機構も存在することを示唆する結果といえる。

(7) ポリ ADP-リボシル化を標的とする早期からの制がん法: 本研究により PARP 阻害はヒトがん細胞においても特定の遺伝

子座においてエピゲノム変化を誘導し、がん化に、あるいは逆に制がんに関与する可能性が考えられる。ヒトがん細胞において PARP 阻害剤処理後、*H19/Igf2* のエピゲノム制御の異常を調べ、PARP のがん化への関与の機構を明らかにする。PARP-1 の機能異常はエピジェネティック制御の異常を介して *H19* 発現を誘導し、trophoblast 系譜への分化を促進すると考えられる。PARP の機能阻害はマウスモデルにおいて胚細胞腫瘍形成過程でエピジェネティック制御の異常を誘発することで trophoblast 系譜を誘導するが、生じた trophoblast 系譜細胞が間接的に転移や浸潤性に貢献しうることが見いだされた。従って、胚細胞腫瘍に対して PARP 阻害剤を制がん目的で使用することは trophoblast 系譜の誘導を起こす可能性があり、今後も慎重に検討する必要がある。PARP 阻害剤は γ 線及び炭素線照射による致死効果の増強を示した。また、マウスモデルにおいて γ 線及び炭素線照射による抗腫瘍作用の PARP 阻害剤による増強効果を調べることが必要である。PARP 阻害剤によるがん細胞株における炭素線の増感効果は PARP-1 のみが標的ではなく、他の PARP ファミリー分子の阻害が作用している可能性があり、この点も検討する必要がある。がん幹細胞マーカー陽性のがんでは抗がん剤や放射線に対する感受性が低下していることが報告されている。本研究より、このようながん細胞に対して PARP 阻害剤と放射線の併用が有効であることが示唆された。 γ 線など低 LET 放射線だけでなく炭素線など高 LET 放射線に対しても亜致死性の酸化的 DNA 損傷を致死的な損傷へ転換することにより増感に有用である可能性が考えられる。本結果より、PARP 阻害剤の作用としては DNA 切断修復の阻害が主な機構と報告されているが、がん発現の亢進が報告されている *DNMT3* などのエピジェネティック制御異常を作用点としうることが示された。PARP 阻害剤については、DNA 修復阻害剤として臨床応用が試みられているが、DNA 脱メチル化誘導をはじめとするエピゲノム変化を誘導す

ることから、その作用機序の解明と他のエピジェネティック阻害剤のように早期がんへの制がん作用の基礎的検討をさらに行う必要がある。血清環境の違いがマウス ES 細胞において二本鎖 DNA 切断等を誘導し、変異の導入に寄与することが示唆された。PARP 阻害剤が腫瘍化の早期の過程で二本鎖 DNA 切断誘導に伴うゲノム不安定性の誘導を介する形質転換を抑制しうることがわかった。

(8) 消化器がん発生に関与する炎症反応の分子機構の解明: 本研究成果により、胃がんの炎症性微小環境形成には、COX-2/PGE₂ 経路の誘導と細菌感染による自然免疫の活性化が重要な役割を果たすと考えられた。Toll 様受容体 (TLR) のエフェクター分子である MyD88 遺伝子を欠損させると、炎症性微小環境形成が抑制されて *Apc* 遺伝子変異マウスの腸管腫瘍発生が顕著に抑制される事が報告されている (Rakoff-Nahoum, Science, 2007)。また、大腸がんでは腫瘍上皮細胞の細胞間接着が弱くなり、菌体成分が上皮細胞間から粘膜固有層に浸潤して炎症環境を形成する事も報告された (Grivnikov, Nature, 2012)。以上の結果からも、少なくとも消化管においては、細菌感染による自然免疫の活性化が発がん重要な炎症性微小環境形成に重要と考えられる。Gan マウスの無菌化による顕著な腫瘍発生抑制効果を考えると、自然免疫反応の制御による消化管発がん予防の可能性は十分考えられる。

炎症反応による発がん促進機構について、転写因子の NF- κ B や Stat3 による増殖因子や生存因子の発現誘導が報告されている。最近では、NF- κ B が腸管腫瘍細胞の幹細胞性獲得に関与している事も報告されている (Schwitalla, Cell, 2012; Myant, Cell Stem Cell, 2013)。一方で、発がんに関与する microRNA の研究は推進されているが、炎症反応との関連からはほとんど明らかにされていない。本研究により、慢性炎症反応は胃がん組織において microRNA の発現亢進や抑制を同時に誘導している事を明らかにした。おそらく転写

因子の活性化を介した変化と考えられるが、詳細の分子機序は不明である。胃がん組織では、炎症反応が、がん抑制性の作用を持つ miR-7 の発現を有意に低下させ、発がん促進作用を持つ miR-135b の発現を誘導させる事を明らかにした。miR-135b の発現は、NF- κ B や Stat3 に制御されることが報告されており、炎症依存的な発現様式の結果と整合性がある。炎症性微小環境はこれらの microRNA の発現変化だけでなく、miR-155 や miR-21 などの発がん促進に作用する microRNA の発現も誘導しており、多様な microRNA 分子の発現変化を介して発がんを促進していると考えられた。miR-7 や miR-135b の発現変化が、どの標的遺伝子の発現を制御する事で発がん促進に関与しているのかは、遺伝子欠損マウスモデルを用いた動物実験を含めて今後の重要な研究課題である。

(9) KAD ラットを用いた大腸炎発症機構の解明: KAD ラットは、DSS 誘発大腸炎に対し、高感受性を示す。その機序を明らかにするために、病理解析、免疫組織化学、分子生物学的解析を行った。大腸炎発症時において、APC は血管内皮細胞に発現誘導された。また、KAD ラットでは大腸炎の修復の遅延が観察された。粘膜の修復には、血管の新生が重要な働きをする。APC が大腸炎部位の血管内皮に発現誘導されることから、APC が血管内皮細胞の挙動変化に何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。また、KAD ラットの血管内皮細胞では管腔形成の異常が観察され、KAD ラットでは APC と細胞接着に関与するアダプタータンパク質である DLG5 との相互作用が失われていることが判明した。以上、KAD ラットでは APC タンパク質と DLG5 タンパク質との相互作用の欠損が血管内皮細胞の接着異常を引き起こし、血管新生の遅延を伴う大腸炎症の持続を導いたと考えられた。近年 DLG5 は、大腸の慢性炎症を主症状とするヒト炎症性腸疾患の関連遺伝子として報告されていることから、本研究結果は APC と DLG5 との相互作用が、ヒト炎症性腸疾患の病態に寄与することを示唆するものである。

(10) KAD ラットを用いた評価試験系の開発：5-FU の効果は腫瘍退縮効果と言われており、ヒトにおける 5-FU 単独投与の効果は約 30%と言われている。担がん KAD ラットにおいても、約 30%の腫瘍退縮効果が見られた。KAD ラットに誘発された大腸腫瘍は、5-FU に対する反応においても、ヒト大腸癌との類似性が確認できた。また、セレコキシブ、EGCG を用いたいずれの場合でも、大腸腫瘍の抑制効果が確認され、KAD ラットの AOM/DSS 大腸発がん誘発系が、抗炎症剤やがん抑制物質の評価試験に利用できることを示した。これまで、抗癌剤、抗炎症剤、がん抑制物質の評価試験は、F344 ラットなどの正常ラットに大腸がんを誘発したバイオアッセイ系を用いていた。これらの系では、実験期間が 30 週程度と長く、大腸腫瘍の発生頻度も数 10%程度であり、評価の効率の改善が求められていた。Apc 遺伝子に変異をもつ KAD ラットを用いることで、実験期間の短縮と発生頻度の改善がなされ、抗癌剤、抗炎症剤やがん抑制物質の評価試験の効率化がなされた。KAD ラットを用いた AOM/DSS 大腸腫瘍誘発系を用いることで、新規の抗癌剤、抗炎症剤、がん抑制物質の評価試験が迅速に進むことが期待される。

