金沢大学がん研究所
遺伝子診断研究分野

研究のあゆみと業績 2001-2002

*

Annual Report 2001-2002

Division of Diagnostic Molecular Oncology
Cancer Research Institute, Kanazawa University
Kanazawa, Japan

2001 年 7 月－2002 年 12 月
July 2001 to December 2002

まえがき

1997 年４月，金沢大学がん研究所の改組にともない遺伝子診断研究分野の設置が認可され，翌 1998 年４月に臨床研究分野の１つとして開設されました．その後の準備期間を経て，2001 年７月に研究体制が始動してから１年数ヶ月が経過しようとしています．

本研究分野は開設以来，大腸癌を中心にして，遺伝性がんの胚細胞系列遺伝子診断に基づく探索的医療を指向した研究・診療と，通常の（sporadic な）大腸癌の分子病理学的研究と分子診断への応用をおもな課題として研究に取り組んできました．一方，ヒトゲノムの全ドラフト塩基配列が解読された今日，消化管がんにおける遺伝子発現を網羅的に俯瞰することはポストゲノム的研究に対応するために重要な課題です．当研究室では，従来の個別的遺伝子解析と並行して，ゲノムレベル（restriction landmark genomic scanning，RLGS）およびトランスクリプトームレベル（serial analysis of gene expression，SAGE）における網羅的遺伝子発現解析をすすめています．また，決して流行に追従するわけではありませんが，エピジェネティック変化の網羅的解析法を独自に開発する共同研究も開始しました．

この間の研究活動･成果は，研究スタッフ，スペースや研究費の制約とは関係なく，決して十分なものとはいえません．しかし，研究機関の内外を問わず第３者からの客観的評価を受け，今後の共同研究を活性化していくためにも，現在の研究活動，業績，資金の獲得状況など医学・生物学研究室としてのアクティヴィティに関する情報を公開することは，私ども新規の研究分野がはたさなければならない責務です．そこで，本年より研究活動報告書を作成し，配布させていただくことにしました．皆様の忌憚のないご意見とご批評をいただければ幸いに存じます．次回からは English version も含め，できれば annual report として継続する予定です．

これからも独創性と臨床への貢献を意識しながら，消化器癌を中心に分子診断と遺伝子医療を指向した基礎・臨床研究をすすめてまいりますので，今後ともご指導とご支援を賜わりますようお願い申し上げます．

2002 年 12 月

源　利成
金沢大学がん研究所
遺伝子診断研究分野

連絡先/Address

〒920-0934　石川県金沢市宝町 13 番 1 号
金沢大学がん研究所・遺伝子診断
　　同医学部附属病院腫瘍外科（併任）
電話　076-265-2792（直通），2795（事務室）
FAX　076-234-4523
e-mail：minamot@kenroku.kanazawa-u.ac.jp

Division of Diagnostic Molecular Oncology
Cancer Research Institute, Kanazawa University
13-1 Takara-machi
Kanazawa 920-0934, Japan
Phone 81-76-265-2792 (direct), 2795 (secretary)
Fax 81-76-234-4523
e-mail：minamot@kenroku.kanazawa-u.ac.jp

【研究スタッフ】(2002年12月現在の実労メンバー)

教　授	源　利成	金沢大学医学部附属病院腫瘍外科診療科併任
ポスドク研究員	Andrei V. Ougolkov	日本学術振興会外国人特別研究員（2002年９月～）
大学院生（RA）	張　濱（Bin Zhang）	2001年10月～　腫瘍外科研究分野から指導依頼
（修士）	玉野裕子	金沢大学医学部保健学科大学院・修士課程
（修士）	引地哲郎	金沢大学医学部保健学科大学院・修士課程
研究支援推進員	横村律子	
研究協力員	北川治恵	金沢工業大学非常勤研究員
	旭井亮一	独立行政法人　産業技術総合研究所 生命情報科学研究センター
客員研究員	山下　要	金沢大学医学部附属病院腫瘍外科診療科・医員
	太田尚宏	金沢大学大学院医学系研究科・心肺総合外科

【共同研究者】(2002年12月現在で共同研究が稼動しているもの．敬称略)

教　授	磨伊正義	金沢大学がん研究所腫瘍外科，同医学部附属病院腫瘍外科
教　授	Ze’ev Ronai	ニューヨーク市立大学マウントサイナイ医学校 Derald H. Ruttenberg がんセンター
助教授	小田惠夫	金沢大学大学院医学系研究科分子細胞病理学（病理学第一）
講　師	川島篤弘	金沢大学大学院医学系研究科分子細胞病理学（病理学第一）
教　授	松島鋼治	東京大学大学院医学系研究科分子予防医学
教　授	大野博司	金沢大学がん研究所分子薬理学研究分野
教　授	河原　栄	金沢大学医学部保健学科
教　授	渡辺弥壽夫	金沢工業大学情報工学科・情報通信フロンティア研究所
チームリーダー	高橋勝利	独立行政法人・産業技術総合研究所 生命情報科学研究センター
教　授	山口和男	金沢大学遺伝子実験施設
外科医長	山下直行	財団法人　慈山会医学研究所附属坪井病院外科

【１年のあゆみとできごと】

2001 年 3 月　平野晃一君（腫瘍外科研究分野大学院博士課程）が当研究分野での研究を修了
大腸早期癌の分子病理（2001 年）と遺伝性大腸癌（2002 年）に関する論文発表

2001 年 7 月　源　利成ががん研究所教授会による選考を経て，研究分野教授に着任.

