

ゲノム疾患治療研究部門 遺伝子診断・治療開発研究分野研究概況

教 授	西 山 正 彦
助 教 授	檜 山 桂 子
助 手	谷 本 圭 司
大 学 院 生	田 中 友 隆 (~ 平成16年 9 月30日)
大 学 院 生	右 近 圭 (~ 平成17年 3 月31日)
大 学 院 生	野 口 琢 矢
大 学 院 生	小 松 正 明 ^{*2}
大 学 院 生	湯 泉 川 真 由 ^{*2}
大 学 院 生	中 村 秀 明
大学院生 (修士)	西 村 陽 平 (平成16年 4 月 1 日 ~)
特 別 研 究 学 生	下 國 達 志 ^{*3} (~ 平成17年 3 月31日)
外国人客員研究員	Wiwien Heru Wiyono ^{*4} (平成16年10月 3 日 ~ 平成16年12月31日)
研 究 生	津 金 桃 実 (平成16年11月 1 日 ~)
研究支援推進員	金 安 美 香 (~ 平成16年 6 月30日)

^{*1}腫外，^{*2}院・生殖器官病態制御，^{*3}北大・院・外科治療学，^{*4}Indonesia Univ.

当研究分野ではヒト及びヒト疾患の基本的な分子・遺伝的情報の解析，これを基盤とする新規診断・治療法の開発研究を行っている．現在の研究主題は，ヒト癌の病態解明と増殖制御法の開発で，平成12年度から薬物療法の個別化に資する実践的遺伝子解析システムの確立研究を，また14年度からテロメラーゼ研究を基盤としてゲノム創薬標的の策定研究を開始し，ゲノム医療の創生を目指した研究を推し進めている．

平成16年度内に終了，或いは継続進展している研究，及び追従計画されている研究の主題は次のようである．

- 1．「個」の医療(オーダーメイド癌治療)の確立研究
 - 1) ゲノム薬理学的解析による至適薬化学療法を選択
 - 2) 抗癌剤個別化化学療法の実現へ向けた効果予測モデルの確立
 - a) 複数遺伝子の発現構造の理解に基づく効果予測システム：基盤モデルの開発
 - b) 食道癌個別化化学療法に向けた効果予測システムの開発
 - c) 卵巣癌個別化化学療法に向けた効果予測システムの開発
- 2．難治性固形癌に対するゲノム創薬標的の策定と分子標的治療の開発
 - a) 食道癌細胞における不死化規定因子の同定

- b) 子宮体癌細胞における不死化規定因子の同定
- c) テロメア3' overhangと抗癌剤感受性の解析
- d) テロメラーゼ発現および不死化制御機構の解析
- 3. フッ化ピリミジン系抗癌剤の作用発現機構
 - 1) Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 遺伝子 (DPYD) の発現調節機構
 - a) DPYD 転写調節機構の解明
 - b) DPYD プロモーター領域のメチル化の意義
 - 2) 代謝・活性化酵素遺伝子群の発現調節機構の解明と応用展開
- 4. 固形癌における低酸素応答分子機構の解明研究
 - a) 低酸素応答性転写因子HIF-1 α 遺伝子導入マウスの作製・解析
 - b) human MLH1 遺伝子の低酸素応答機構の解明
 - c) 口腔癌低酸素領域における抗癌剤および放射線耐性獲得機構の解明
 - d) HIF-1蛋白複合体の解析

研究面では、文部科学省科学研究費として①基盤研究(B)(2) (番号14370390) 網羅的遺伝子発現解析による消化器がんテイルード術前化学療法 (代表: 西山正彦), ②文部科学省高度先進医療開発経費(B研究)(番号K-500)テロメア・テロメラーゼをターゲットとした固形悪性腫瘍の存在診断・悪性度診断法の臨床応用(分担: 西山正彦, 檜山桂子), ③特別推進研究 (COE) 放射線災害医療開発の先端的研究教育拠点 (分担: 檜山桂子), ④基盤研究(A)(2)(番号15209058) 神経芽細胞腫の生物学的悪性度診断のための簡易マイクロアレイの開発と臨床応用(分担: 檜山桂子), ⑤基盤研究(B)(2) (番号14370197) 特発性間質性肺炎の病態修飾因子及び予後因子としてのKL-6の意義に関する研究 (分担: 檜山桂子), ⑥若手研究(A) (番号 16689032) プロテオミクス法によるHIF-1 α 複合体精製および口腔癌細胞における機能解析(代表: 谷本圭司), ⑦萌芽研究 (番号 16659552) 口腔癌低酸素領域における抗癌剤および放射線耐性機構の解明 (代表: 谷本圭司) ⑧基盤研究(C)(2) (番号15592114) がん分子標的としての低酸素応答性転写因子HIF-1 α の有用性とその作用機序の解明 (分担: 谷本圭司), 厚生労働省科学研究費として⑨がん研究助成金 がんの早期診断および予後診断に役立つ腫瘍マーカーの開発 (課題番号16-10) がん化学療法の個別化に資する治療応答予測マーカー (分担: 西山正彦), 学会・研究会助成研究費として⑩日本癌病態治療研究会奨励研究 5-FU系抗癌剤の代謝・活性化酵素遺伝子群の発現調節機構の解明と応用展開 (代表: 谷本圭司), 民間等との共同研究として⑪ (大鵬薬品工業株式会社創薬センター) 新規抗癌剤の開発のためのテロメラーゼおよび癌遺伝子導入細胞を用いたゲノム創薬標的の探索(代表: 西山正彦), ⑫ (株式会社東芝・研究開発センター) 大腸癌および胃癌のテイルード化学療法の確立に資する実践的効果予測遺伝子発現解析システムの開発 (代表: 西山正彦), ⑬ (呉羽化学工業株式会社生物医学研究所) 膵臓癌に高発現している遺伝子の探索 (代表: 西山正彦) の援助を受けた。

人事面では、平成16年4月1日より大学院生として中村秀明君 (博士課程), 西村陽平君 (修士課程), 平成16年10月3日~同12月31日まで外国人客員研究員としてWiwien Heru Wiyono博士, 平成16年11月1日より津金桃実君が研究生として新たに研究に加わった。また, 田中友隆君, 野口琢矢君, 右近 圭君が博士(医学)の学位を取得した。

本年度におけるシンポジウム・招待講演・基調講演・特別講演・教育講演は, 教授西山正彦の, ①19th World Congress of International Society for Digestive Surgery: Genome-wide gene expression analysis and chemosensitivity prediction. (Yokohama), ②第104回日本外科学会定期学術集会: 基調講演「癌化学療法の新展開を探る。シンポジウム6 癌治療 - 化学療法の最前線 - 」(大阪), ③第105回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会: パネルディスカッション「3. 臨床薬理の立場から。頭頸部癌治療の現状と将来展望」(広島), ④第1回癌治療開発研究シンポジウム: 「癌化学療法基礎開発研究: 創る, 選ぶ」(別府), ⑤第6回うつくしま癌フォーラム: 特別講演「新時代の癌化学療法: 進化する開発研究と臨床基礎」(郡山), ⑥第63回日本癌学会学術講演会: ランチョンセミナー「テーラーメイド癌化学療法の確立研究 - 基礎から臨床へ - 」(福岡), ⑦第2回DIF講演会: 特別講演「癌化学療法~新たな方向性とその進化~」(さいたま), ⑧第25回医療と倫理を考える会: 「新しい癌医療を創る: 開発研究と倫理」(広島), ⑨第42回日本癌治療学会総会: パネルディスカッション3 「研究支援組織としてのNPOの活動とその課題」(京都), ⑩第2回転移性乳癌治療