(11) 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：腸管腫瘍細胞における mTORC1 の活性化には JNK の活性化が必要かつ十分であること、JNK は c-Jun の活性化と mTORC1 の活性化という二つの機序を用いて腸管腫瘍の成長を促進する可能性が示唆された。Raptor のセリン 863 残基は mTOR によりリン酸化されて mTORC1 の更なる活性化を引き起こすことが報告されていたが、本研究により JNK による mTORC1 活性化機序に関与することが分かった。RAD001、AZD8055 とともに腺がんの浸潤は阻害しなかったが、AZD8055 投与下の *cis-Apc/Smad4* マウスの腸がんで EGFR/PI3K/AKT 経路が活性化されていた。大腸がん細胞に AZD8055 を添加しても同経路が活性化され、その活性化は

erlotinib により阻害されたことから、EGFR/PI3K/AKT 経路の活性化が浸潤部位における阻害薬耐性に寄与する可能性が示唆された。

(12) 細胞周期制御因子 Cdc25A 分解の可視化系の構築：本研究では、環境発がん物質による DDR の初期過程を検出し、細胞周期への影響を検討することが目的であった。本研究で検討の対象とした DDR 関連遺伝子は、Cdc25A および p53 とその関連因子である。Cdc25A は CDK の活性化に働き細胞周期を促進させる機能を有し、DNA 損傷によって速やかに分解されることが知られているため、細胞周期進行停止に直接関係した初期応答性 DDR 因子の一つである。さらに代表的ながん抑制遺伝子である p53 に関わる因子も DDR 指標の対象とした。すなわち、p53 の発現上昇、p53-S15 のリン酸化、Chk1-S435 のリン酸化、p21 の発現上昇である。これらの p53 とその関連因子の関係は以下の通りである。損傷が起きた DNA により ATM や ATR が活性化され、p53-S15 がリン酸化される。また、Chk1-S435 は活性化された ATR によりリン酸化され、活性化される。活性化された Chk1 は、ATM/ATR と同様に p53-S15 をリン酸化する。S15 がリン酸化された p53 はユビキチン化抵抗性となることで安定化され、転写因子として作用するようになる。p53 の転写標的遺伝子の一つに CDK 抑制タンパク質である p21 遺伝子が存在するために、p21 タンパク質の発現量が増加する。これにより CDK 活性が抑制され、細胞周期が停止する。(1) の研究対象であった Cdc25A は早期の DDR として、p21 の発現は後期の DDR として、細胞周期停止に関わるという関係になる。Cdc25A の動態を可視化できる実験系の構築を試みた。DDR として Cdc25A の分解に関与するのは N-末端の 150 アミノ酸の下流に RFP を融合させたプラスミドを発現する HeLa 細胞中で安定的に発現する細胞株を用いて赤色蛍光観察したが、完全に蛍光が消失したのは薬剤処理 4 時間であった。これは、N-Cdc25A-RFP タンパク質は DDR 感受性が低いことを示

している。その後の私どもの研究で、全長 Cdc25A の上流に蛍光タンパク質を融合させると、速やかな分解が認められることが判明した。また蛍光の消長は定量性に劣るため、ルシフェラーゼ等のタンパク質を融合させ、細胞内のタンパク量を活性測定することにより定量的に測定可能なシステムを用いると、より鋭敏で定量性のある DDR を測定できる可能性がある。

(13) ラット大腸上皮由来初代培養細胞を用いた、PhIP 曝露による DDR の検出: ラットを用いた PhIP の発がん実験においては、大腸上皮に腫瘍が形成される。形成された腫瘍は、病理学にヒトの大腸上皮がんによく似た形態を示すことが知られている。本研究では、PhIP を投与されたラット大腸上皮を単離して上皮細胞における DDR を検出する研究の前段階として、大腸上皮由来の初代培養細胞を用いて PhIP によって誘発される DDR の検出を試みた。ラットにおいて大腸腫瘍形成を引き起こす際の PhIP の血中濃度は 2-3mM と計算されている。そこでまず、3-10mM の PhIP をラット肝由来の S9 mix により代謝活性化させ、大腸上皮初代培養細胞に添加し、DDR を検討した。その結果、上述の p53 関連 DDR 指標、すなわち p53 の発現上昇、p53-S15 のリン酸化、Chk1-S435 のリン酸化および p21 の発現上昇のすべての指標が陽性を示した。さらに、0.1-1mM PhIP 処理においては、p53-S15 のリン酸化が検出できた。前述のように、p53-S15 のリン酸化は ATM/ATR によって引き起こされることおよび Chk1-S435 のリン酸化が ATR によって引き起こされることを考慮すると、PhIP 誘発性の DDR は、DNA 損傷によって活性化された ATM によるものと推察可能である。しかしながら、本研究で使用した抗リン酸化 Chk1-S435 抗体の認識性が低いことも原因という可能性も否定できないことから、更なる解析が必要である。本研究で、sub-mM の PhIP によって p53-S15 のリン酸化が検出されたことで、発がん濃度以下の PhIP が DDR を誘発することが示されたが、今回の研究は培養細胞を用いたものであり、ラ

ット個体における DDR とは異なる可能性を考慮する必要がある。さらに通常の生活で私たちが摂取する PhIP は一日あたり最大で 1mg 摂取すると見積られている。これを血中濃度に換算すると数 nM となり、本研究で DDR が検出可能であった PhIP 濃度の 1/100 なる。しかしながら通常の生活で摂取する環境発がん物質は PhIP のみではないため、発がん物質総量でみればより高い血中濃度となることも考えられるが、もし DDR が誘発されたとしても今回採用した方法では検出限界以下となる可能性が高い。ヒトにおいて通常の生活で PhIP をはじめとする環境発がん物質による DDR が引き起こされることを示すためには、DDR の検出感度をあげる必要がある。ウエスタンブロッティングは抗体の感度に大きく依存するため、本研究のように粗抽出液を試料に用いる通常の方法では、DDR の検出が困難と思われる。より鋭敏に DDR を検出するためには、例えば特異抗体を用いて免疫沈降などにより試料を濃縮した後に、ウエスタンブロッティングを行う等の改善が必要と思われる。また、ルシフェラーゼ融合 Cdc25A を組込んだレンチウイルスを感染させた初代培養細胞を環境発がん物質で処理する等の、より感度の高い検出法などを開発することも考える必要があるだろう。

(14) 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: 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症を引き起こす。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。私たちは本研究で、KBrO₃ 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を示した。また、*Msh2* 遺伝子欠損マウスに誘発された腫瘍における *Cttnb1* 遺伝子の変異を解析し、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%) であることを明らかにした。これらの結果は、ミスマッチ修復系は代表的な酸化 DNA 損傷である 8-oxoG の除去には直接関与していないが、酸化ストレス誘発細胞死の欠損が消化管発がんに関わっている可能性を示唆する。私たちが本研究で行った TUNEL 法を用いたマウス小腸クリプト細胞の細胞死解析の結果はこの仮説と良く一致し、*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顕著に減少した。これらの知見から、ミスマッチ修復系の欠損個体では、複製エラーや 8-oxoG 以外の損傷に起因する突然変異が蓄積したがん前駆体細胞が、酸化ストレス負荷の大きい消化管では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というシナリオが示唆される。

本研究では、ミスマッチ修復系遺伝子のホモ欠損での小腸腫瘍の発症には、酸化ストレスが要因となることを示すことができた。今後、長期間 KBrO₃ 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発がん解析や突然変異解析、細胞死解析を行うことで、ミスマッチ修復系遺伝子の欠損によって引き起こされるヒトの HNPCC の発がん機序の解明を進めたい。