2001 年 10 月
・（旧）金沢大学がん研究所附属病院（米泉キャンパス）の医学部附属病院への移転・統合に伴い，研究室が宝町キャンパス（旧附属病院第２病棟）に移転.
専用実験室（１室）を確保して，研究を継続.
・源　利成が医学部附属病院腫瘍外科診療科を併任
・源　利成が第 15 回北国がん基金（研究助成）を受賞
課題：大腸がんの包括的遺伝子診療システムの構築
・張　濱（Bin Zhang）君（腫瘍外科研究分野大学院博士課程）が研究に参画
消化器癌の免疫病態と分子病理学的特性に関する研究を継続

2002 年 3 月
・腫瘍外科研究分野磨伊正義教授を当番会長に第３回金沢遺伝子医療研究会を共催
・Andrei Ougolkov 君（腫瘍外科研究分野大学院博士課程）が当研究分野での研究を修了．Gastroenterology 122 巻 1 号に学位論文を発表し，医学博士を取得.

2002 年 4 月
・Andrei Ougolkov 君が研究協力員を委嘱され，当研究分野で研究を継続
・Andrei Ougolkov 君がが ん研究所技能補佐員に採用
・玉野裕子さん（医学部保健学科大学院・修士課程）が研究に参画
腫瘍外科研究分野・山下　要先生と共同で胃癌・大腸癌の網羅的遺伝子発現解析（SAGE）研究を開始

2002 年 7 月　引地哲郎君（医学部保健学科大学院・修士課程）が研究に参画
胃癌・大腸癌における遺伝子刷り込み現象(LOI: loss of imprinting）の解析を開始

2002 年 9 月
・研究室が旧附属病院第１病棟に移転し，専用実験室が２室に拡充された.
・Andrei Ougolkov 君（技能補佐員，研究協力員）が日本学術振興会・外国人特別研究員に採用．研究課題：ヒト消化器癌におけるβ-カテニンがん遺伝子シグナル伝達活性化と制御機構の解明. これにともない, 技能補佐員と研究協力員を辞職.
・旭井（あさい）亮一君（独立行政法人・産業技術総合研究所 生命情報科学研究センター特別研究員）が研究に参画．エピジェネティック変化の網羅的解析法の共同開発研究を開始

2002 年 10 月　源　利成が第 34 回（2002 年度）内藤記念科学奨励賞（研究助成）を受賞
課題：大腸癌におけるβ-カテニンがん遺伝子の特異的活性化・制御の分子機構に関する個別的ならびに網羅的解析

【研究活動の概要】

Ⅰ．遺伝性大腸がんの遺伝子診療システムの構築

遺伝性非ポリポーシス大腸がん（hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC）は形態学的に特徴のない大腸癌が好発する家系で，大腸癌以外に小腸癌，子宮内膜癌，腎盂・尿管癌など比較的稀な癌を発症する特異的な遺伝性腫瘍症候群である．その原因となる DNA ミスマッチ修復酵素遺伝子群の遺伝子検査は ASCO のがん易罹患性検査の妥当性に関する分類ではグループ 2 に分類され，まだ研究段階のものと評価されている．我々は HNPCC の遺伝子検査を含めた遺伝子診療を実施するためのデータベースを構築することを目的として，これまでに経験した HNPCC 症例・家系の特性を検討した．その結果，我々の施設で同定された HNPCC は全大腸癌の5%に相当し，その家系内では 3 人に1人が大腸癌を，また，2 人に 1 人が大腸癌をはじめとするさまざまな臓器のがんを発症していたことから，本疾患の遺伝形式と報告されている常染色体優性遺伝を支持している．また，これらの家系内において，第二世代の症例群は発症の若年化や右側結腸癌の占める比率が高くなる，などの HNPCC としての特性がより明瞭である．現在，遺伝子検査を実施するために，主要原因遺伝子の全塩基配列解析システムを確立した．本年9月以降，大腸癌研究会・HNPCC 登録と遺伝子解析プロジェクトとタイアップして，胚細胞系列遺伝子解析を独自に開始する．また，本疾患を腫瘍遺伝子診療のモデルとして，本学医学部附属病院における先端医療分野として期待されている遺伝子医療部（仮称）の開設に貢献したい．一方，大腸癌検診の観点から，通常の弧発癌と区別したアプローチが必要であると考えられるので，がん検診専門機関とタイアップして HNPCC 固有の検診体制に関して模索したい．