勉強会：特別講演「癌化学療法をどう変える - 創薬と個別化に挑む - 」(静岡), ⑪日本癌病態治療研究会学術講演会：特別講演「オーダーメイド癌化学療法基礎開発研究：新段階への移行を目指して」, 助教授檜山桂子の, ⑫第二世代トランスクリプトーム解析セミナー：「第二世代トランスクリプトーム解析」(東京), ⑬第63回日本癌学会学術総会：ワークショップ「正常細胞と癌細胞における特異的・普遍的不死化規定因子の探索」(福岡), ⑭第7回癌治療増感研究シンポジウム：シンポジウム「分子情報に基づく癌化学療法の治療効果予測」(奈良), ⑮第91回山口県医師会生涯研修セミナー：特別講演「ゲノム情報 - ラボからベッドサイドへ - 」(山口), ⑯広島県女性医師の会総会：講演とパネルディスカッション「女性医師の生き方を考える」(広島), ⑰広島大学第一内科セミナー「マイクロアレイからの癌治療戦略」(広島), ⑱放射線影響研究所婦人部セミナー「女性特有の疾患」(広島), ⑲東京海上日動火災保険健康セミナー「女性特有の疾患とがん」(広島), 助手谷本圭司の, ⑳第46回歯科基礎医学会学術大会：若手サテライトシンポジウム「固形癌における低酸素応答機構とその異常」(広島), ㉑広島大学第一内科セミナー「固形癌における低酸素応答制御機構とその異常」(広島), ㉒埼玉医科大学ゲノム医学研究センターセミナー「固形腫瘍における低酸素応答機構 - 癌の発生・進展におけるHIF-1 経路の役割について - 」(埼玉)の22講演であった。

教授西山正彦は、「日本癌学会評議員」,「日本癌治療学会：評議員, 編集委員, がん治療専門医制度委員会委員, 関連学会連絡委員会委員」,「日本臨床腫瘍学会：評議員」,「日本胃癌学会：評議員」,「日本消化器癌発生学会評議員」,「がん分子標的治療研究会世話人」,「日本癌病態治療研究会世話人」,「制癌剤適応研究会世話人」,「広島癌先端治療セミナー顧問」,「文部科学省科学技術動向研究センター専門調査員」,「がん集学的治療研究財団：評議員, 臨床試験委員会委員」,「特定非営利活動法人日本がん臨床試験推進機構：評議員, 学術委員」,「特定非営利活動法人ひろしまがん治療開発推進機構：副理事長, 倫理審査委員, 学術委員」を担当した。また, 助教授檜山桂子は,「日本内科学会中国地方会評議員」,「日本呼吸器学会中四国地区評議員」,「日本肺癌学会中四国地区評議員」,「日本婦人科がん分子標的研究会学術顧問」,「大久野島毒ガス傷害研究会幹事」,「肺分子病態研究会幹事」,「広島KL-6研究会アドバイザー」,「広島癌先端治療セミナー幹事」,「財団法人 放射線影響研究所：専門委員(遺伝カウンセラー)」,「特定非営利活動法人ひろしまがん治療開発推進機構倫理審査委員」を担当した。

当研究分野における研究課題とその成果は以下のごとくである。

1. 「個」の医療(オーダーメイド癌治療)の確立研究

i) ゲノム薬理学的解析による至適癌化学療法の選択

参加研究者：金安美香, 下國達志, 野口琢矢, 谷本圭司, 檜山桂子, 西山正彦

目的：抗癌剤に対する応答には著明な個人差が存在する。抗癌剤に対する生体応答(抗腫瘍効果, 有害事象)の個体差を遺伝子レベルの変化で捉え, その差に対応して至適治療を選択する個別癌化学療法系を確立する。

方法・結果：網羅的あるいは選択された因子の遺伝子発現解析とともに, CYP3A4, CYP2C8, carboxylesterase などの薬剤代謝酵素の遺伝子多型解析系を樹立, ゲノム薬理学的解析を並行する全国共同臨床研究として胃癌パクリタキセル(TXL)週一回投与法, および大腸癌 CPT-11術後単独投与のゲノム薬理学的 phase II 研究を進めた(腫外及び計量生物研究分野, 岩手医科大学, 昭和大学, 北海道大学, 大阪消化器癌化学療法研究グループなどとの共同研究)。CYP2C8 遺伝子のプロモーター領域の新たな多型とともに, ヒト癌細胞における carboxylesterase 1A1 および 1A2 遺伝子発現と抗癌剤 CPT-11 応答との関連に関する新知見を見出し, 現在その詳細についても検討を進めている。

ii) 抗癌剤個別化化学療法の実現へ向けた効果予測モデルの確立

a) 複数遺伝子の発現構造の理解に基づく効果予測システム：基盤モデルの開発

参加研究者：田中友隆, 金安美香, 下國達志, 野口琢矢, 谷本圭司, 檜山桂子, 西山正彦

背景・目的：多数の関連遺伝子の発現状況の相互構造の理解に基づく抗癌剤効果の予測システムの構築を目指し, その基盤となりうる開発研究の方法論を確立する。

方法・結果：消化器癌・肺癌を中心とするヒト腫瘍細胞19株の網羅的遺伝子発現解析を行い, 抗癌剤効果予測に

重要な12遺伝子を選択し、それらの遺伝子発現量から8種類の抗癌剤効果を同時に予測できる初期モデルを確立した。また、高度進行胃癌における5-FU 効果予測のための臨床効果予測モデルの設定にも至った。それらはいずれも優れた予測性を示唆するものであったことから、ここで用いた独自の1) 発現シグナル標準化法, 2) 目的遺伝子抽出法, 3) 多数の関連遺伝子の発現状況の相互構造の理解に基づく抗癌剤効果の予測系の開発手法, を基盤的方法論として、新たな抗癌剤効果予測モデルの確立研究に移行することとした。

b) 食道癌個別化化学療法に向けた効果予測システムの開発

参加研究者：下國達志，野口琢矢，小松正明，田中友隆，谷本圭司，檜山桂子，西山正彦

目的：食道癌は未だ予後不良であり，より効果的で安全な化学療法の確立は急務と考えられる．食道癌細胞株を用いた解析から，多臓器由来の癌細胞の遺伝子発現プロファイルとの相違を明らかにし，より正確な食道癌化学療法の効果予測モデルの確立を目指す．

方法・結果：cDNA マイクロアレイ，オリゴアレイを用いて，ヒト食道癌20細胞株の網羅的遺伝子発現解析を行った．また MTT 法にて5-FU，CDDP，DOX など8種の抗癌剤に対する各細胞株の感受性（IC₅₀値）を測定し，それら遺伝子発現量と IC₅₀値との順位相関解析から，各抗癌剤に関わる感受性関連遺伝子を抽出した．抗癌剤の効果規定遺伝子の抽出段階として，1) 抗癌剤感受性に関して機能証明されている遺伝子（機能・関連が既知の既知遺伝子），2) cDNA マイクロアレイ，オリゴアレイの順位相関解析で共に高い相関（ $P < 0.01$ ）を示した未報告の遺伝子（機能・関連が未知の新規遺伝子）の2段階の選択を行った．real-time RT-PCR での再現性確認を行った結果，既知遺伝子としては *BCL2*，*DPYD*，*GSTP1*，*MGMT*，*MYC*，*POR*，*XRCC1* の7遺伝子（*BCL2*，*MYC*，*XRCC1* は食道癌特異的な因子），新規遺伝子としては9遺伝子を選択した．消化器癌・肺癌19細胞株で抽出された遺伝子群との比較を行った結果，同一の抗癌剤においても抽出された効果規定遺伝子に相違が見られた．重回帰分析を用いて，これらの遺伝子発現量を総合して IC₅₀値という単一指標（数値）に変換する予測式を，既知7遺伝子，新規9遺伝子それぞれを用いて作成した．更に食道切除術後に5-FU 中心の化学療法を施行された食道癌症例を用いた臨床照合研究を行い，選択した遺伝子群の発現量を生存期間，無再発生存期間に変換する臨床効果予測モデルを作成することができた．*in vitro*，*in vivo* いずれの予測式においても，特に新規遺伝子から構成される予測式により算出された数値は効果指標の実測値と有意な相関性を示し，本予測モデルは高い予測性をもつことが示された．今後は前向き臨床研究による予測モデルの有用性評価，選択した9遺伝子の抗癌剤効果における機能解析，更なる抗癌剤効果規定遺伝子の探索を進めていく予定である．

c) 卵巣癌個別化化学療法に向けた効果予測システムの開発

参加研究者：小松正明，檜山桂子，温泉川真由，谷本圭司，西山正彦

目的：卵巣癌の予後を改善するためには，個人差に対応した至適抗癌剤治療を選択することが重要である．卵巣癌個別化化学療法実現のため，まず key drug である paclitaxel, cisplatin を対象として，複数遺伝子の発現量を指標とした効果予測システム開発を目指す．