(15) ラット ES 細胞の樹立およびノックアウトラットの作製: YPAC の応用により安定的なラット ES 細胞の作製に成功したが、他機関の ES 細胞は十分な安定性を保持していないため、遺伝子改変ラット作製は困難とされ、本研究による ES 細胞は、遺伝子改変発がんモデルラット作製に有用なツールとして広く使用されることが期待される。P53 遺伝子 KO ラットがマウスと異なるがん種を発症したことから、遺伝子改変ラットを用いた発がん研究は非常に有用であり、外科的処置、連続採血などラット特有の実験系を組み合わせること

ができる。p53 遺伝子ホモ欠損 ES 細胞を野生型受精卵に移植し作成したキメラにおいても、胎生致死となりホモ欠損 ES 細胞由来の組織は染色体不安定性を示したことから、p53 が発生時には全ての組織で重要であり、死産の要因になりうるものが初めて示された。また、ZFN 法によって、ヘテロ同士の掛け合わせによらないホモ個体の作出が可能となり、キメラであるため、組織ごとの標的遺伝子の影響が検討可能なことが確認された。p53KO 遺伝子ラットは効率にがんを発症し、YPAC を用いることで元のがん細胞の性質を維持したまま培養が可能であることが示唆された。YPAC は ROCK、MEK、TgF-beta、GSK に対する 4 種類の阻害剤であり、これらの因子が幹細胞性のみならず、がん細胞の性質の維持に関与することが示唆された。

(16) リンパ腫感受性遺伝子の単離と放射線発がんリスク予測:

(前リンパ腫細胞の発生母体となる細胞種の同定): Bcl11b^{KO/+}ヘテロマウスは照射後胸腺リンパ腫発症するが、非照射では発症しない。また、Bcl11b^{KO/+}マウスは胸腺細胞分化に影響するが、その影響度は大きくはない。これらの結果は、Bcl11b^{KO/+}遺伝子型単独では胸腺細胞の表現型や発がん性に大きな影響を与えず、発がんは放射線照射に依存することを示し、このモデルが放射線発がん機構を研究するよいモデルであることを示す。Lck-Cre;Bcl11b^{fllox/+}マウスではγ線照射によりリンパ腫の発症や前リンパ腫細胞の出現が観察されたが、CD4-Cre;Bcl11b^{fllox/+}マウスでは、前リンパ腫細胞の出現はみられなかった。前者は DN2 分化段階以降で Bcl11b^{KO/+} の遺伝子型、すなわち片アレルの消失となるが、後者は DP 分化段階以降の細胞で特異的に Bcl11b^{KO/+}となる。これらの結果を総合すると、DN4、ISP、DP-TCRb^{low} の細胞種が、放射線誘発胸腺リンパ腫の発がん母体と考えられる。これらの細胞種は増殖期にある細胞で、この性質が発がん母体となる一つの特色と考えられる。

(Bcl11b 片アレル消失した ISP 細胞にみられる放射線照射影響の修飾) : Bcl11b^{KO/+}マウスに電離放射線を 1Gy 照射すると、ISP 細胞は細胞周期 S 期で周期停止の減弱が観察された。照射は DNA 損傷を引き起こし、損傷シグナルにより細胞の周期が停止をもたらす。実際、DP 細胞では S 期にあった細胞は S/G2/M 期に留まり、G1 期に進行しないことが示された。しかし、ISP 細胞は DP 細胞ほど進行の停止が強くなく、一部の細胞は S 期から G2/M 期を通過し G1 期に進行する。すなわち、照射による細胞周期進行の停止が弱い。重要な点はこの停止を、Bcl11b^{KO/+}胸腺ではより多くの細胞が G1 期に進行したことである。すなわち、Bcl11b 遺伝子の片アレル消失により、S 期から G1 期への細胞周期進行の停止が減弱することが示唆された。同様の結果が Lck-Cre;Bcl11b^{fllox/+}マウスを解析でも観察された。停止が減弱すると、生じた DNA 損傷が蓄積する頻度が増すことになり、これが発がん機構の一つと考えられる。

(p53 と HDM2 はフィードバックループ調節) : p53 と HDM2 はフィードバックループ調節機構に BCL11B が関与することがわかった。すなわち、BCL11B は p53 依存性に HDM2 の転写活性を負に制御することが明らかになった。p53 を活性化する放射線による DNA 損傷条件下では、BCL11B による HDM2 転写の抑制が基底状態 (非照射) での抑制活性と比べて減少する。このことは、HDM2 プロモーター活性に対して活性化 p53 と BCL11B が競合的に作用することを示唆する。Bcl11b^{KO/+};p53^{KO/+}二重ヘテロマウスは、胸腺リンパ腫を高頻度に自然発症する。このことは、Bcl11b は p53 と協調して細胞のがん化に作用すること、また放射線照射の代用に Bcl11b^{KO/+}遺伝子型がなることを示唆し、興味深い。これらの知見は、T-ALL 発症への BCL11B 変異の関与の機構についての理解を深める一助となるとともに、新たな治療法への手がかりを与えるものと考えられる。次にヒト T 細胞リンパ芽球性急性白血病 (T-ALL) で報告された

BCL11B 変異の意義を検討した。8 種類の点変異の、HDM2 プロモーター活性に与える影響を、p53 活性の有無の条件下で調べた。その結果、いくつかの変異は転写抑制活性を減弱させることがわかり、その影響は p53 が欠損しているで見られなかった。BCL11B 消失は HDM2 の転写抑制を解除し、その結果 p53 の分解を促進するため、BCL11B 消失は p53 機能消失と同じ役割を担うと考えられる。ヒト T-ALL での p53 変異は約 30%であり、残りの 70%には変異がみられない。p53 変異をもたない T-ALL では、BCL11B 変異がその代替えとして役割を担う可能性が示唆される。

(照射後の細胞増殖への影響) : Bcl11b^{KO/+}マウスに 12Gy、1 回の全身照射を行い、16 時間後に腸管上皮細胞の増殖と移動を観察した。野生型マウスでは照射により、移動の抑制が強く観察されたが、Bcl11b^{KO/+}マウスではその抑制は減弱していた。この移動の抑制は増殖の抑制に起因すると考えられる。すなわち、Bcl11b^{KO/+}遺伝子型が照射による細胞増殖、細胞移動の障害に影響を与えることを意味する。BrdU 取り込み実験では増殖抑制が顕著に見られたのは、いわゆる幹細胞領域にある細胞であった。この細胞の増殖は主に Wnt/ β -catenin 経路により調節される。そこで、TOP/GAL マウスを用い、12Gy 照射後 24 時間の影響をみると、GAL 陽性細胞は増加していることがわかった。すなわち、幹細胞は照射により増殖していること、細胞分裂が抑制されるのではなく、むしろ活性化されることがわかった。Bcl11b^{KO/+}マウスは腸管腫瘍形成を促進するという結果からは、その機構を明らかにする一つのヒントが得られた。すなわち、Bcl11b^{KO/+}マウスの腸管では、形態、増殖性に変化はみられないが、12Gy の γ 線を照射すると、細胞増殖停止 (細胞周期停止の減弱を反映する) が観察される。今回の結果は、Lgr5 発現陽性細胞でのみ Bcl11b 片アレル消失する、Lgr5-Cre;Bcl11b^{fllox/+}マウスでも同様にこの減弱が観察された。このことは、Lgr5 発現陽性細胞 (腸管幹細胞の有力候