Ⅱ．大腸がんの分子病理学的特性の解明

１．β-カテニンがん化シグナルの特異的活性化・制御機構の個別的，網羅的解析

大腸癌の多段階発癌・進展過程には複数のがん関連遺伝子が同定され，これらの異常が癌病態に密接に関わっていることが明らかにされてきた．その代表がK-*ras*がん遺伝子であり，ヒト大腸癌の約 50%に突然変異による活性化が検出される．我々は活性化 K-*ras*を指標にした大腸癌の早期診断や発癌危険度評価に関して成果を発表してきた．一方，細胞接着因子の1つとして同定されたβ-カテニンは，固有の細胞内情報伝達系を活性化することによりがん遺伝子として作用することが提唱されたユニークな多機能（multipotential）分子である．しかし，従来の研究の大部分は培養細胞や遺伝子改変生物を対象にしたものであり，臨床的な癌，とくに大腸癌における造腫瘍遺伝子作用を実証することは発癌進展機構と癌の分子病態を新たな視点から解明するうえで重要な課題である．我々は大腸癌臨床例の大規模解析を通じて，腫瘍浸潤先進部における選択的なβ-カテニンの活性化が癌の悪性度を決定することを他に先駆けて発見した．そして，大腸癌におけるこのがん遺伝子の特異的活性化は K-*ras* に勝るとも劣らない重要な造腫瘍因子であると結論した．これらの研究成果を基盤にして，ヒト大腸癌の悪性度に重大な影響をおよぼすβ-カテニンがん遺伝子の特異的活性化の分子機構を腫瘍病態との関連から究明し，得られる成果を大腸癌の発癌進展過程の解明と診断・治療に応用することを主目的とする．実際には，細胞内におけるβ-カテニンの生理的発現，造腫瘍性シグナル伝達やがん遺伝子としての活性化機構に関与する可能性のある分子群を個別的に対象にして，大腸癌における発現や動態をβ-カテニンの活性化パターンと比較検討する．一方，β-カテニン活性化パターンの異なる腫瘍における遺伝子発現を包括的・網羅的手法により比較解析し，未知のものも含めてこのがん遺伝子の特異的活性化の制御因子や転写標的遺伝子群の同定を試みる．一連の解析から得られる知見に基づいて，大腸癌の悪性度や予後の分子診断法を開発することを目指す．また，β-カテニンの活性化制御因子や転写因子を標的とした遺伝子治療の可能性に関する基礎的検討に展開できると期待している．

２．大腸がんの病態と p53，Hdm2 の関与

転写因子として作用する p53 がん抑制遺伝子と，蛋白のユビキチン化において E3 リガーゼの機能を示す hdm2 (human double minute 2)がん遺伝子は細胞のあらゆる生命現象（発生，増殖，アポトーシスなど）において密接な相補的作用を示す分子対である．そして，両蛋白質の安定性，活性や両分子間の相互作用は複雑な翻訳後修飾により調節されている．我々は大腸癌の病態における両分子の関与について現在，マントサイナイ医学校がんセンターRonai 博士の研究グループと共同研究を計画している．

３．微量がん遺伝子の検出に基づいたがん診断と検診

大腸癌と膵癌の共通点として，発生・進展過程にがん化シグナル伝達活が高頻度に活性化されることと，早期発見のための有効な手段がなく，臨床的には多くが進行癌として発見されることである．そこで，末梢血中の遊離 DNA における微量の K-*ras* およびβ-catenin がん遺伝子検出に基づいた大腸癌および膵癌の新たな分子診断法とがん検診システムを開発することを目的とする．大腸癌の約 50%，膵癌の 80-90%に活性化が認められる K-*ras* がん遺伝子は，我々が独自に開発した高感度検出法（Enriched PCR, EPCR）の改良法を用

いて末梢血における検出を試みる．最近，大腸癌自験例を解析した結果，活性化β-catenin は 50%以上の症例の癌組織に検出され，悪性度の分子指標になることを明らかにした．本研究では，活性化 K-*ras* の高感度検出法に改良を加えるとともに，末梢血における新規がん遺伝子β-カテニンの検出法を開発して組み合わせることによって，無症候性の大腸癌や難治性癌の最たるものである膵癌の探索的早期診断法の確立を試みるという点で，早期診断開発研究として貢献できるものと期待している．

Ⅲ．遺伝子発現の網羅的解析

ライフスタイルの欧米化により疾病構造，とくに癌の発生臓器別頻度が変動している現在でも，本邦では胃癌が消化器癌のなかでは依然として最も多く，その発がん機序と病態究明は我々に課せられた使命である．一方，増加の著しい大腸癌の治療成果を向上してがん死を減少させるためには，その発癌機序と病態究明およびそれらの知見に基づいた早期診断，効率的な治療法やがん予防の開発が急務である．この 10 年間に進められてきたヒトゲノムプロジェクトにより，ヒト遺伝子の全ドラフト塩基配列がほぼ解読された．そして近年，組織や細胞における多様な遺伝子発現の網羅的解析を目的としていくつかの手法が開発されている．したがって，消化器がんにおける遺伝子発現を網羅的に俯瞰することはポストゲノム的研究に対応するためにも重要な課題である．

１．serial analysis of gene expression (SAGE, トランスクリプトームレベル)

この研究ではヒト胃癌における遺伝子発現プロファイルの網羅的解析により，がん発生と進展に関わる遺伝子群を検出し，診断や治療に寄与する分子標的を同定することを目的とする．ここで用いる serial analysis of gene expression (SAGE)法はジョンスホプキンス大学の研究グループにより開発された網羅的解析手法であり，本法による大腸癌，肺癌，肝癌の遺伝子発現プロファイル解析が同研究グループを中心に報告されている．しかし，この解析手法の特殊性のため胃癌を含めてその他の癌種に関する結果は報告されていない．我々は 1999 年より SAGE の原法をもとにその手法を独自に確立し，当研究所腫瘍外科で樹立した胃癌細胞株 KKLS における遺伝子発現プロファイルを解析してきた．現在，この予備解析の成果に基づいて，臨床的な胃癌と正常胃粘膜における遺伝子発現解析を開始した．SAGE は mRNA から調整した cDNA を特定の制限酵素（*Nla* Ⅲ）分解して得られる 10 塩基対程度の任意の DNA 断片（tag）を鋳型にして，一連の ligase chain reaction (LCR)，クローニングと塩基配列決定を行なう方法で，理論的には4^{10} すなわち約 100 万種類の mRNA の定量的発現解析が可能である．また，汎用されている DNA microarray とは異なり，SAGE 法の対象には多数の未知遺伝子が含まれているという点が魅力的である．我々は本法の特性を最大限に生かして，胃癌の発生にかかわる未知遺伝子を同定することも目指したい．