方法：897の文献を調べ，複数の施設で感受性規定因子としての機能証明がなされている37遺伝子を効果予測指標の候補として抽出した．卵巣癌細胞株10株を用い，抽出された遺伝子の発現量を real-time RT-PCR 法を用いて解析するとともに，MTT assay により paclitaxel, cisplatin の IC₅₀値を求めた．回帰分析にて遺伝子発現量と IC₅₀ 値との相関性を解析し，関連性が確認された遺伝子を選択した（ $P < 0.05$ ）．重回帰分析（NL Reg.）によりそれら遺伝子の発現構造を理解し，それを基盤として抗癌剤感受性を定量的に予測しうる式を求めた．また新鮮摘出卵巣癌31検体を用いて，選ばれた予測因子を用いた臨床効果予測式の設定も試みた．

結果：両抗癌剤の感受性を予測する指標遺伝子として，paclitaxel では *ABCB1*，*CYP2C8*，*MGMT*，*NQO1* の4遺伝子，cisplatin では *IL6*，*BCL2*，*VEGF*，*ERCC2*，*NQO1* の5遺伝子が選択された．これらの遺伝子の発現量を代入することで各々の効果（IC₅₀値）を予測する式の設定に至った．また臨床検体についても，これらの予測因子を用いて全生存期間，無増悪期間の予測式が設定できた．現在さらなる新規指標を求めてオリゴアレイを用いた網羅

的遺伝子発現解析を進めている。

2. 難治性固形癌に対するゲノム創薬標的の策定と分子標的治療の開発

a) 食道癌細胞における不死化規定因子の同定

参加研究者：野口琢矢，檜山桂子，西村陽平，谷本圭司，西山正彦

目的：癌細胞の不死化にはテロメラーゼの活性化とともにテロメア長の安定化が重要であり，その規定因子は抗癌治療の有用な分子標的になると考えられる．食道癌特異的な不死化規定因子を策定し，画期的な抗癌治療の開発を目指す．

方法：1) 食道癌細胞と非腫瘍性食道細胞の計23株について，*hTERT* 発現レベルおよびテロメア長をそれぞれ real-time RT-PCR，サザンブロット法にて解析した．2) オリゴアレイを用いた網羅的発現解析により，食道癌細胞で特異的な発現を示す遺伝子，またその発現がテロメア長やテロメラーゼ活性と関連性を示す遺伝子を探索した．

結果と考察：1) 非腫瘍性食道細胞に比し，9割の食道癌細胞で2倍以上の高発現または1/2以下の低発現を示した遺伝子はそれぞれ196，393個であった．このうちテロメア長短縮細胞に比し，延長細胞において2倍以上の高発現または1/2以下の低発現を示した遺伝子はそれぞれ5，21個であった．これらの遺伝子は，食道癌細胞におけるテロメア長安定化，不死化に関わる遺伝子の候補と考えられた．現在，これらのうち分子標的として期待される遺伝子においては発現ベクターを作製し，機能解析中である．

b) 子宮体癌細胞における不死化規定因子の同定

参加研究者：温泉川真由，檜山桂子，谷本圭司，西山正彦

目的：子宮内膜は正常組織においてもテロメラーゼ活性が認められるが，そのレベルは癌細胞よりも低く，不死化しているとは考えられていない．テロメラーゼを有する正常組織と癌組織の遺伝子発現レベルを比較し，子宮体癌細胞の不死化に関わる遺伝子を同定し，子宮体癌における新たな抗癌治療の開発を目指す．

方法：1) 子宮体癌組織と前癌病変，近傍正常組織について，これまでに抽出されてきた癌細胞の不死化に関わる遺伝子候補の発現レベルおよびテロメア長をそれぞれ real-time RT-PCR，サザンブロット法にて解析し，子宮体癌の不死化に関わる遺伝子が他の癌と共通するか否か検討する．2) オリゴアレイを用いた網羅的発現解析により，子宮体癌に特異的な不死化関連遺伝子を抽出する．

結果と考察：これまでに他癌種の細胞の解析で抽出されてきた癌細胞不死化規定遺伝子候補の子宮体癌組織における発現は，その多くがやはり共通していたが，約1割の遺伝子については異なる発現変動をしていた．一部の遺伝子については，正常組織との有意な差は認められなかったが，癌組織間で病期や予後と関連性を認め，癌化よりもその後の進展に関わる遺伝子である可能性が考えられた．

c) テロメア3'overhangと抗癌剤感受性の解析

参加研究者：西村陽平，檜山桂子，野口琢矢，下國達志，谷本圭司，西山正彦

目的：特定の遺伝子発現レベルだけでは説明のつかない抗癌剤感受性について，染色体構造の安定性に関わるテロメア3'overhang との関連性を解明することで，抗癌剤効果の投与前予測を目指す．

方法：種々のヒト癌細胞株について，MTT 法により測定された各種抗癌剤の感受性 (IC_{50} 値) と，T-OLA (telomere oligonucleotide ligation assay) 法により測定したテロメア3'overhang 長とを比較検討した．またテロメア3'overhang 長が短縮もしくは延長している細胞で共通して発現変動する遺伝子の抽出を行った．

結果と考察：テロメア3'overhang 長は必ずしも抗癌剤感受性とは一定の関連性は示さないものの，テロメア3'overhang 長の短縮細胞で多剤高度耐性を示すものが認められた．またテロメア3'overhang 長と関連して発現変動している遺伝子も抽出された．現在，抗がん剤処理前後におけるテロメア3'overhang 長および関連遺伝子の変動

の解析，テロメア 3' overhang と相同配列・鋳型配列導入による抗癌剤感受性への影響を解析している．

d) テロメラーゼ発現および不死化制御機構の解析

参加研究者：檜山桂子，谷本圭司，津金桃実，野口琢矢，西村陽平，西山正彦

目的：ほとんどすべての癌において無限増殖に必須であるとともに十分条件とも考えられるテロメラーゼの活性化は，正常体細胞においては必須であっても十分ではない．このテロメラーゼ発現制御機構の癌細胞と非癌細胞における違いを解明し，癌により特異的な新たな抗癌戦略を開発することを目指す．

方法：1) テロメラーゼ導入不死化線維芽細胞・血管内皮細胞における遺伝子発現プロファイルをcDNAマイクロアレイおよびオリゴアレイにより網羅的に解析した．2) 各種ヒト正常細胞にテロメラーゼを導入した延命／不死化細胞，SV40を導入したトランスフォーム細胞を樹立し，遺伝子発現プロファイルを解析した．3) 各種ヒト正常培養細胞および癌細胞株においても遺伝子発現プロファイルを解析した．4) 方法1) - 3) で得られた結果を比較し，正常細胞と癌細胞の不死化機構の違いを検討した．

結果と考察：1) テロメラーゼ導入不死化線維芽細胞・血管内皮細胞と導入前の細胞の遺伝子発現プロファイルの比較では，不死化過程で常に高発現もしくは低発現している遺伝子はそれぞれ18，20遺伝子抽出されたが，両者で共通する遺伝子は一つもなく，正常細胞における不死化機構は，細胞により大きく異なることが考えられた．また，これらの遺伝子は，従来報告されているがん細胞における発現変動とも異なっており，癌細胞の不死化機構とも異なると考えられた．2) 各種ヒト正常培養細胞，癌細胞株，ヒト正常細胞にテロメラーゼを導入した延命／不死化細胞，SV40を導入したトランスフォーム細胞間でオリゴアレイの発現プロファイルを比較し，正常および癌細胞の不死化にともない共通して発現変動する遺伝子および癌細胞の不死化のみで発現変動する遺伝子を抽出した．現在それらの遺伝子の機能解析を進めている．