補であり、発がんの母細胞と考えられている)で、Bcl11b が量的に半減することが、発がんに貢献することを示している。

前述したように、Bcl11b の片アレルを消失した胸腺細胞でも細胞周期停止の減弱が観察されている。1Gy (または 3Gy) の γ 線を照射すると、細胞周期停止の減弱が観察され、胸腺細胞特異的に Bcl11b の片アレル消失させる系 (Lck-Cre; Bcl11b^{fllox/+}マウス) でも、減弱が観察されている。Bcl11b の片アレルではなく、両アレルが消失する Lgr5-Cre; Bcl11b^{fllox/+}マウスを作製し、実験した。腸管腫瘍形成という点では両アレル欠損はみられず (ハプロ不全型のがん抑制遺伝子であるため)、Bcl11b の完全消失は腫瘍形成にはむしろ負に働くと考えられている。Bcl11b 発現を消失したクリプトは維持能低下を引き起こし、Bcl11b 発現消失幹細胞は存続能が低下したという結果が得られた。この低下は腫瘍形成に負に働くという予想と一致する。

(17)大腸腫瘍の化学予防法の確立: 本邦において大腸がんは増加しており、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ため、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。前向き無作為化試験により有効性を実証する必要がある。現在、ポリペクトミーによりクリーンコロソとなった患者を対象にポリープの再発をエンドポイントとしたメトホルミンとプラセボを用いた無作為対照前向き試験を実施中である。

EPA の抗大腸腫瘍効果の機序は不明な点が多いが、G 蛋白共役受容体 120 (GPR120) を介したシグナル経路が大腸腫瘍抑制に重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。今後 GPR120 欠損マウスを用いた発癌実験により、効果判定および作用機序解明を行う予定である。EPA は脂質異常症治療薬として臨床応用されており、安全性が確立しているため、大腸腫瘍抑制への適応拡大が十分見込まれる。

E. 結論

ラット大腸発がんモデルを用いて、Caspase3 の発現量が化学発がんの感受性に直接影響を与えることを証明した。遺伝的要因と環境要因の相互作用に影響を与える遺伝的要因が存在することを明らかにした。また、早期病変の新規かつ簡便な同定法や化学物質の大腸発がん性予測法を確立した。マウス細胞レベル大腸発がんモデルを確立し、個体レベルの発がんモデルを補完・代替する新規手法として有用と考えられた。これらの知見や手法を用いて統合的に発がん過程を解析することで、その分子機構の詳細を解明する過程が加速することが期待される。遺伝的要因のみならず、化学物質や炎症など、環境要因の腸管発がんへの影響も本実験系で検証可能であることを見出した。発がんの初期過程の解析が大きく進展することが期待される。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。本研究における動物の個体・細胞を用いた解析を通じて、大腸発がんの初期過程で起きている遺伝的因子と環境因子の相互作用に関する知見が集積されてきている。特に、PhIP を起点とした SND1-Caspase3 の関連は大腸発がん研究においてこれまでに知られていない切り口といえる。モデル動物と同様の現象が観察されるかについては、ヒトでも個別に検証可能であり、そこを新たな切り口として発がん研究が展開されることが期待される。

PARP 阻害剤のガンマ線及び炭素線への増感効果は塩基除去修復経路の阻害による亜致死性の酸化的 DNA 損傷の致死的な損傷へ転換によることが示唆された。PARP 阻害剤の効果には、DNA 修復阻害だけでなくゲノムワイドな DNA 脱メチル化誘導をはじめとするエピゲノム変化誘導も含まれることが示唆された。PARP 阻害剤によるエピゲノム変化誘導においては Parp-1 分子が主要な標的であることが示唆された。がん幹細胞集団は spheroid 形成条件下では薬剤やガンマ線に抵抗性を

示すが、PARP 阻害剤は DNA 修復とエピジェネティック制御阻害という複数の機構から放射線増感効果を示し、有効である可能性が示唆された。PARP 阻害剤は正常幹細胞からの不死化過程で細胞死を誘導することから、早期の制がんに応用できる可能性が示された。一方で、PARP 阻害剤は胚細胞腫瘍の成長を支持し、転移や浸潤性とも関連する trophoblast 系譜の誘導を *HI9* の発現を介して起こしうするため、胚細胞腫瘍に対しての使用は慎重な検討が必要であることが示唆された。

炎症反応依存的に胃がんを発生する Gan マウスを用いた解析により、細菌感染刺激が腫瘍組織の炎症性微小環境形成に重要であることが明らかになった。すなわち、COX-2/PGE₂ シグナルと細菌感染による自然免疫反応の相互作用が、発がん促進に作用する炎症性微小環境形成に重要と考えられた。さらに、炎症反応に依存した腫瘍細胞における microRNA 発現制御について、Gan マウス胃がん組織や、K19-C2mE マウス胃炎組織を用いて網羅的解析により研究を推進した。その結果、炎症反応の作用により腫瘍細胞における microRNA 発現は大きく変動している事が明らかになった。本研究では、炎症依存的に発現抑制する miR-7 と、炎症依存的に発現誘導して発がん促進に作用する miR-135b を特定した。胃がん細胞における miR-7 の発現誘導、または miR-135b の発現抑制実験により、足場非依存的増殖能が低下するなどの腫瘍原性低下が認められた事から、その発現変化が胃がん発生に重要に関与していると考えられた。これらの microRNA は、将来的に胃がんの予防または治療の標的分子として重要である可能性が示された。

Apc 遺伝子に変異をもつ KAD ラットを用いることで、APC が大腸粘膜における血管新生に関与していることが明らかとなり、新たな APC の機能が発見された。また、抗癌剤、抗炎症剤、がん抑制物質の評価試験を開発することができた。今後、KAD ラットを用いて、APC の生体内での機能、並びに、新たな大腸がん・大腸炎の予防・治療法が開発されると期待さ

れる。

腸管腫瘍細胞における mTORC1 の活性化には JNK の活性化が必要かつ十分であること、JNK は c-Jun の活性化と mTORC1 の活性化という二つの機序を用いて腸管腫瘍の成長を促進する可能性が示唆された。Raptor のセリン 863 残基は mTOR によりリン酸化されて mTORC1 の更なる活性化を引き起こすことが報告されていたが、本研究により JNK による mTORC1 活性化機序に関与することが分かった。RAD001、AZD8055 とともに腺がんの浸潤は阻害しなかったが、AZD8055 投与下の *cis-Apc/Smad4* マウスの腸がんでは EGFR/PI3K/AKT 経路が活性化されていた。大腸がん細胞に AZD8055 を添加しても同経路が活性化され、その活性化は erlotinib により阻害されたことから、EGFR/PI3K/AKT 経路の活性化が浸潤部位における阻害薬耐性に寄与する可能性が示唆された。

環境発がん物質により誘発される DNA 損傷応答が及ぼす細胞周期への影響について研究した。モデル化合物としては加熱食品に含まれる発がん物質である PhIP を使用した。これを種々の濃度で、ラット初代培養細胞へ投与したところ、今回の研究で採用した最低濃度である 100nM の濃度まで DDR を検出できたことから、ヒトにおける影響を検討できる道筋がついた。しかしながら、本研究は細胞レベルの結果であり、今後は動物個体での影響を検討する必要がある。さらに、ヒトへの影響を追求するためには、より感度の高い DDR 検出法を開発する必要があるであろう。

Msh2 遺伝子欠損マウスを用いた臭素酸カリウム投与による酸化ストレス誘発消化管発がん実験の結果から、酸化ストレスを付与されたミスマッチ修復系の欠損個体では、複製エラーや 8-oxoG 以外の損傷に起因する突然変異が蓄積したがん前駆体細胞が、酸化ストレス負荷の大きい消化管では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示唆された。なお、本文中の表 1、表 2、図 1 は、以下の F. 研究発表に記載した Piao, J. らの論文からの引用である。