２．restriction landmark genomic scanning (RLGS, ゲノムレベル)

大腸癌症例の生命予後に最も深く係わるものは多臓器への転移，とくに肝転移である．近年の分子生物学的解析手法の飛躍的な発展にともない，大腸癌の発生・進展機構が分子レベルで検討され，種々のがん関連遺伝子異常，いわゆるエピジェネティク異常や細胞制御因子の蛋白質レベルでの異常に関する膨大なデータが集積されてきた．しかし，転移に関係するあるいはそれを制御する遺伝子・分子の個別的な解析だけでは発癌や癌転移の複雑なプロセスを解明することは困難である．ここに用いる網羅的遺伝子解析法は本邦の理化学研究所において考案された restriction landmark genomic scanning (RLGS)である．RLGS 法は，特定の制限酵素切断部位をランドマークとして，２次元電気泳動によりゲノム DNA 全体をスキャンすることによって，既知の遺伝子はもとより未知のものも含めた多様な遺伝子発現異常を効率的に検出する手法である．また，情報工学の分野では，多様な画像情報のパターン認識とそれらの定性的かつ定量的解析を目的として，様々な画像解析技術の開発と応用が進められている．我々の研究グループは金沢工業大学と共同で 1999 年より，RLGS 法にコンピュータ画像解析を組み合わせてヒト胃癌および大腸癌における遺伝子異常をその発現レベルで網羅的に解析する試みを継続している．そこで，これまでに得られた成果を基盤にして，RLGS 法により大腸癌における転移関連・制御遺伝子（群）を同定し，大腸癌の転移に関する包括的遺伝子診断システムの確立とともに，未知の転移関連・制御遺伝子を同定することを目的とする．

代表的な網羅的遺伝子発現解析法である DNA microarray とは異なり，RLGS 法では最初に制限酵素認識部位のみを指標にして多数の遺伝子断片スポットを解析することから，その解析対象は既知のものに加えて未知遺伝子が存在する点が特色である．また，２次元電気泳動イメージを独自に開発した画像解析システムにより定性的かつ定量的に計測することと，使用する制限酵素の認識配列は DNA メチル化サイトと共通していることからメチル化の網羅的解析にも展開できる可能性を秘めているという点が独創的である．

Ⅳ．エピジェネティック変化の網羅的解析の試み

独立行政法人・産業技術総合研究所 生命情報科学研究センターの研究チームとの共同開発研究プロジェクトであるため，詳細は割愛する．

【研究費】(2001年以降，継続分を含めた外部資金の獲得状況)

研究種目・期間（課題番号）	研究代表者	研究分担者	研究課題	研究経費
2000-2002 年度科学研究費基盤研究Ｂ２(12470254)	磨伊正義	源　利成，ほか	消化器癌における転移分子機構の解明とその制御-特に，マトリックスメタロプロテイナーゼと血管新生ならびにその阻害物質による微小転移の抑制-	9,500,000 円
2001-2002 年度科学研究費・基盤研究C2（13671289）	源　利成	磨伊正義	ヒト大腸癌におけるβ-カテニンシグナル伝達系活性化と制御機構の解析	3,600,000 円
2001 年度科学研究費・特定領域研究Ｃ（12212002）	笹月健彦	源　利成 磨伊正義	胃がん発症に関与する遺伝子の解明	1,000,000 円
2001 年度即効型地域新生コンソーシアム研究開発	渡辺弥壽夫	源　利成 山本健一，ほか	分散バイオ実験環境の情報統合化と遺伝子診断システムの開発	84,987,000 円（総額）
2001 年金沢大学重点化経費（COE 形成基礎研究）	佐藤　博	源　利成，ほか	がん転移―分子機構の解明から診断・治療法開発	5,000,000 円（総額）
第 15 回北国がん基金助成金	源　利成		大腸がんの包括的遺伝子診断システムの構築	1,000,000 円
2001 年度財団法人金沢総合技術研究センター研究助成金	源　利成	渡辺弥壽夫 磨伊　正義	網羅的遺伝子発現解析（RLGS）法による胃癌，大腸癌の包括的遺伝子診断	500,000 円
2001 年度財団法人金沢総合技術研究センター研究助成金	渡辺弥壽夫	源　利成	高度ゲノム情報解析に基づくがん遺伝子診断システムの研究	500,000 円
2002 年度「発がんと防御」領域総括班	笹月健彦	源　利成，ほか	胃がん発症に関与する遺伝子の解明	800,000 円
2002－2004 年度科学研究費補助金・特別研究員奨励費（02527）	源　利成	Andrei V. Ougolkov	消化器癌におけるβ-カテニンがん遺伝子シグナル伝達活性化と制御機構の解明：がん分子診断と検診への応用	2,500,000 円
2002 年度財団法人澁谷学術文化スポーツ振興財団・大学の新技術研究に対する奨励金	渡辺弥壽夫	源　利成，ほか	メチレーションに着目した網羅的遺伝子発現解析及び遺伝子診断の研究	3,000,000 円（総額）
第 34 回（2002 年度）内藤記念科学奨励金（研究助成）	源　利成		大腸癌におけるβ-カテニンがん遺伝子の特異的活性化・制御の分子機構に関する個別的ならびに網羅的解析	1,500,000 円
2002 年度財団法人金沢総合技術研究センター研究助成金	源　利成	渡辺弥壽夫 磨伊　正義	網羅的遺伝子発現解析RLGS法による大腸癌の転移関連遺伝子の同定	500,000 円