3．フッ化ピリミジン系抗癌剤の作用発現機構

i) Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 遺伝子 (DPYD) の発現調節機構

a) DPYD 転写調節機構の解明

参加研究者：右近 圭，谷本圭司，野口琢矢，下國達志，檜山桂子，西山正彦

目的：5-fluorouracil (5-FU) は主要な抗癌剤として汎用されており，dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) はその減成酵素である．同遺伝子 (DPYD) の発現量は5-FU 効果と逆相関することが知られており，その発現量調節機構は5-FU の効果発現に大きな影響を与えている．5-FU 個別化化学療法への応用展開を目的とし，DPYD 発現調節機構の解明を目指す．

方法・結果：1) 独自にクローニングした全長約3.0 kb 領域の DPYD promoter luciferase reporter を腎細胞293T および胃癌細胞 HSC42に遺伝子導入し，プロモーター活性を比較した．その結果，DPYD 5' 上流域には複数の転写調節領域の存在が示唆され，特に nt-338 ~ -64の転写促進領域は，調べた両細胞株に共通して存在していた．2) HSC42細胞において，PMA/ionomycin 処理により DPYD 発現量の薬剤濃度および処理時間依存的な増加が real-time RT-PCR 法にて観察された．また，変異体を用いたレポーター実験により，上記転写促進領域 (nt-338 ~ -64) 内に応答領域があることが明らかとなった．3) HSC42由来の核抽出液を用いた EMSA 法により，上記転写促進領域内に PMA/ionomycin 処理により DNA 結合が促進される蛋白複合体結合領域の存在が明らかとなった．さらに，同複合体は AP-1 consensus 結合配列を用いた競合実験や，抗 c-jun，抗 c-fos 抗体を用いた実験により，AP-1が結合し転写調節を行っている事が示された．今後，AP-1活性を調節することによる DPYD 発現量の調節，さらに，5-FU 感受性の調節の可能性について検討していく予定である．

b) *DPYD*プロモーター領域のメチル化の意義

参加研究者：野口琢矢，谷本圭司，下國達志，右近 圭，檜山桂子，西山正彦

目的：*DPYD* プロモーター領域の特異的な配列に注目し，同領域のメチル化と *DPYD* 発現および 5-FU 効果との関連性について検討する．

方法・結果：1) 消化器癌を中心としたヒト培養腫瘍細胞株の *DPYD* 発現量を real-time RT-PCR 法にて，*DPYD* プロモーター活性を *DPYD* promoter luciferase reporter の遺伝子導入実験により測定した．その結果，発現量と活性は細胞株によりさまざまであり，中には，プロモーター活性は高いが，発現量が検出できない細胞株も存在することが明らかとなった．2) 複数の細胞株をメチル化阻害剤 (5-azacytidine) にて処理し，*DPYD* 発現量や 5-FU 感受性の変化を，それぞれ real-time RT-PCR 法，MTT 法により測定した結果，メチル化阻害剤処理による *DPYD* 発現量の増加とともに，5-FU 感受性の変化も認められた．3) *SssI* methylase を用いた *in vitro* メチル化処理による *DPYD* プロモーター活性の変化を測定した結果，プロモーター活性の直接的な抑制が認められた．4) 各細胞株のゲノム DNA について bisulfite sequence 解析を行い，プロモーター領域のメチル化の有無，部位の同定を試みた．その結果，*DPYD* 発現が抑制されている細胞では，転写開始点近傍のメチル化が検出された．以上より，*DPYD* 発現抑制に，プロモーター領域，特に転写開始点近傍のメチル化が関与し，5-FU 感受性に影響を与えていることが示唆され，同領域のメチル化の存在診断による 5-FU 応答予測の可能性が考えられた．現在，臨床検体を用いた同領域のメチル化の解析を進行中である．

ii) 代謝・活性化酵素遺伝子群の発現調節機構の解明と応用展開

参加研究者：谷本圭司，下國達志，右近 圭，野口琢矢，檜山桂子，西山正彦

目的：5-FU 系抗癌剤の代謝・活性化に関わる酵素遺伝子群の発現調節機構の解明を通じ，代謝・活性化経路全体の動態を理解し 5-FU 系抗癌剤効果・副作用予測，さらには，効果増強・副作用減弱を実現化する新規治療法の開発を目指す．

方法・結果：消化器癌・肺癌を含む39細胞株の 5-FU 感受性 (IC_{50} 値) を MTT 法にて測定した．感受性は細胞個々で大きく異なり，5-FU 系抗癌剤の代謝・活性化に関わる酵素遺伝子群の発現調節機構に著明な個体差があるものと考えられた．これらの細胞株における 5-FU 代謝・活性化酵素遺伝子群の発現を real-time RT-PCR 法にて測定したところ，*UMPS*, *TK1*, *RRM1*, *RRM2*, *RRM2B*, *TYMS* の間で発現量に相関が認められた．この際，発現量が 5-FU の IC_{50} 値と相関する遺伝子は認められなかったが，数種の消化器癌細胞株を 5-FU 等で処理後，遺伝子発現解析を行ったところ，幾つかの遺伝子群による協調的・時間依存的な発現変動が認められた．それらはその変動様式より *UMPS*, *TK1*, *RRM1*, *RRM2*, *TYMS* と *ECGF1*, *UP*, *RRM2B* の 2 群に分けられた．現在，これら遺伝子のプロモーターレポーターを用いて，協調的発現変動機構の解明研究を進めている．

4. 固形癌における低酸素応答分子機構の解明研究

背景と目的：酸素供給の恒常性維持は生命活動に必須であるが，最近，その分子機構が様々な病態発生・進展機構に関わることが明らかになりつつある．特に，Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) は，低酸素に応答し活性化する転写因子であり，その幅広い標的遺伝子群からみて，癌などの様々な疾病に関わると考えられている．本研究では固形腫瘍の発症・進展における HIF-1 経路を中心とした低酸素応答の分子機構を解明し，治療法開発へ応用展開することを最終目標に据え，様々な取り組みを行っている．

a) 低酸素応答性転写因子 HIF-1 α 遺伝子導入マウスの作成・解析

参加研究者：谷本圭司，中村秀明，金安美香，檜山桂子，西山正彦

目的：ヒトで見出された遺伝子型 *HIF-1 α* を遺伝子導入したマウスを作成し，癌の増殖・進展および転移能に与える影響を分子生物・病理学的に解析する．

方法・結果：ヒト *HIF-1α* 野生型 (WT) またはアミノ酸置換型 (P582S および A588T) 遺伝子，計 3 種類の FLAG 標識 *HIF-1α* 遺伝子導入マウスを BALB/c マウスにて作成を試み，3 系統以上の F1 ~ F4 を得ている．さらに，遺伝子導入マウス組織での導入遺伝子およびその標的遺伝子発現を real-time RT-PCR 法にて検討した．その結果，遺伝子導入マウスの胃，小腸，腎臓，脾臓，子宮，および皮膚にてヒト *HIF-1α* 遺伝子の発現を認めた．特に，脾臓における *HIF-1α* 遺伝子および標的遺伝子の発現量は高く，多くの個体で脾腫が認められた．平成17年度中に低酸素等のストレス条件下における表現型の解析を行う予定である．

b) human *MLH1* 遺伝子の低酸素応答機構の解明

参加研究者：谷本圭司，中村秀明，温泉川真由，檜山桂子，西山正彦

目的：DNA ミスマッチ修復遺伝子 human *MLH1* は，様々な癌で染色体欠失や過剰メチル化による抑制が認められており，重要な癌抑制遺伝子として認知されている．近年，その発現が 5-FU 系抗癌剤の重要な効果規定因子であることが示されたが，その詳細なメカニズムには不明な点が多い．癌細胞の治療抵抗性獲得の要因である低酸素との関連に焦点を当て，低酸素環境下における *hMLH1* 発現調節機構の解明を試みた．