YPAC の応用により安定的な ES 細胞の培養を可能とし、Oct4-Venus トランスジェニックラット、p53 遺伝子 KO ラットの作製に成功し、今後様々な遺伝子改変ラットの作製が期待できる。作製した p53 KO ラットは乳癌、精巣がん、骨肉腫など多様ながんが発症し、今後の環境因子による化学発がん機序の解明のための有用なモデル動物となる。更に我々はこれらの原発腫瘍から細胞株の樹立に成功しており、KO ラット個体のみならず、細胞リソースの提供も行なっていくことが出来る。YPAC を用いたラット ES 細胞の樹立および ZFN 法の応用は、マウスとは異なる表現型を示すラットにおける遺伝子の機能解析に強力なツールとなることが示唆された。また、p53 遺伝子 KO ラットは環境中の発生、発がん性への影響を及ぼす物質に対する感受性が亢進していると予想され、スクリーニングへの応用が期待される。また、p53 遺伝子 KO ラットで自然発症したがんから、YPAC による細胞の株化が可能になったことから、がん患者から摘出したがん組織由来の、元の性質を保持した細胞株の樹立に応用できると予想される。これらの癌細胞株の樹立は、より多様ながん細胞を使用する抗癌剤のスクリーニングや、がん細胞の増殖・分化、さらにはがん幹細胞の維持などの機序解明に貢献することが期待される。

ヒト T-ALL モデルであるマウス胸腺リンパ腫の発がん母細胞は、DN2 分化段階以降で DP 分化段階までの細胞であることがわかった。これらの細胞の放射線照射後の細胞周期停止を調べると、片アレルを消失により S 期から G1 期への細胞周期進行の停止が減弱することがわかった。一方、腸管の Lgr5 発現幹細胞でのみ Bcl11b 片アレル消失するマウスでも、放射線照射後の細胞増殖停止の減弱と損傷からの早期回復が観察された。これらの増殖調節の異常という共通性は、Bcl11b が担う発がん修飾機構の一つと考えられた。次に、T-ALL で報告された BCL11B 変異の影響を検討したが、変異は抑制効果を減弱し、それは p53 依存性を示した。これらの知見は、放射線

暴露健康リスクへのより適切な評価の基盤となるはずである。

本邦において大腸がんは増加しており、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側面を持つため、これらの改善およびメトホルミンなど抗糖尿病薬や EPA が大腸発がん予防となる可能性がある。前向き無作為化試験により有効性を実証する必要があり、現在そのための臨床試験を実施中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Ochiai M, Hippo Y*, Izumiya M, Watanabe M, Nakagama H. Newly Defined Aberrant Crypt Foci as a Marker for Dysplasia in the Rat Colon. *Cancer Sci.* in press (* corresponding author) 2014
- (2) Igarashi M, Hippo Y*, Ochiai M, Fukuda H, Nakagama H. AKT is critically involved in cooperation between obesity and the dietary carcinogen amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] (PhIP) toward colon carcinogenesis in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 443(3):852-7. (* corresponding author) 2014
- (3) Onuma K, Ochiai M, Orihashi K, Takahashi M, Imai T, Nakagama H, Hippo Y. Genetic reconstitution of tumorigenesis in primary intestinal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110(27):11127-32. 2013
- (4) Lin CJ, Nasr Z, Premsrirut PK, Porco JA Jr, Hippo Y, Lowe SW, Pelletier J. Targeting synthetic lethal interactions between Myc and the eIF4F complex impedes tumorigenesis. *Cell Rep.* 1(4):325-33, 2012.
- (5) Takasu S, Mutoh M, Takahashi M, Nakagama H. Lipoprotein lipase as a candidate target for cancer

- prevention/therapy. *Biochem Res Int.* 2012:1-8. 2012
- (6) Tsuchiya N, Izumiya M, Ogata-Kawata H, Okamoto K, Fujiwara Y, Nakai M, Okabe A, Schetter AJ, Bowman ED, Midorikawa Y, Sugiyama Y, Aburatani H, Harris CC, Nakagama H. Tumor suppressor miR-22 determines p53-dependent cellular fate through post-transcriptional regulation of p21. *Cancer Res*, 71:4628-4639, 2011.
- (7) Izumiya M, Tsuchiya N, Okamoto K, Nakagama H. Systematic exploration of cancer-associated microRNA through functional screening assays. *Cancer Science*, 102:1615-1621, 2011.
- (8) 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.
- (9) 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.
- (10) Tsuchiya N, Nakagama H. MicroRNA, SND1, and alterations in translational regulation in colon carcinogenesis. *Mutation Research* 693:94-100, 2010.
- (11) 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).
- (12) 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).
- (13) 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).
- (14) Hirai T, Shirai H, Fujimori H, Okayasu R, Sasai K, Masutani, M. Radiosensitization effect of PARP inhibitor in cells exposed to low and high LET radiation. *Cancer Sci*, 2012, 103:1045-1050.
- (15) Osada T, Masutani, M. PolyADP-ribosylation in postfertilization and genome reprogramming: implications for carcinogenesis. In: A. S. Gomes Ed. *Polymerization / Book 1, Rijeka, Croatia: In Tech, Chapter 14*, p321-330.
- (16) Fujimori H., Shikanai M., Teraoka H., Masutani M., Yoshioka K. Induction of cancerous stem cells during embryonic stem cell differentiation. *J Biol Chem*, 2012, 287(44): 36777-91.
- (17) Osada T., Rydén A.M., Masutani M. Poly(ADP-ribosylation) regulates

- chromatin organization through histone H3 modification and DNA methylation of the first cell cycle of mouse embryos. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 434:15-21.
- (18) Osawa T., Atsumi Y., Sugihara E., Saya H., Kanno M., Tashiro F., Masutani M. Yoshioka K. Arf and p53 act as guardians of a quiescent cellular state by protecting against immortalization of cells with stable genomes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 432(1):34-9.
- (19) Fujimori H, Mukai H, Murakami Y, Hemberger M, Hippo Y, Masutani M. The *H19* induction triggers trophoblast lineage commitment in mouse ES cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 436(2):313-8.
- (20) Nozaki T, Fujimori H, Wang J, Suzuki H, Imai H, Watanabe M, Ohura K, Masutani M. Parp-1 deficiency in ES cells promotes invasive and metastatic lesions accompanying induction of trophoblast giant cells during tumorigenesis in uterine environment. *Pathol Int*, 2013, 63(8):408-14.
- (21) Masutani M. Fujimori H. Poly(ADP-ribosylation) in carcinogenesis. *Mol Aspects Med*, 2013, 34(6):1202-16.
- (22) Oshima, H., and Oshima, M. The role of PGE₂-associated inflammatory responses in gastric cancer development. *Semin Immunopathol*, 35: 139-150 (2013).
- (23) 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).
- (24) 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).
- (25) Fujita, H., Hamazaki, Y., Noda, Y., Oshima, M., and Minato, N. Claudin-4 deficiency results in urothelial hyperplasia and lethal hydronephrosis. *PLoS one*, 8: e78961 (2013).
- (26) Wada, T., Ishimoto, T., Seishima, R., Tsuchihashi, K., Yoshikawa, M., Oshima, H., Oshima, M., Masuko, T., Wright, NA., Furuhashi, S., Hirashima, K., Baba, H., Kitagawa, Y., Saya, H., and Nagano, O. Functional role of CD44v-xCT system in the development of spasmodic. *Cancer Sci*, 104: 1323-1329 (2013).
- (27) Kong D, Piao YS, Yamashita S, Oshima H, Oguma K, Fushida S, Fujimura T, Minamoto T, Seno H, Yamada Y, Satou K, Ushijima T, Ishikawa T, and Oshima M. Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric tumor cells. *Oncogene*, 31: 3949-3960 (2012)
- (28) Tye H, Kennedy CL, Najdovska M, McLeod L, McCormach W, Hughes N, Dev A, Sievert W, Ooi CH, Ishikawa TO, Oshima H, Bhathal PS, Parker A, Oshima M. Tan P, and Jenkins B. STAT3-driven upregulation of TLR2 promotes gastric tumorigenesis independent of tumor inflammation. *Cancer Cell*, 22: 466-478 (2012)
- (29) Oshima H and Oshima M. The inflammatory network in the gastrointestinal tumor microenvironment: lessons from