奨学寄附金	源　利成	ファルコバイオシステムズ	未定
奨学寄附金	源　利成	石川県予防医学協会	未定

【受　賞】

1．第 15 回北国がん基金：2001 年 10 月
課題：大腸がんの包括的遺伝子診断システムの構築

2．第 34 回（2002 年度）内藤記念科学奨励賞（研究助成）：2002 年 10 月
課題：大腸癌におけるβ-カテニンがん遺伝子の特異的活性化・制御の分子機構に関する個別的ならびに網羅的解析

【研究業績】

Ⅰ．論文発表

1. Ronai Z, Minamoto T. Early detection of gene mutation in cancer diagnosis. *Princ Pract Oncol* 15: 1-16, 2001.
2. Okai T, Minamoto T, Ohtsubo K, Takahashi Y, Kitagata H, Kadoya M, Oda Y, Sawabu N. Presacral ganglioneuroma arising in an elderly man with constipation. *Abdominal Imaging* 26: 215-217, 2001.
3. Sabet EA, Okai T, Minamoto T, Sawabu N. Endosonographic features of advanced gastric carcinoma invading the colon: is it easy to differentiate from pancreatic invasion? *Endoscopy* 33 (2): 197, 2001.
4. Buschman T, Ivanov VN, Henderson S, Fried VA, Minamoto T, Alarcon-Vargas D, Pincus MR, Fuchs SY, Ronai Z. JNK phosphorylation of p53 on Thr-81 is important for p53 stabilization and transcriptional activities in response to stress. *Mol Cell Biol* 21: 2743-2754, 2001.
5. Minamoto T, Buschmann T, Habelhah H, Matusevich E, Tahara H, Boerresen-Dale A-L, Harris C, Ronai Z. Distinct pattern of p53 phosphorylation in human tumors. *Oncogene* 20: 3341-3347, 2001.
6. Ougolkov AV, Yamashita K, Omote K, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. Abnormal expression of E-cadherin, β-catenin and c-erbB-2 in advanced gastric cancer: its association with liver metastasis. In Brennan MF, Karpeh Jr MS eds., *Proceedings of 4th International Gastric Cancer Congress*, 2001, Monduzzi EditoreS.p.A. - Medimond Inc., Bologna, pp765-770.
7. Minamoto T, Ronai Z. Gene mutation as target for early detection in cancer diagnosis. *Crit Rev Oncol Hematol* 40: 195-213, 2001.
8. Ougolkov AV, Yamashita K, Mai M, Minamoto T. Oncogenic β-catenin and MMP-7 (matrilysin) cosegregate in the late-stage clinical colon cancer. *Gastroenterology* 122: 60-71, 2002.
9. Hirano K, Yamashita N, Ohta T, Yamashita K, Nakazumi Y, Esumi H, Kawashima A, Mai M, Minamoto T. Non-Hodgkin lymphoma in a patient with probable hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Report of a case and review of the literature. *Dis Colon Rectum* 45: 273-279, 2002.
10. Sabet EA, Okai T, Minamoto T, Mai M, Sawabu N. Three-dimensional endoscopic ultrasonography for the assessment of gastric carcinoma invasion: could it provide diagnostic innovations? *Dig Endosc* 14: 53-60, 2002.
11. Ougolkov A, Yamashita K, Bilim V, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. Abnormal expression of E-cadherin, β-catenin and c-erbB-2 in gastric cancer with liver metastasis. *Int J Colorect Dis (Clin Mol Gastroenterol Surg)*, published on-line first.
12. Sabet EA, Okai T, Minamoto T, Mai M, Sawabu N. Visualizing the gastric wall with a 30-MHz ultrasonic miniprobe: ex vivo imaging of normal gastric sites and sites of early gastric cancer. *Abdom Imaging* 27: 000-000, 2002.