方法・結果：HepG2細胞 DNA より，*hMLH1* 遺伝子 5' 上流領域をクローニングし，ルシフェラーゼレポーターシステムを構築した．HepG2や MCF-7におけるレポーター実験の結果，*hMLH1* 遺伝子領域-1653 ~ -4 (転写開始点を +1) は強いプロモーター活性を示した．低酸素応答性転写抑制因子である DEC1/2 を共遺伝子導入すると，転写活性は約10% までに抑制された．欠失変異体を用いた解析により，DEC1/2 応答配列は *hMLH1* 遺伝子領域-273 ~ -4内に存在することが示された．同領域内の 4 箇所の E-box 類似配列の塩基置換変異体を用いた解析により，2 箇所の応答配列が示唆された．以上より，低酸素応答性転写抑制因子 DEC1/2 による *MLH1* 遺伝子発現抑制機構が初めて示された．現在，さらに詳細な分子機構と共に，癌治療への展開について検討中である．

c) 口腔癌低酸素領域における抗癌剤および放射線耐性獲得機構の解明

参加研究者：中村秀明，谷本圭司，温泉川真由，檜山桂子，西山正彦

目的：固形腫瘍に存在する低酸素領域は，腫瘍の増殖・進展および治療抵抗性獲得に関わっていると考えられる．その機構の一つとして，低酸素環境下におけるゲノム不安定性形質獲得が考えられる．本研究は固形腫瘍内の低酸素領域におけるゲノム不安定性獲得機構，さらには抗癌剤や放射線治療耐性獲得機構を解明する．

方法・結果：口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC2, HSC3, HSC4, Ca9-22, KOSC2, KB 等) をさまざまな酸素分圧条件 (O_2 分圧 1 - 10% または，様々な濃度の $CoCl_2$ 処理)，低酸素曝露時間，短時間繰返しまたは持続曝露下にて継代培養し，細胞増殖の変化を観察した．その結果，これらの細胞株それぞれの低酸素応答に差異が有ることが明らかとなった．さらに，低酸素処理時間による遺伝子発現変動を *VEGF* 等で比較した結果，細胞により誘導形態が異なっている事も明らかとなった．現在，これら条件下における抗癌剤の感受性の変動を MTT 法にて，また，遺伝子発現変動を比較するためのオリゴアレイ解析の準備を行っている．また，癌腫による差異を検討するために，子宮体癌を用いた解析も行っている．

d) HIF-1 蛋白複合体の解析

参加研究者：谷本圭司，中村秀明，檜山桂子，西山正彦

目的：本研究は固形腫瘍の増殖・進展に関わると考えられる HIF-1 の機能を促進または，抑制する分子を同定し，分子標的治療への応用の可能性を検討する．

方法・結果：DNA 結合型の HIF-1 複合体を精製に用いる為，biotin 標識 3xHRE (hypoxia response element) を大量に調製する鋳型 plasmid vector (pGEM-3xHRE) を作製した．HepG2, 293T, MCF-7 を低酸素条件下で培養し，それらの核抽出液より biotin 標識 3xHRE および avidin 処理磁気ビーズを用いて HIF-1 複合体を精製し，複合体に HIF-1α が含まれていることを確認した．現在，低酸素の時間経過による複合体の変動について検討中である．

A . 原著

- 1 . Shay, J.W.^{*1}, Hiyama, K., Hiyama, E.^{*2} (^{*1}Univ. Texas Southwest. Med. Ctr., ^{*2}Natl. Sci. Ctr. Basic Res. Develop.): Telomerase and lung cancer. *In*: HI Pass, DP Carbone, DH Johnson, JD Minna, AT Turrisi III (eds.), Lung Cancer Principles and Practice, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA, pp.160-171, 2004.12.
- 2 . Nishiyama, M.: Cancer pharmacogenomics: progress and obstacles toward the goal. *Int. J. Clin. Oncol.*, 10(1): 3-4, 2005.2. (G)
- 3 . Tanaka, T., Tanimoto, K., Otani, K.^{*1}, Satoh, K.^{*1}, Ohtaki, M.^{*1}, Yoshida, K.^{*2}, Toge, T.^{*2}, Yahata, H.^{*3}, Tanaka, S.^{*4}, Chayama, K.^{*5}, Okazaki, Y.^{*6}, Hayashizaki, Y.^{*6}, Hiyama, K., Nishiyama, M. (^{*1}Dept. Environ. Biometr., ^{*2}Dept. Surg. Oncol., ^{*3}Dept. Ope. Manag., Univ. Hosp., ^{*4}Dept. Endoscopy, Univ. Hosp., ^{*5}Dept. Med. & Mol. Sci., Grad. Sch. Biomed. Sci., ^{*6}Lab. Genome Explor. Res. Group, Riken Genomic Sci. Ctr., Riken Yokohama Inst.): Concise prediction models of anticancer efficacy of 8 drugs using expression data from 12 selected genes. *Int. J. Cancer*, 111(4): 617-626, 2004.9. (G, I)
- 4 . Ukon, K., Tanimoto, K., Shimokuni, T., Noguchi, T., Hiyama, K., Tsujimoto, H.^{*1}, Fukushima, M.^{*1}, Toge, T.^{*2}, Nishiyama, M. (^{*1}Hanno Res. Ctr., Taiho Pharm. Co., LTD., ^{*2}Dept. Surg. Oncol.): Activator protein accelerates dihydropyrimidine dehydrogenase gene transcription in cancer cells. *Cancer Res.*, 65(3): 1055-1062, 2005.2. (G, I)
- 5 . Noguchi, T., Tanimoto, K., Shimokuni, T., Ukon, K., Tsujimoto, H.^{*1}, Fukushima, M.^{*1}, Noguchi, T.^{*2}, Kawahara, K.^{*2}, Hiyama, K., Nishiyama, M. (^{*1}Hanno Res. Ctr., Taiho Pharm. Co., Ltd., ^{*2}Dept. Surg. II, Faculty of Med. Oita Univ.): Aberrant methylation of *DPYD* promoter, *DPYD* expression, and cellular sensitivity to 5-fluorouracil in cancer cells. *Clin. Cancer Res.*, 10(20): 7100-7107, 2004.10. (G, I)
- 6 . Yoshida, K.^{*1}, Hirabayashi, N.^{*2}, Takiyama, W.^{*2}, Ninomiya, M.^{*3}, Takakura, N.^{*3}, Sakamoto, J.^{*4}, Nishiyama, M., Toge, T.^{*1} (^{*1}Dept. Surg. Oncol., ^{*2}Asa City Hosp., ^{*3}Hiroshima City Hosp., ^{*4}Dept. Epidemiol. Clin. Res. Inform. Management, Grad. Sch. Med., Kyoto Univ.): Phase I study of combination therapy with S-1 and docetaxel (TXT) for advanced or recurrent gastric cancer. *Anticancer Res.*: 24 (3b), 1843-1851, 2004.5-6. (G, I)
- 7 . Kumazaki, T., Hiyama, K., Takahashi, T.^{*1}, Omatsu, H.^{*2}, Tanimoto, K., Noguchi, T., Hiyama, E.^{*3}, Mitsui, Y.^{*1}, Nishiyama, M. (^{*1}Ctr. For Tsukuba Adv. Res. Alliance, Univ. Tsukuba, ^{*2}Dept. Hosp. Pharm., Kobe Univ. Hosp., ^{*4}Dept. General Med., Univ. Hosp.): Differential gene expressions during immortalization of normal human fibroblasts and endothelial cells transfected with human telomerase reverse transcriptase gene. *Int. J. Oncol.*, 24(6): 1435-1442, 2004.6. (G, I, R)
- 8 . Kuwai, T.^{*1}, Kitadai, Y.^{*1}, Tanaka, S.^{*2}, Kuroda, T.^{*1}, Ochiuni, T.^{*1}, Matsumura, S.^{*3}, Oue, N.^{*3}, Yasui, W.^{*3}, Kaneyasu, M., Tanimoto, K., Nishiyama, M., Chayama, K.^{*1} (^{*1}Dept. Med. & Mol. Sci., Grad. Sch. Biomed. Sci., ^{*2}Dept. Endoscopy, Univ. Hosp., ^{*3}Dept. of Mol. Pathol., Grad. Sch. Biomed. Sci.): Single nucleotide polymorphism in the hypoxia inducible factor-1 α gene in colorectal carcinoma. *Oncol. Rep.*, 12 (5): 1033-1037, 2004.11. (G, I)
- 9 . Ikegami, Y.^{*}, Hiyama, K., Haruta, Y.^{*}, Oguri, C.^{*}, Yamasaki, M.^{*}, Kohno, N.^{*} (^{*}Dept. Mol. Int. Med., Grad. Sch. Biomed. Sci.): Novel aberrations of HPS1 mRNA detected in a case of Hermansky-Pudlak syndrome with pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc. Dif.*, 21(1): 78-79, 2004.3. (I)
- 10 . Ikegami, Y.^{*}, Yokoyama, A.^{*}, Haruta, Y.^{*}, Hiyama, K., Kohno, N.^{*} (^{*}Dept. Mol. Int. Med., Grad. Sch. Biomed. Sci.):