- mouse models. *J Gastroenterol*, 47: 97-106 (2012)
- (30) Oshima, H., Popivanova, B.K., Oguma, K., Kong, D., Ishikawa, T., 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)
- (31) Ishimoto, T., Nagano, O., Yae, T., Tamada, M., Motohara, T., Oshima, H., Oshima, M., Ikeda, T., Asaba, R., Yagi, H., Masuko, T., Shimizu, T., Ishikawa, T., Kai, K., Takahashi, E., Imamura, Y., Baba, Y., Ohmura, M., Suematsu, M., Baba, E., and Saya, H. CD44 variant regulates redox status in cancer cells by stabilizing the xCT subunit of xc⁻ and thereby promotes tumor growth. *Cancer Cell*, 19: 387-400 (2011)
- (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 metaplasia by Aes through inhibition of Notch signaling. *Cancer Cell*, 19: 125-137 (2011)
- (33) 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).
- (34) Oshima, H., and Oshima, M. Mouse models of gastric tumors: Wnt activation and PGE₂ induction. *Pathol. Int.*, 60: 599-607, 2010.
- (35) Oguma, K., Oshima, H., and Oshima, M. Inflammation, tumor necrosis factor and Wnt promotion in gastric cancer development. *Future Oncol.*, 6: 515-526, 2010.
- (36) Kuramoto T., Kuwamura M, Tagami F, Mashimo T, Nose M, Serikawa T. Kyoto rhino rats derived by ENU mutagenesis undergo congenital hair loss and exhibit focal glomerulosclerosis. *Exp Anim*. 2011;60(1):57-63.
- (37) Kuramoto T., Kuwamura M, Tokuda S, Izawa T, Nakane Y, Kitada K, Akao M, Guénet JL, Serikawa T. A mutation in the gene encoding mitochondrial Mg²⁺ channel MRS2 results in demyelination in the rat. *PLoS Genet*. 2011;7(1):e1001262.
- (38) Kuramoto T., Yokoe M, Hashimoto R, Hiai H, Serikawa T. A rat model of hypohidrotic ectodermal dysplasia carries a missense mutation in the *Edaradd* gene. *BMC Genet*. 2011;12(1):91.
- (39) Kazuto Yoshimi, Takao Hashimoto, Yusuke Niwa, Kazuya Hata, Tadao Serikawa, Takuji Tanaka, Takashi Kuramoto. Use of a chemically induced-colon carcinogenesis prone *Apc*-mutant rat as a chemotherapeutic bioassay. *BMC Cancer*, 2012;12(1):448.
- (40) Kazuto Yoshimi, Takuji Tanaka, Tadao Serikawa, Takashi Kuramoto. Tumor suppressor APC protein is essential in mucosal repair from colonic inflammation through angiogenesis. *Am J Pathol*, 2013;182(4):1263-74.
- (41) 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)
- (42) 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)
- (43) 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)
- (44) 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)
- (45) Fujishita, T., Aoki, M., and Taketo, M.M. JNK signaling promotes intestinal tumorigenesis through activation of mTOR complex 1 in Apc Δ 716 mice. Gastroenterology, 140:1556-1563 (2011).
- (46) Sakuma, K., Aoki, M., and Kannagi R. Transcription factors c-Myc and CDX2 mediate E-selectin ligand expression in colon cancer cells undergoing EGF/bFGF-induced epithelial-mesenchymal transition. Proc Natl Acad Sci USA, 109:7776-7781 (2012).
- (47) 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).
- (48) Uchida S, Watanabe N, Kudo Y, Yoshioka K, Matsunaga T, Ishizaka Y, Nakagama H, Poon RYC, and Yamashita K. SCF^{bTrCP} mediates stress-activated MAP kinases-induced Cdc25B degradation. J. Cell Sci., 124: 2816-2825 (2011).
- (49) 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*)
- (50) 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*)
- (51) 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
- (52) Lim, T.-H., Fujikane, R., Sano, S., Sakagami, R., Nakatsu, Y., Tsuzuki, T., Sekiguchi, M., and Hidaka, M. Activation of AMP-activated protein kinase by MAPO1 and FLCN induces apoptosis triggered by

- alkylated base mismatch in DNA. *DNA Repair*, 11: 259-266, 2012
- (53) 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 (Note). *Health Physics*, 100: 293-294, 2011
- (54) 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. *Genes, Brain Behavior*, 9: 899-909, 2010
- (55) 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.
- (56) Fujita, Y., Takeshita, F., Mizutani, T., Ohgi, T., Kuwano, K., Ochiya, T. A novel platform to enable inhaled naked RNAi medicine for lung cancer. *Sci. Rep.*, 3: 3325 (2013).
- (57) Takahashi, RU., Takeshita, F., Honma, K., Ono, M., Kato, K., Ochiya, T. Ribophorin II regulates breast tumor initiation and metastasis through the functional suppression of GSK3 β . *Sci. Rep.*, 3: 2474 (2013).
- (58) Uchino, K., Ochiya, T., Takeshita, F. RNAi therapeutics and applications of microRNAs in cancer treatment. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 43: 596-607 (2013).
- (59) Katsuda, T., Kosaka, N., Takeshita, F., Ochiya, T. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Proteomics*, 13: 1637-1653 (2013).
- (60) 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).
- (61) 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).
- (62) Uchino, K., Takeshita, F., Takahashi, RU., Kosaka, N., Fujiwara, K., Naruoka, H., Sonoke, S., Yano, J., Sasaki, H., Nozawa, S., Yoshiike, M., Kitajima, K., Chikaraishi, T., Ochiya, T. Therapeutic effects of microRNA-582-5p and -3p on the inhibition of bladder cancer progression. *Mol Ther.*, 21: 610-619 (2013).
- (63) Fujita, T., Yanagihara, K., Takeshita, F., Aoyagi, K., Nishimura, T., Takigahira, M., Chiwaki, F., Fukagawa, T., Katai, H., Ochiya, T., Sakamoto, H., Konno, H., Yoshida, T., Sasaki, H. Intraperitoneal delivery of a small interfering RNA targeting NEDD1 prolongs the survival of scirrhous gastric cancer model mice. *Cancer Sci.*, 104: 214-222 (2013).