13. Okai T, Minamoto T, Ohtsubo K, Minato H, Kurumaya H, Oda Y, Mai M, Sawabu N. Endosonographic evaluation of c-kit-positive gastrointestinal stromal tumor. *Abdom Imaging* 27: 000-000, 2002, in press.
14. Minamoto T, Ougolkov A Mai M. Detection of oncogenes in the diagnosis of cancers with active oncogenic signaling. *Exp Rev Mol Diag* 2(6): 89-99, 2002.
15. Minamoto T. Detection and characterization of oncogene mutations in preneoplastic and early neoplastic lesions: K-ras oncogene in non-neoplastic tissue and aberrant crypt foci of colorectal cancer patients. In; Keohavong P and Grant S, eds., *Molecular Toxicology Protocols/Methods of Molecular Biology*, Humana Press, in press.
16. Morita H, Hasegawa T, Minamoto T, Oda Y, Inui K, Tayama H, Nakao N, Ideura T, Yosimura A. Collagenofibrotic glomerulopathy with a widespread expression of type V collagen. *Virchow's Archiv*, in press.
17. Yamamoto K, Yamamura Y, Noshiro H, Sakai K, Yokota J, Kohno T, Tokino T, Ishida S, Ohyama S, Ninomiya I, Uesaka K, Kitajima M, Shimada S, Matsuno S, Yano M, Hiratsuka M, Sugimura H, Itoh F, Minamoto T, Maehara Y, Takenoshita S, Aikou T, Katai H, Yoshimura K, Takahashi T, Akagi K, Aoki M and Sasazuki T. Genome-wide scan for gastric cancer susceptibility genes. *Hum Mol Genet*, in submission.
18. Kawashima A, TsugawaS, Boku A, Kobayashi M, Minamoto T, Nakanishi I, Oda Y. Expression of αv integrin subfamily in gastric carcinomas: Increased αvβ6 is associated with lymph node metastasis. *Pathol Res Prac*, in submission.
19. Zhang B, Ougolkov A, Yamashita K, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. β-catenin and ras oncogenes detect most human colorectal cancers. *Clin Cancer Res*, in submission.
20. Okai T, Sabet EA, Minamoto T, Yamaguchi Y, Watanabe H, Motoo Y, Sawabu N. How does 20 Mhz catheter ultrasound influence diagnostic accuracy in T staging of early gastric carcinoma? Comparison with a historical control studied by 12 Mhz conventional ultrasound endoscope. *Endoscopy*, in submission.
21. Zhang B, Ougolkov A, Yamashita K, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. Distinct pattern of β-catenin activation in colorectal cancer. *Am J Pathol*, in preparation.
22. Ougolkov A, Fuchs SY, Bilim V, Mukaida N, Mai M, Minamoto T. Expression of βTrCP ubiquitin ligase receptor in colorectal cancer. in preparation for *Cancer Res*.

Ⅱ. 学会発表

1. Ougolkov AV, Yamashita K, Omote K, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. E-cadherin/β-catenin expression in comparison with c-erbB-2 oncoprotein in advanced gastric cancer associated with liver metastasis. **92nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research.** March 24-28, 2001, New Orleans, LA, U.S.A.
2. Ougolkov AV, Yamashita K, Omote K, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. Abnormal expression of E-cadherin, β-catenin and c-erbB-2 in advanced gastric cancer: its association with liver metastasis. **4th International Gastric Cancer Congress**, April 29-May 2, 2001, New York, NY, U.S.A.
3. Mai M, Takahashi Y, Ougolkov AV, Yamashita K, Omote K, Minamoto T. Multiparametric in situ mRNA hybridization analysis for gastric biopsies to predict lymphatic permeation and vascular invasion in patients with gastric carcinoma. **4th International Gastric Cancer Congress**, April 29-May 2, 2001, New York, NY, U.S.A.
4. 表　和彦，平野晃一，山下　要，源　利成，藤本敏博，高橋　豊，磨伊正義．早期胃癌に対するEMRの検討．**第61回日本消化器内視鏡学会総会**，2001年５月10-12日，神戸．
5. 山下　要，Ougolkov Andrei，磨伊正義，源　利成．ヒト結腸癌におけるβ-cateninのMMP-7誘導はlate eventである．**第10回日本がん転移学会総会，パネルディスカッション(1)**，2001年６月14-15日，徳島．