- Circulating natural killer T cells in patients with asthma. *J. Asthma*, 41(8): 877-882, 2004.12. (I)
- 11 . Hiyama, E.^{*}, Hiyama, K. (Natl Sci. Crt. Basic Res. Develop.): Telomerase detection in the diagnosis and prognosis of cancer. *Cytotechnology*, 45(1-2):64-74, 2004.12. (I)
 - 12 . Tashiro, S.^{*1}, Muto, A.^{*1}, Tanimoto, K., Tsuchiya, H.^{*1}, Suzuki, H.^{*1}, Hoshino, H.^{*2,3}, Yoshida, M.^{*3,4}, Walter, J.^{*1}, Igarashi, K.^{*1,3} (^{*1}Dept. Biomed. Chem. Leukemia Prog. Project, Grad. Sch. Biomed. Sci., ^{*2}Dept. Biotechnol., Univ. Tokyo, ^{*3}Chem. Genet. Lab., RIKEN, ^{*4}CREST Res. Project, Jpn Sci. Technol. Agency): Repression of PML nuclear body-associated transcription by oxidative stress-activated bach2. *Mol. Cell. Biol.*, 24(8): 3473-3484, 2004.4. (I)
 - 13 . 西山正彦：特集：外科学への新たな挑戦 8. 癌化学療法の最前線．外科，66(4)：418-422, 2004.4.
 - 14 . 西山正彦：頭頸部癌治療の現状と将来展望 - ゲノム薬理学からみた将来の化学療法 - ．日耳鼻会報，107(12)：1027-1032, 2004.12.
 - 15 . 西山正彦：特集 ゲノム情報とがん薬物療法 ゲノム情報と薬剤感受性 2) 消化器がん．血液・腫瘍科，49(6)：572-577, 2004.12.
 - 16 . 西山正彦：癌化学療法の新展開を語る．特集 癌治療 - 化学療法の最前線 - ．癌の臨床，51(1)：1-4, 2005.1.
 - 17 . 西山正彦：特集・抗悪性腫瘍薬の臨床薬理学 8. アルキル化剤．産科と婦人科，72(2)：207-216, 2005.2.
 - 18 . 西山正彦：特集 先端バイオテクノロジー：先進医療開発を目指した挑戦的研究 7. テイラード癌化学療法．Surgery Frontier, 12(1): 46-52, 2005.3.
 - 19 . 檜山桂子，谷本圭司，西山正彦：特集「呼吸器の pharmacogenomics」肺癌の pharmacogenomics. THE LUNG perspectives, 12(3): 20-26, 2004.7.
 - 20 . 小松正明，竹原和宏^{*}，藤井恒夫^{*}(^{*}国病呉医療セ・産婦)：子宮体癌の治療 High risk 群の術後化学療法．日本臨床，62(10): 356-359, 2004.10.
 - 21 . 日浦昌道，野河孝充，伊藤啓二郎，温泉川真由，横山 隆，大下孝史(四国がんセ，婦)：再発子宮頸癌の早期発見に対する腫瘍マーカー測定の臨床的意義．日婦腫学会誌，22 (1)：13-17, 2004.6.
 - 22 . 宮澤輝臣^{*1}，宮津由香^{*1}，檜山桂子，檜山英三^{*2}，(^{*1}広島市民病，^{*2}自然科学研究支援開発・生命医科学)：光線力学的治療：中心型早期肺癌におけるその実際と気道上皮テロメラーゼ発現．現代医療，36 (10): 2129-2134, 2004.10.
 - 23 . 温泉川真由，塩野直子^{*1}，寺本秀樹^{*1}，永井宣隆^{*2}(^{*1}広島鉄道病・産婦，^{*2}医歯薬・生殖器官病態制御)：放線菌を検出した骨盤腹膜炎の1例．日臨細胞学会広島県支部会報，25：72-74，2004.12.
 - 24 . 横山 隆^{*}，温泉川真由，伊藤啓二郎^{*}，大下孝史^{*}，野河孝充^{*}，日浦昌道^{*}(^{*}四国がんセ，婦)：卵巢粘液性腺癌の治療成績．産科と婦人科，71(6)：807-811, 2004.12.

B . 学会発表等

- 1 . Nishiyama, M.: Genome-wide gene expression analysis and chemosensitivity prediction. Symposium, 19th World Congress of Internatl Soc. Digest. Surg., Yokohama, 2004.12. (G)
- 2 . Hiyama, K., Tanimoto, K., Noguchi, T., Otani, K.^{*1,2}, Ohtaki, M.^{*1}, Satoh, K.^{*1}, Hiyama, E.^{*3}, Nishiyama, M. (^{*1}Dept. Environ. Biometr., ^{*2}Japan Biol. Informat. Consortium, ^{*3}N-BARD): Differential expression profiles in cancer-derived immortal cells and *in-vitro* immortalized cells. AACR Special Conference: The Role of Telomeres and Telomerase in Cancer, San Francisco, U.S.A., 2004.11. (G, R)
- 3 . Yoshida, K.^{*1}, Toge, T.^{*1}, Takagane, A.^{*2}, Saito, K.^{*2}, Tsuburaya, A.^{*3}, Kobayashi, O.^{*3}, Yamamoto, W.^{*4}, Matsukawa, M.^{*4}, Kuwano, H.^{*5}, Nishiyama, M. (^{*1}Dept. Surg. Oncol., ^{*2}Iwate Med. Univ., ^{*3}Kanagawa Cancer Ctr. ^{*4}Toyosu Hosp., Showa Univ., ^{*5}Dept. Surg. I., Gunma Univ.): Phase I trial of weekly paclitaxel in 5-FU failure metastatic gastric cancer with pharmacogenomic analysis. 40th Annual Meeting of the Am. Soc. Clin. Oncol., New Orleans, U.S.A., 2004.6. (G)
- 4 . Noguchi, T., Hiyama, K., Tanimoto, K., Kan, T.^{*1}, Shimada, Y.^{*1}, Imamura, M.^{*1}, Hiyama, E.^{*2}, Noguchi, T.^{*3}, Kawahara, K.^{*3}, Nishiyama, M. (^{*1}Dept. Surg. and Surg. Basic Sci., Grad. Sch. Med., Kyoto Univ., ^{*2}Natural Sci. Ctr for Basic Res. Develop., ^{*3}Dept. Surg. II, Faculty of Med., Oita Univ.) : Exploring of the genes related to cellular immortalization and clinicopathological features in esophageal cancer. The 3rd Internatl Conference on Gastroenterol. Carcinogenesis, Sapporo, 2004.8. (G)
- 5 . Nakamura, H., Tanimoto, K., Kaneyasu, M., Yoshiga, K.^{*1}, Kawamoto, T.^{*2}, Kato, Y.^{*2}, Hiyama, K., Nishiyama, M. (^{*1}Mol. Oral Med. Maxillo. Surg., ^{*2}Dent. Med. Biochem., Grad. Sch. Biomed. Sci.): Transcriptional regulation of the mismatch repair gene *MLH1* under hypoxic condition. Joint Meeting of 14th Internatl Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar and 8th Meeting of the Tottori Biosci. Promot. Found., Hiroshima, 2004.10. (G)
- 6 . Nishimura, Y., Hiyama, K., Noguchi, T., Shimokuni, T., Tanimoto, K., Nishiyama, M.: The telomere 3'overhang and chemosensitivity to anticancer drugs in human cancer cells. Joint Meeting of 14th Internatl Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar and 8th Meeting of the Tottori Biosci. Promot. Found., Hiroshima, 2004.10. (G, R)
- 7 . Hiyama, E.^{*1}, Yamaoka, H.^{*2}, Kamimatsuse, A.^{*3}, Kobayashi, T.^{*3}, Hiyama, K., Nishiyama, M., Reynolds C.P.^{*4}, Sueda, T. (^{*1}N-BARD, ^{*2}Develop. Therap. Program, Univ. Hosp., ^{*3}Dept. Surg., Grad. Sch. Biomed. Sci. ^{*4}USC-CHLA Institute for Pediatric Clinical Research, Los Angeles, CA): Genomic alterations that are associated with altered gene expression in neuroblastoma. AACR Special Conference: The Role of Telomeres and Telomerase in Cancer, San Francisco, U.S.A., 2004.11. (G)
- 8 . Hiyama, E.^{*1}, Hiyama, K., Kobayashi, T.^{*2}, Yamaoka, H.^{*3}, Nishiyama, M., Sueda, T., Reynolds C.P.^{*4}, (^{*1}N-BARD, ^{*2}Dept. Surg., Graduate Sch. Biomed. Sci. ^{*3}Develop. Therap. Program, Univ. Hosp., ^{*4}USC-CHLA Institute for Pediatric Clinical Research, Los Angeles, CA): Telomerase repression and expression profiles during retinoic acid-induced differentiation of neuroblastoma cells. 2nd Internatl. Symposium of 21st Century COE Program, Hiroshima, 2004.11. (G)
- 9 . 西山正彦：癌化学療法の新展開を探る．シンポジウム6「癌治療 - 化学療法の最前線 - 」基調講演，第104回日本外科学会定期学術集会，大阪，2004.4.
- 10 . 西山正彦：3．臨床薬理の立場から．パネルディスカッション「頭頸部癌治療の現状と将来展望」，第105回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会，広島，2004.5.