- (64) Fujita, Y., Takeshita, F., Kuwano, K., Ochiya, T. RNAi Therapeutic Platforms for Lung Diseases. *Pharmaceuticals*, 6: 223-225 (2013).
- (65) Katsuda, T., Tsuchiya, R., Kosaka, N., Yoshioka, Y., Takagaki, K., Oki, K., Takeshita, F., Sakai, Y., Kuroda, M., Ochiya, T. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells secrete functional neprilysin-bound exosomes. *Sci. Rep.*, 3: 1197 (2013).
- (66) 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).
- (67) Takeshita, F., Takahashi, RU., Onodera, J., Ochiya, T. In vivo imaging of oligonucleotide delivery. *Methods Mol. Biol.*, 872: 243-253 (2012).
- (68) Hong, J., He, H., Bui, P., Ryba-White, B., Rumi, M.A., Soares, M.J., Dutta, D., Paul, S., Kawamata, M., Ochiya, T., Ying, Q.L., Rajanahalli, P. and Weiss, M.L.: A focused microarray for screening rat embryonic stem cell lines. *Stem Cells Dev.*, 22:431-443 (2013). (連携研究者の川又、落谷らによる発表)
- (69) Kawamata, M. and Ochiya, T.: Two distinct knockout approaches highlight a critical role for p53 in rat development. *Sci. Rep.*, 2:945 (2012). (連携研究者の川又、落谷らによる発表)
- (70) Hagiwara, K., Kosaka, N., Yoshioka, Y., Takahashi, RU., Takeshita, F. and Ochiya, T.: Stilbene derivatives promote Ago2-dependent tumour-suppressive microRNA activity. *Sci. Rep.*, 2:314 (2012).
- (71) Hirose, Y., Saijou, E., Sugano, Y., Takeshita, F., Nishimura, S., Nonaka, H., Chen, Y.R., Sekine, K., Kido, T., Nakamura, T., Kato, S., Kanke, T., Nakamura, K., Nagai, R., Ochiya, T. and Miyajima, A.: Inhibition of Stabilin-2 elevates circulating hyaluronic acid levels and prevents tumor metastasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109:4263-4268 (2012).
- (72) Narumi, K., Udagawa, T., Kondoh, A., Kobayashi, A., Hara, H., Ikarashi, Y., Ohnami, S., Takeshita, F., Ochiya, T., Okada, T., Yamagishi, M., Yoshida, T. and Aoki, K.: In vivo delivery of interferon- α gene enhances tumor immunity and suppresses immunotolerance in reconstituted lymphopenic hosts. *Gene Ther.*, 19:34-48 (2012).
- (73) Kosaka, N., Iguchi, H., Yoshioka, Y., Hagiwara, K., Takeshita, F. and Ochiya, T.: Competitive interactions of cancer cells and normal cells via secretory microRNAs. *J. Biol. Chem.*, 287:1397-1405 (2011).
- (74) Yamamoto, Y., Yoshioka, Y., Minoura, K., Takahashi, RU., Takeshita, F., Taya, T., Horii, R., Fukuoka, Y., Kato, T., Kosaka, N. and Ochiya, T.: An integrative genomic analysis revealed the relevance of microRNA and gene expression for drug-resistance in human breast cancer cells. *Mol. Cancer*, 10:135 (2011).
- (75) Kawamata M. and Ochiya T. Gene-manipulated embryonic stem cells for rat transgenesis. *Cell*

- Mol Life Sci., 68:1911-1915 (2011).
(連携研究者の川又、落谷らによる発表)
- (76) Kawamata M. and Ochiya T. Establishment of Embryonic Stem Cells and Generation of Genetically Modified Rats. *INTECH*, 383-396 (2011). (連携研究者の川又、落谷らによる発表)
- (77) 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).
- (78) 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).
- (79) 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)
- (80) Go R, Hirose S, Katsuragi Y, Obata M, Abe M, Mishima Y, Sakimura K, Kominami R. Cell of origin in radiation-induced premalignant thymocytes in mice conditionally losing one Bcl11b allele. *Cancer Sci.* 104: 1009-1016 (2013).
- (81) Katsuragi Y, Anraku J, Nakatomi M, Ida-Yonemochi H, Obata M, Mishima Y, Sakuraba Y, Gondo Y, Kodama Y, Nishikawa A, Takagi R, Ohshima H, Kominami R. Bcl11b transcription factor plays a role in the maintenance of the ameloblast-progenitors in mouse adult maxillary incisors. *Mech Dev.* 130: 482-492 (2013).
- (82) Tanaka H, Naito T, Muroi S, Seo W, Chihara R, Miyamoto C, Kominami R, Taniuchi I. Epigenetic Thpok silencing limits the time window to choose CD4+ helper-lineage fate in the thymus. *EMBO J.* 32: 1183-1194 (2013).
- (83) Okumura K, Sato M, Saito M, Miura I, Wakana S, Mao JH, Miyasaka Y, Kominami R, Wakabayashi Y. Independent genetic control of early and late stages of chemically induced skin tumors in a cross of a Japanese wild-derived inbred mouse strain, MSM/Ms. *Carcinogenesis* 33: 2260-2268 (2012).
- (84) Go R, Takizawa K, Hirose S, Katsuragi Y, Aoyagi Y, Mishima Y, Kominami R. Impairment in differentiation and cell cycle of thymocytes by loss of a Bcl11b tumor suppressor allele that contributes to leukemogenesis. *Leuk Res.* 36: 1035-1040 (2012).
- (85) Kominami, R. Role of the transcription factor Bcl11b in development and lymphomagenesis. *Proc Jpn Acad Ser B.* 88:72-87 (2012).
- (86) Obata, M., Kominami, R., Mishima. Y. BCL11B tumor suppressor inhibits HDM2 expression in a p53-dependent manner. *Cell Signal.* 24:1047-1052 (2012).
- (87) Enomoto, T., Ohmoto, M., Iwata, T., Uno, A., Saitou, M., Yamaguchi, T., Kominami, R., Matsumoto, I., Hirota, J. Bcl11b/Ctip2 controls the differentiation of vomeronasal sensory neurons in mice. *J Neurosci.* 31:10159-10173 (2011).
- (88) Okumura H, Miyasaka Y, Morita Y, Nomura T, Mishima Y, Takahashi S,

- Kominami R. Bcl11b heterozygosity leads to age-related hearing loss and degeneration of outer hair cells of the mouse cochlea *Exp Anim.* 60:355-361 (2011).
- (89) Ikawa T, Hirose S, Masuda K, Kakugawa K, Satoh R, Shibano-Satoh A, Kominami R, Katsura Y, Kawamoto H. An essential developmental checkpoint for production of the T cell lineage. *Science.* 329:93-96 (2010).
- (90) Endo H, Hosono K, Uchiyama T, Sakai E, Sugiyama M, Takahashi H, Nakajima N, Wada K, Takeda K, Nakagama H, Nakajima A. Leptin acts as a growth factor for colorectal tumours at stages subsequent to tumour initiation in murine colon carcinogenesis. *Gut.* 2011 Oct;60(10):1363-71.
- (91) Sakai E, Takahashi H, Kato S, Uchiyama T, Hosono K, Endo H, Maeda S, Yoneda M, Taguri M, Nakajima A. Investigation of the prevalence and number of aberrant crypt foci associated with human colorectal neoplasm. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011 Sep;20(9):1918-24.
- (92) 高橋宏和、藤井徹朗、山田英司、大久保秀則、日暮琢磨、酒井英嗣、細野邦広、遠藤宏樹、中島淳 特集／外来で診る肥満症 肥満の合併症が 臨床と研究・88 巻 7 号 p.43(829)-46(832) 出版社 大道学館 2011年7月20日発行
- (93) 中島淳、細野邦広、遠藤宏樹、高橋宏和 特集 AMP キナーゼと糖・脂質・エネルギー代謝 update AMP キナーゼと癌 内分泌・糖尿病・代謝内科 第33巻 第2号 p.115-122 科学評論社 2011年8月28日発行
- (94) 高橋宏和、細野邦広、中島淳 大腸線種切除後の再発予測因子としての aberrant crypt foci の検討 日本消化器がん検診学会雑誌 第49巻5号(210)2011
- (95) Ohkubo H, Takahashi H, Yamada E, Sakai E, Higurashi T, Uchiyama T, Hosono K, Endo H, Taguri M, Nakajima A: Natural history of human aberrant crypt foci and correlation with risk factors for colorectal cancer. *Oncol Rep,* 27(5): 1475-1480, 2012
- (96) Higurashi T, Takahashi H, Endo H, Hosono K, Yamada E, Ohkubo H, Sakai E, Uchiyama T, Hata Y, Fujisawa N, Uchiyama S, Ezuka A, Nagase H, Kessoku T, Matsushashi N, Nakayama S, Inayama Y, Morita S, Nakajima A: Metformin efficacy and safety for colorectal polyps: a double-blind randomized controlled trial. *BMC Cancer,* 12(1): 118, 2012.
- (97) Higurashi T, Hosono K, Endo H, Takahashi H, Iida H, Uchiyama T, Ezuka A, Uchiyama S, Yamada E, Ohkubo H, Sakai E, Maeda S, Morita S, Natsumeda Y, Nagase H, Nakajima A: Eicosapentaenoic acid (EPA) efficacy for colorectal aberrant crypt foci (ACF): a double-blind randomized controlled trial. *BMC Cancer,* 12(1): 413, 2012.
- (98) Uchiyama T, Takahashi H, Endo H, Kato S, Sakai E, Hosono K, Yoneda M, Inamori M, Hippo Y, Nakagama H, Nakajima A: Number of aberrant crypt foci in the rectum is a useful surrogate marker of colorectal adenoma recurrence. *Dig Endosc,* 24(5):353-357, 2012.
- (99) Hosono K, Yamada E, Endo H, Takahashi H, Inamori M, Hippo Y, Nakagama H, Nakajima A: Increased tumor necrosis factor receptor 1 expression in human colorectal adenomas. *World J Gastroenterol,* 18(38): 5360-5368, 2012.