6. 藤本敏博，表　和彦，岡井　高，源　利成，平野晃一，山下　要，高橋　豊，磨伊正義，荻野知巳．EMR で治療した残胃早期癌の４例．**第 77 回日本消化器内視鏡学会北陸地方会**，2001 年６月 17 日，富山．
7. 渡邉弘之，大坪公士郎，毛利久継，山口泰志，元雄良治，岡井　高，澤武紀雄，平野晃一，源　利成．12 年間に６回の EMR にて経過観察中，腺腫，高分化型早期癌，中分化型早期癌を生じた１例．**第 77 回日本消化器内視鏡学会北陸地方会**，2001 年６月 17 日，富山．
8. 平野晃一，山下　要，表　和彦，藤本敏博，源　利成，高橋　豊，磨伊正義．薬剤感受性試験に基いた low dose CDDP-5FU 療法が奏効した進行胃癌両側肺転移の１例．**第 12 回北陸臨床腫瘍研究会**，2001 年７月 14 日，福井．
9. Omote K, Ougolkov A, Hirano K, Yamashita K, Fujimoto T, Minamoto T, Takahashi Y, Mai M. Endoscopic treatment for early gastric cancer. **The 9th International Symposium of the Japan-Russia Medical Exchange (JRME)**, Kanazawa, September 4 to 9, 2001.
10. 山下　要，高橋　豊，北方秀一，平野晃一，表　和彦，源　利成，藤本敏博，磨伊正義．転移性胃癌，大腸癌に対する low dose CPT-11＋low dose CDDP．**第 3 回金沢 CPT-11 研究会**，2001 年９月 22 日，金沢．
11. 源　利成，Thomas Buschmann，磨伊正義，Ze'ev Ronai.変異型 p53 の安定化制御に関する検討．**第 60 回日本癌学会総会**，横浜，2001 年９月 26－28 日．
12. Andrei Ougolkov，山下　要，Vladimir Bilim，高橋　豊，磨伊正義，Serge Fuchs，源　利成．ヒト結腸癌におけるβ-TrCP の発現．**第 60 回日本癌学会総会**，横浜，2001 年９月 26－28 日．
13. 山下　要，Andrei Ougolkov，金田敦子，高橋　豊，磨伊正義，源　利成．ヒト大腸癌におけるβ-catenin 活性化と p53 不活化の比較検討．**第 60 回日本癌学会総会**，横浜，2001 年９月 26－28 日．
14. 山口泰志，大坪公士郎，渡辺弘之，元雄良治，岡井　高，澤武紀雄，山下　要，源　利成，磨伊正義，松井　修．腫瘤形成性慢性膵炎との鑑別に苦慮した，膵液中 p53 変異陽性膵癌の１例．**第 93 回日本消化器病学会北陸支部例会**，2001 年 11 月 18 日，内灘（石川）．
15. 平野晃一，山下　要，表　和彦，源　利成，高橋　豊，磨伊正義．外来 low dose 化学療法の継続により，長期間肺転移がコントロール可能であった１例―乳癌における tumor dormancy therapy の可能性―．**第 36 回北陸乳癌懇話会**，金沢，2001 年 11 月 24 日．
16. 渡辺弘之，大坪公士郎，山口泰志，元雄良治，岡井　高，澤武紀雄，山下　要，<u>源　利成</u>．膵尾部に mucinous cystic tumor が疑われた脾 epidermoid cyst の１例．**第 82 回北陸肝胆膵勉強会・年度末大会**，2001 年 12 月８日，金沢．
17. 平野晃一，山下　要，表　和彦，高橋　豊，磨伊正義，源　利成．遺伝性非ポリポーシス大腸癌：金沢大学がん研腫瘍外科における 15 年間の症例解析．**第３回金沢遺伝子医療研究会**，2002 年３月９日，金沢．
18. 山下　要，Andrei Ougolkov，張　濱，平野晃一，表　和彦，高橋　豊，磨伊正義，源　利成．大腸癌におけるβ-カテニンがん遺伝子の活性化．**第６回石川大腸癌研究会**，2002 年４月６日，金沢．
19. Ougolkov A, Yamashita K, Bilim V, Takahashi Y, Mai M, Fuchs S, Minamoto T. Expression of βTrCP ubiquitin ligase receptor in human colon cancer. **93rd Annual Meeting of American Association for Cancer Research**, April 6-10, San Francisco, CA, USA.
20. 源　利成，平野晃一，北方秀一，山下　要，表　和彦，高橋　豊，磨伊正義．遺伝性非ポリポーシス大腸癌：金沢大学がん研究所腫瘍外科における最近 15 年間の症例解析．**第８回家族性腫瘍研究会学術集会**，2002 年６月 14－15 日，京都．
21. 源　利成，磨伊正義．ヒト大腸癌における造腫瘍シグナル伝達活性化と制御：がん診療へのインパクト．**第 57 回日本消化器外科学会総会**，2002 年７月 28－30 日，京都．
22. Andrei Ougolkov，張　濱，山下　要，平野晃一，表　和彦，高橋　豊，磨伊正義，源　利成．大腸癌におけるβ-カテニンシグナル伝達の新規制御因子βTrCP の発現．**第 57 回日本消化器外科学会総会**，2002 年７月 28－30 日，京都．

23. 山下　要，Andrei Ougolkov，張　濱，高橋　豊，磨伊正義，源　利成．ヒト大腸癌におけるβ-カテニンの特異的活性化．**第 13 回日本消化器癌発生学会・シンポジウム**，2002 年９月５－６日，大阪．
24. 源　利成，平野晃一，山下　要，高橋　豊，磨伊正義．最近 15 年間の遺伝性非ポリポーシス大腸癌症例の解析．**第 61 回日本癌学会総会**，2002 年 10 月１－３日，東京．
25. Andrei Ougolkov，山下　要，張　濱，金田敦子，高橋　豊，磨伊正義，源　利成．Comparative analysis of β-catenin and K-*ras* activation in colorectal cancers．**第 61 回日本癌学会総会**，2002 年 10 月１－３日，東京．
26. Andrei Ougolkov, Kaname Yamashita, Yutaka Takahashi, Masayoshi Mai, Toshinari Minamoto. Comparative analysis of b-catenin and K-ras activation in human colorectal cancer. European Society of Medical Oncology, October 18-22, Nice, France.
27. 源　利成，山下　要，磨伊正義．大腸癌における活性化がん遺伝子の検出：がん検診への応用を目指して．**DDW Japan 2002，第 44 回日本消化器病学会大会・シンポジウム 10．遺伝子診断を応用した消化器がん検診の可能性**，2002 年 10 月 24-27 日，横浜．
28. 源　利成，平野晃一，山下　要，高橋　豊，磨伊正義．上行結腸癌切除後８ヶ月目に非ホジキンリンパ腫（肺，回腸）を発症した遺伝性非ポリポーシス大腸癌症例.**第 47 回日本人類遺伝学会大会**，2002 年 11 月 13-15 日，名古屋．