11. 西山正彦：癌化学療法基礎開発研究：創る，選ぶ．第1回癌治療開発研究シンポジウム，別府，2004.8.
12. 西山正彦：新時代の癌化学療法：進化する開発研究と臨床基礎．特別講演，第6回うつくしま癌フォーラム，郡山，2004.9.
13. 西山正彦：テーラーメイド癌化学療法の確立研究 - 基礎から臨床へ - ．ランチョンセミナー，第63回日本癌学会学術講演会，福岡，2004.10. (G)
14. 西山正彦：癌化学療法～新たな方向性とその進化～．特別講演，第2回 DIF 講演会，さいたま，2004.10.
15. 西山正彦：新しい癌医療を創る：開発研究と倫理．第25回医療と倫理を考える会，広島，2004.10.
16. 西山正彦：研究支援組織としての NPO の活動とその課題．パネルディスカッション3，第42回日本癌治療学会総会，京都，2004.10.
17. 西山正彦：癌化学療法をどう変える - 創薬と個別化に挑む - ．特別講演，第2回転移性乳癌治療勉強会，静岡，2004.11.
18. 西山正彦：オーダーメイド癌化学療法基礎開発研究：新段階への移行を目指して．特別講演，日本癌病態治療研究会学術講演会，東京，2004.12.
19. 檜山桂子，野口琢矢，谷本圭司，西山正彦：ヒトがん細胞の不死化に関わる遺伝子の探索．第8回がん分子標的治療研究会総会，鹿児島，2004.5. (G)
20. 檜山桂子：第二世代トランスクリプトーム解析．第二世代トランスクリプトーム解析セミナー，東京，2004.8. (G)
21. 檜山桂子，野口琢矢，谷本圭司，温泉川真由^{*1}，西村陽平，檜山英三^{*2}，西山正彦（^{*1}院・医歯薬・生殖器官病態制御，^{*2}自然科学研究支援開発・生命医科学）：正常細胞と癌細胞における特異的・普遍的不死化規定因子の探索．ワークショップ，第63回日本癌学会学術総会，福岡，2004.10. (G)
22. 檜山桂子，谷本圭司，西山正彦：分子情報に基づく癌化学療法の治療効果予測．シンポジウム，第7回癌治療増感研究シンポジウム，奈良，2005.2. (G,R)
23. 檜山桂子：ゲノム情報 - ラボからベッドサイドへ．特別講演，第91回山口県医師会生涯研修セミナー，山口，2005. 2.
24. 谷本圭司，下國達志，右近 圭，野口琢矢，檜山桂子，西山正彦（腫外）：5-FU 代謝関連酵素遺伝子発現調節機構の解明．第8回がん分子標的治療研究会総会，鹿児島，2004.5. (G)
25. 谷本圭司，下國達志，右近 圭，野口琢矢，檜山桂子，西山正彦（腫外）：5-FU 系抗癌剤の代謝・活性化酵素遺伝子の発現調節機構の解明．第13回日本癌病態治療研究会，千葉，2004.6. (G)
26. 谷本圭司，檜山桂子，西山正彦：固型癌における低酸素応答機構とその異常．若手サテライトシンポジウム，第46回歯科基礎医学会学術大会，広島，2004.9. (G)