- (100) Uchiyama T, Takahashi H, Endo H, Sakai E, Hosono K, Nagashima Y, Nakajima A: IL-6 plays crucial roles in sporadic colorectal cancer through the cytokine networks including CXCL7 PP. *J Cancer Ther*, 3(6): 874-879, 2012.
- (101) Takahashi H, Yamada E, Ohkubo H, Sakai E, Higurashi T, Uchiyama T, Hosono K, Endo H, Nakajima A: Relationship of human rectal aberrant crypt foci and formation of colorectal polyp: One-year following up after polypectomy. *World J Gastrointest Endosc*, 4(12): 561-564, 2012.
- (102) 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, Nakajima A, 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*. 2013;60(8):991-1000.
- (103) Kurita Y, Koide T, Watanabe S, Ogawa T, Sekino Y, Iida H, Nonaka T, Kusakabe A, Gotoh E, Maeda S, Nakajima A, Inamori M. Postpyloric decompression tube placement through a gastrostomy for malignant bowel obstruction. *BMC Res Notes*. 2013 Jun 3;6:217.
- (104) 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, Nakajima A. Soluble CD14 Levels Reflect Liver Inflammation in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *PLoS One*. 2013 Jun 7;8(6):e65211.
- (105) Ezuka A, Kawana K, Nagase H, Takahashi H, Nakajima A. Improvement of pneumatosis cystoides intestinalis after steroid tapering in a patient with bronchial asthma: a case report. *J Med Case Rep*. 2013 Jun 26;7(1):163.
- (106) Watanabe S, Sato T, Kato S, Hosono K, Kobayashi N, Nakajima A, Kubota K. Positioning of nasobiliary tube using magnet-loaded catheters. *Endoscopy*. 2013;45(10):835-7.
- (107) Hirata K, Wada K, Murata Y, Nakajima A, Yamashiro T, Kamisaki Y. Critical role of leukotriene B4 receptor signaling in mouse 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Lipids Health Dis*. 2013 Aug 9;12(1):122.
2. 学会発表
- (1) Kaoru Orihashi, Kunishige Onuma, Tetsuya Matsuura, Masako Ochiai, Toshio Imai, Hitoshi Nakagama and Yoshitaka Hippo. STAT3 Activation Underlies Transformation of Primary Intestinal Epithelial Cells by APC Suppression. 第72回日本癌学会総会(横浜)2013年10月
- (2) Tetsuya Matsuura, Kaoru Orihashi, Masako Ochiai, Toshio Imai, Hitoshi Nakagama and Yoshitaka Hippo. Genetic Reconstitution of Kras-driven Tumorigenesis in Primary Pancreatic Ductal Cells and Cholangiocytes. 第72回日本癌学会総会(横浜)2013年10月
- (3) Masako Ochiai, Masatoshi Watanabe, Hitoshi Nakagama and Yoshitaka Hippo. Aberrant Crypt Foci-based Seamless Grading of the Early

- Lesions in Rat Colon Carcinogenesis. 第72回日本癌学会総会(横浜)2013年10月(口演)
- (4) Yoshitaka Hippo, Kaoru Orihashi, Masako Ochiai, Toshio Imai, and Hitoshi Nakagama. Lentivirus-based Generation of Adenocarcinoma from Primary Murine Lung Cells. 第72回日本癌学会総会(横浜)2013年10月(口演)
- (5) 小沼邦重、筆宝義隆、土橋祥子、折橋郁、中釜齊: *in vitro*におけるマウス腸管上皮細胞を用いた発がん再構成. 平成24年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ(2013年2月大津)
- (6) 筆宝義隆、落合雅子、岡本康司、中釜齊: ラット大腸における長期発がん性と関連するmicroRNA発現誘導. 平成24年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ(2013年2月大津)
- (7) Yoshitaka Hippo, Kunishige Onuma, Masako Ochiai, Toshio Imai, Hitoshi Nakagama: Lentivirus-based Genetic Reconstitution of Tumorigenesis in Primary Intestinal Cells. 第10回国際フォスファターゼ学会(2013年2月東京)
- (8) Yoshitaka Hippo and Hitoshi Nakagama: Genetic Reconstitution of Tumorigenesis in Murine Primary Intestinal Cell. 第9回日米癌学会合同会議(2013年2月米国ハワイ)
- (9) Yoshitaka Hippo, Kunishige Onuma, Masako Ochiai, and Hitoshi Nakagama, K-ras Activation Accelerates Apc-dependent Intestinal Tumorigenesis Reconstituted In Vitro. 第71回日本癌学会学術総会(2012年9月札幌)
- (10) 小沼邦重、筆宝義隆、落合雅子、中釜齊: マウス腸管発がん再構成系を用いて作製した腫瘍の解析. 第71回日本癌学会学術総会(2012年9月札幌)
- (11) 落合雅子、小沼邦重、筆宝義隆、中釜齊: マウス正常腸管細胞を用いた *in vitro* 化学発がんモデルの検討. 第71回日本癌学会学術総会(2012年9月札幌)
- (12) 小沼邦重、筆宝義隆、落合雅子、中釜齊: レンチウイルスを用いたマウス腸管細胞での発がん再構成. 第27回発がん病理研究会(2012年8月修善寺)
- (13) 筆宝義隆: 「マウス初代培養細胞の *in vitro* 発がん再構成系」を用いた化合物発がん性予測法の開発. 第1回新LRI研究報告会(2012年8月東京)
- (14) 小沼邦重、筆宝義隆、土橋祥子、落合雅子、稲瀬安希、中釜齊 *in vitro* 腸発がん再構成系における炎症の発がん促進作用. 平成23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(2012年1月)
- (15) 稲瀬安希、筆宝義隆、小沼邦重、土橋祥子、落合雅子、中釜齊 *in vitro* 発がん再構成系を用いたMSH2欠損関連大腸発がん経路の解析. 平成23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(2012年1月)
- (16) 小沼邦重、筆宝義隆、中釜齊 *In vitro* reconstitution of inflammation-related colon carcinogenesis. 第16回日韓がん研究ワークショップ、札幌(2011年12月)
- (17) 筆宝義隆、中釜齊 腸管発がんの *in vitro* 再構成. 第70回日本癌学会学術総会、名古屋(2011年10月)
- (18) 小沼邦重、土橋祥子、落合雅子、中釜齊、筆宝義隆 Dissecting potential roles of inflammation in carcinogenesis with *in vitro* reconstitution model. 第70回日本癌学会学術総会、名古屋(2011年10月)