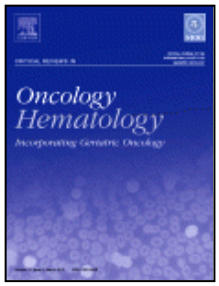
Ⅲ．講演

1. 源　利成，Ze'ev Ronai．ヒト腫瘍における p53 の安定性とリン酸化．**第 12 回金沢オンコロジーセミナー**，2001 年７月７日，金沢．
2. 源　利成．遺伝する大腸癌．**第１回金沢大学がん研究所市民公開セミナー**，金沢市立泉野図書館，2001 年 11 月３日，金沢．
3. 源　利成．Division of Diagnostic Molecular Oncology ―Downstream, Present and Upstream―　**2001 年度金沢大学がん研究所腫瘍外科同門会**，2001 年 12 月１日，金沢．
4. 源　利成．遺伝性大腸癌の診療．即効型地域新生コンソーシアム研究開発事業「分散バイオ実験環境の情報統合化と遺伝子診断システムの開発」第８回開発委員会，2001 年 12 月 11 日，金沢工業大学，石川県野々市町．
5. 源　利成．大腸癌の遺伝子診療　―先端医療と標準医療の接点― 金沢市医師会：胃腸疾患懇話会特別講演，2002 年２月 23 日，金沢．
6. 源　利成．がんの遺伝子診療　―大腸癌を中心に―　金沢適塾勉強会，2002 年２月 27 日，金沢．

発表論文 2001-2002
（抜粋）

*

Representative Publications
2001-2002



Minamoto T, Ronai Z. Gene mutation as target for early detection in cancer diagnosis. *Crit Rev Oncol Hematol* 40 (3): 195-213, 2001.
[PubMed: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11738944?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=50]

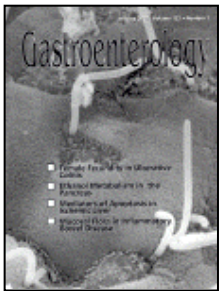
Abstract

The increasing number of genetic aberrations implicated in the development of human cancer has prompted a search to detect them at the earliest possible stage of their formation. Of the many such genetic changes identified thus far, relatively few meet the standard for markers in early diagnosis and prognosis, namely that the genetic modifications occur during the early onset phase of cancer development. Parallel to the increasing number of such genes is the growing availability of technologies using more powerful and cost-efficient methods that enable mass screening for genetic alterations. The purpose of this review is to summarize the currently available genes that can serve as markers for early detection of cancers and methods that allow their detection.

Minamoto T, Buschmann T, Habelhah H, Matusevich E, Tahara H, Boerresen-Dale A-L, Harris C, Ronai Z. Distinct pattern of p53 phosphorylation in human tumors. *Oncogene* 20 (26): 3341-7, 2001.
[PubMed: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11423984?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=51]

Abstract

The protein product of the tumor suppressor gene p53 is phosphorylated on multiple residues by several protein kinases. Using a battery of 10 antibodies developed against different phosphorylated and acetylated residues of p53, we compared the pattern of p53 phosphorylation and acetylation in tumor-derived cell lines, tumor samples, and non-neoplastic cells. Irrespective of tumor types or the presence of p53 mutation, phosphorylation and acetylation of p53 was substantially higher in samples obtained from tumor tissues than those found in non-transformed samples. Among the 10 sites analysed, phosphorylation of residues 15, 81, 392, and acetylation were among the more frequent modifications. Analysis of two of the more abundant phosphorylation or acetylation sites on p53 is sufficient to detect 72% of tumor-derived p53 proteins. The distinct pattern of p53 phosphorylation and acetylation in human tumors may offer a new means to monitor the status and activity of p53 in the course of tumor development and progression.



Ougolkov AV, Yamashita K, Mai M, Minamoto T.

Oncogenic β-catenin and MMP-7 (matrilysin) cosegregate in the late-stage clinical colon cancer. *Gastroenterology* 122 (1): 60-71, 2002.
[PubMed: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11781281?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=48]

Abstract

Background & Aims: Recent in vitro studies showed that β-catenin translocated into the tumor cell nucleus functions as an oncogene by transactivating oncogenes, including MMP-7. We conducted a large-scale analysis of β-catenin and MMP-7 expression in human colon cancer to determine the potential clinical importance of these molecules.
Methods: In 202 colon cancer patients with known postoperative outcomes, we determined the expression of β-catenin and MMP-7 in the tumors immunohistochemically and correlated the findings with the patients' clinicopathological characteristics and survival.
Results: We found 2 distinct patterns of β-catenin nuclear accumulation (NA) in the colon cancers: diffuse NA (NAd) in 89 cases (44%) and selective NA at the invasion front (NAinv) in 18 cases (9%). The presence of the NAinv pattern was signiÞcantly correlated with advanced Dukes' stage (P = 0.0187) and tumor recurrence (P = 0.0005) as well as with MMP-7 expression in the tumor invasion front (P = 0.0025), resulting in extremely unfavorable clinical outcomes. A multivariate analysis determined that the NAinv expression pattern and Dukes' C stage were independent prognostic factors.
Conclusions: Oncogenic activation of β-catenin in the tumor invasion front, as represented by its NAinv pattern of expression, may be an independent and reliable indicator of membership in a subset of colon cancer patients who are highly susceptible to tumor recurrence and have a less favorable survival rate.