27. 谷本圭司, 中村秀明, 金安美香, 檜山桂子, 吉賀浩二, 西山正彦 (院・医歯薬・先進医療開発): 乳癌細胞株における *MLH1* 遺伝子低酸素応答機構. 第63回日本癌学会学術総会, 福岡, 2004.10. (G)
28. 右近 圭, 吉田 和弘, 峠 哲哉 (腫外): 症例1 急性胆嚢炎の1例. 第9回広島サージェリークラブ症例報告会, 広島, 2004.4.
29. 右近 圭, 野口琢矢, 下國達志, 峠 哲哉^{*1}, 西山正彦 (^{*1}腫外): 5FU 個別化癌化学療法のための Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 遺伝子転写調節機構の解析. 第104回日本外科学会定期学術集会, 大阪, 2004.4. (G)
30. 右近 圭, 谷本圭司, 野口琢矢, 下國達志, 檜山桂子, 福島正和^{*1}, 峠 哲哉^{*2}, 西山正彦 (^{*1}大鵬薬品・育薬研, ^{*2}腫外): Phorbol ester にて活性化される dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 遺伝子 (*DPYD*) 転写調節機構. 第63回日本癌学会学術総会, 福岡, 2004.10. (G)
31. 野口琢矢, 檜山桂子, 右近 圭, 下國達志, 姜 貴嗣^{*1}, 嶋田 裕^{*1}, 今村正之^{*1}, 檜山英三^{*2}, 野口 剛^{*3}, 川原克信^{*3}, 西山正彦 (^{*1}京都大・院・医・腫外, ^{*2}自然科学研究支援開発・生命医科学, ^{*3}大分大・医・二外): 食道癌細胞におけるテロメラゼおよびアポトーシス関連遺伝子の発現と臨床病理学的検討. 第104回日本外科学会定期学術集会, 大阪, 2004.4. (G)
32. 野口琢矢, 檜山桂子, 谷本圭司, 姜 貴嗣^{*1}, 嶋田 裕^{*1}, 今村正之^{*1}, 檜山英三^{*2}, 野口 剛^{*3}, 川原克信^{*3}, 西山正彦 (^{*1}京都大・院・医・腫外, ^{*2}自然科学研究支援開発・生命医科学, ^{*3}大分大・医・二外): 食道癌細胞の癌化・不死化に関わる遺伝子の策定. 第63回日本癌学会学術総会, 福岡, 2004.10. (G)
33. 下國達志, 谷本圭司, 檜山桂子, 小松正明, 姜 貴嗣^{*1}, 嶋田 裕^{*1}, 今村正之^{*1}, 佐藤裕二^{*2}, 藤堂 省^{*2}, 西山正彦 (^{*1}京都大・院・医・腫外, ^{*2}北大・院・医・外科治療): 選定された指標遺伝子群の発現データを用いる食道癌化学療法効果予測モデル. 第63回日本癌学会学術総会, 福岡, 2004.10. (G)
34. 小松正明, 谷本圭司, 温泉川真由, 檜山桂子, 永井宣隆^{*}, 西山正彦, 大濱紘三^{*} (^{*}病・産婦): 卵巣癌個別化化学療法へ向けた効果予測システムの開発. 第56回日本産婦人科学会学術講演会, 東京, 2004.4. (G)
35. 小松正明, 谷本圭司, 温泉川真由, 檜山桂子, 永井宣隆^{*}, 大濱紘三^{*}, 西山正彦 (^{*}病・産婦): 卵巣癌における paclitaxel, cisplatin 効果予測システムの開発. 第38回制癌剤適応研究会, 和歌山, 2005.3. (G)
36. 温泉川真由, 谷本圭司, 永井宣隆^{*1}, 工藤美樹^{*1}, 川本 健^{*2}, 加藤幸夫^{*2}, 檜山桂子, 西山正彦 (^{*1}院・医歯薬・生殖器官病態制御, ^{*2}院・医歯薬・口生化): 子宮体癌の発生・進展における低酸素誘導遺伝子群の発現. 第38回制癌剤適応研究会, 和歌山, 2005.3. (G)
37. 金安美香, 谷本圭司, 檜山桂子, 西山正彦: *CYP2C8* 遺伝子プロモーター領域の多型解析. 第63回日本癌学会学術総会, 福岡, 2004.10. (G)
38. 金安美香, 谷本圭司, 檜山桂子, 西山正彦: ヒト癌細胞における carboxylesterase 1A1 および 1A2 遺伝子発現と抗癌剤 CPT-11 応答におけるその役割. 第27回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004.12. (G)
39. 熊崎 努, 檜山桂子, 高橋知子^{*1}, 大松秀明, 谷本圭司, 野口琢矢, 檜山英三^{*2}, 三井洋司^{*1}, 西山正彦 (^{*1}徳島文理大・香川薬, ^{*2}自然科学研究支援開発・生命医科学): テロメラゼ遺伝子導入により不死化したヒト血管

内皮細胞と線維芽細胞の遺伝子発現変動．第27回日本基礎老化学会，2004.6. (G, R)

- 40．檜山英三^{*1}，小林 健^{*2}，檜山桂子，西山正彦，バトリック レイノルズ^{*3}（^{*1}自然科学研究支援開発・生命医科学，^{*2}院・医歯薬・病態制御外，^{*3}ロサンゼルス小児病院・血液腫瘍科）：マイクロアレイによる神経芽細胞腫分化誘導における遺伝子発現解析と臨床応用．第63回日本癌学会学術総会，福岡，2004.10. (G)
- 41．檜山英三^{*1}，山岡 裕明^{*2}，末田泰二郎^{*3}，西村真一郎^{*4}，小林正夫^{*4}，檜山桂子（^{*1}自然科学研究支援開発・生命医科学，^{*2}病・生育診療，^{*3}院・医歯薬・外科，^{*4}院・医歯薬・小児）：マイクロアレイ解析からみた神経芽細胞腫の病態探索．第20回日本小児がん学会，京都，2004.11. (G)
- 42．富田尚裕^{*1}，岡村 修^{*1}，村田幸平^{*2}，榎原啓之^{*3}，福永 睦^{*4}，石田秀之^{*5}，田村孝雄^{*6}，栄田敏之^{*7}，谷本圭司，西山正彦（^{*1}関西労災病・外，^{*2}大阪府立成人病セ・消外，^{*3}同・消内，^{*4}市立堺病・外，^{*5}大阪船保病・外，^{*6}神戸大・院・糖尿病代謝・消化器・腎臓内，^{*7}神戸大・病薬）：根治度 C 大腸癌術後症例に対する CPT-11療法の第 I / II 相試験 - 遺伝子解析からの副作用・感受性予測の検討．第42回日本癌治療学会総会，京都，2004.10.
- 43．宮津由香^{*1}，宮澤輝臣^{*1}，岩本康男^{*1}，石田敦子^{*1}，叶 康司^{*1}，檜山桂子，河野修興^{*2}（^{*1}広島市民病，^{*2}院・医歯薬・分子内）：中心型早期肺癌患者の気道上皮における癌発生の危険因子としてのテロメラゼ発現，第27回日本気管支学会総会，大阪，2004.6. (G)
- 44．塩田直樹^{*1}，平田信太郎^{*1}，池上靖彦^{*1}，檜山桂子，宮崎 満^{*2}，近藤圭一^{*2}，中島正光^{*2}，横山彰仁^{*1}，河野修興^{*1}（^{*1}院・分子内，^{*2}病・呼内）：Hermansky-Pudlak 症候群（HPS）の2例．第91回日本内科学会中国地方会，2004.11.
- 45．平田信太郎^{*1}，池上靖彦^{*1}，檜山桂子，宮崎 満^{*2}，近藤圭一^{*2}，中島正光^{*2}，横山彰仁^{*1}，河野修興^{*1}（^{*1}院・分子内^{*2}病・呼内）：Hermansky-Pudlak 症候群（HPS）の2例．第71回間質性肺疾患研究会，東京，2004.11.
- 46．白山裕子^{*}，小松正明，楠田朋代^{*}，温泉川真由，平田英司^{*}，重政和志^{*}，永井宣隆^{*}（院・医歯薬・生殖器官病態制御）：子宮頸部腺癌に対する NAC の有用性の検討．第87回広島がん治療研究会，広島，2004.9.
- 47．白山裕子^{*}，小松正明，楠田朋代^{*}，温泉川真由，平田英司^{*}，重政和志^{*}，永井宣隆^{*}（院・医歯薬・生殖器官病態制御）：子宮頸部腺癌に対する NAC (Docetaxel, Carboplatin 併用療法) の検討．第55回日本産科婦人科学会広島地方部会，広島，2004.9.

C．その他

- 1．西山正彦：複数遺伝子の発現構造の理解に基づく抗癌剤効果予測系の確立とその予測式．厚生労働省がん研究助成金 第1回班会議，大阪，2004.7. (G)
- 2．檜山桂子：女性医師の生き方を考える 講演とパネルディスカッション．パネリスト，広島県女性医師の会総会，広島，2004.6.
- 3．檜山桂子：マイクロアレイからの癌治療戦略．第一内科セミナー，広島，2004.9. (G)
- 4．檜山桂子，西山正彦：不死化がん細胞で特異的な発現を示す遺伝子の同定．厚生労働省がん研究助成金 第2回班会議，大阪，2004.11. (G)

5. 檜山桂子：女性特有の疾患．婦人部セミナー，放射線影響研究所，広島，2005.2.
6. 檜山桂子：「現代人を悩ませる病気とその予防策」女性特有の疾患とがん．東京海上日動火災保険健康セミナー，広島，2005.2.
7. 谷本圭司：固型癌における低酸素応答制御機構とその異常．第一内科セミナー，広島，2004.10. (G)
8. 谷本圭司：固形腫瘍における低酸素応答機構—癌の発生・進展における HIF-1経路の役割について—．埼玉医科大学ゲノム医学研究センターセミナー，埼玉，2005.2. (G)

(注)原著，学会発表の文末記号の(R)は放射性同意元素実験施設を用いた研究，(A)は放射線照射実験施設を用いた研究，(G)は遺伝子実験施設，(C)は国際放射線情報センター関連の研究，(I)はカレント・コンテンツ掲載雑誌採択論文の略号です．

