

平成 16 年度科学研究費補助金 (基盤研究 (S)) 研究状況報告書

ふりがな		わけのりお			所属研究機関・部局・職		九州大学・生体防御医学研究所・教授	
研究代表者氏名		和氣 徳夫			所属研究機関・部局・職		九州大学・生体防御医学研究所・教授	
研究課題名	和文	細胞老化の分子機構解明及び老化を標的とした癌分子標的療法の開発						
	英文	Molecular mechanisms of cell senescence and its application into gynecological cancers.						
研究経費		平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	平成18年度	総合計	
16年度以降は内約額 金額単位：千円		18,300	17,200	17,200	17,200	17,200	87,100	
研究組織 (研究代表者及び研究分担者)								
氏名		所属研究機関・部局・職		現在の専門		役割分担 (研究実施計画に対する分担事項)		
和氣 徳夫 加藤 秀則		生体防御医学研究所・教授 大学病院・講師		分子生物学 分子生物学		研究の総括 ヒト 7q 領域からの細胞老化誘導遺伝子の単離・同定とその機能解析		
加藤 聖子		生体防御医学研究所・講師		分子生物学		細胞老化における Ras/ERα シグナル伝達路の生物学的意義		
松田 貴雄		大学病院・助手		分子生物学		ヒト 7q 領域からの細胞老化誘導遺伝子の単離・同定とその機能解析		
有馬 隆博		生体防御医学研究所・助手		分子生物学		HDAC 阻害剤による Accelerated cell senescence 誘導の分子機構		
浅野間 和夫		医学研究院・日本学術振興会特別研究員		分子生物学		細胞老化誘導能を有する p21 機能ドメインの同定		
当初の研究目的 (交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。)								
<p>本研究では、一定回数の細胞分裂後に老化が誘導され死滅する Replicative cell senescence の機構および DNA 障害などに反応し、細胞老化が誘導される Accelerated cell senescence 機構を解明し、癌細胞でこれらを再構築することによる癌分子標的療法の開発を目的とする。この目的のため、以下の 4 点について研究する。</p> <p>A. ヒト細胞老化誘導遺伝子の単離：我々の従来の研究により子宮内膜癌細胞を老化誘導する遺伝子は 1q42 領域に、絨毛癌細胞を老化に導く遺伝子は 7q11 領域に存在することが判明している。それぞれの領域に存在する候補遺伝子群も既に同定している。本研究では細胞老化誘導の標的遺伝子を同定し、その機能を解析するとともに、細胞老化誘導のシグナル伝達路を解明する。さらに細胞老化誘導を目的とした分子標的治療を開発する。</p> <p>B. 細胞老化における Ras-ERα シグナル伝達路の生物学的意義：従来の NIH3T3 細胞を用いた我々の研究により「ERα は K-Ras 蛋白の下流で転写因子として機能し、変異型 K-ras による癌化シグナルは ERα を介して様々な遺伝子群に伝達され、細胞形質転換に関与する」ことを明らかにした。ERα には AF1 および AF2 の 2 つの活性化ドメインが存在し、AF1 は Ras/MAP キナーゼを介するシグナルにより活性化されるためである。一方 NIH3T3 細胞を場として変異型 K-Ras 蛋白の存在下、ERα ドミナント・ネガティブ変異体を発現すると、細胞老化が誘導される。正常細胞へ変異型 K-Ras 蛋白を発現した場合にも、同様の細胞老化が誘導され、Ras-P14ARF-MDM2-p53 シグナル伝達路の介在が示唆されている。このため、ERα は本 p53 安定化シグナルを構成し、p53 による細胞老化誘導を負に制御していると推定される。本研究では ERα の p53 安定化シグナルにおける役割を解明し、細胞老化誘導の分子機構について研究する。</p> <p>C. 細胞老化誘導に関与する p21 機能ドメインの同定： p21cdk インヒビターの発現誘導は細胞老化に重要な役割を果たす。p21 蛋白は NLS 以外に CDK 結合領域及び PCNA 結合領域から構成される。このため、CDK 結合領域或いは PCNA 結合領域のみから構成される p21 欠失変異体を作成し、その解析を行った上で、どちらの領域が細胞老化に必須であるのかを明らかにする。</p> <p>D. HDAC 阻害剤による細胞老化誘導 (Accelerated cell senescence) の分子機構：Sodium Butyrate (NaB) は食物繊維の腸内発酵の過程で産生され、ヒストン脱アセチル化阻害作用を有する。NaB は Rb を介するシグナルが維持されている子宮体癌・卵巣癌細胞を G0/G1 期に集積し、細胞老化を顕著に誘導する。NaB は p53 非依存性に p21 蛋白発現を誘導し、Rb 蛋白の脱リン酸化への移行が観察された。HPV (+) 子宮頸癌細胞は NaB 処理より G0/G1 及び G2/M 期の両方に集積し、細胞老化の誘導が観察された。NaB は HPV (+) 子宮頸癌細胞でも p53 非依存性 p21 蛋白発現を誘導したが、Rb 蛋白の脱リン酸化フォームへの移行は全く観察されなかった。このため、p21 により制御される細胞周期停止と細胞老化の誘導は異なる分子機構により制御されていると示唆された。本研究では、p21 の下流で細胞老化誘導に関与するシグナル伝達路を解明し、癌細胞老化を標的とした癌分子標的療法を開発する。</p>								

これまでの研究経過 (研究の進捗状況について、必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。)

A. ヒト細胞老化誘導遺伝子の単離・同定と機能解析

1) ヒト 1q42 領域に存在する細胞老化誘導遺伝子

子宮体癌細胞へ、正常細胞由来 1 番染色体を単一移入すると老化が誘導される。従来の研究により 1q42 を含む領域に子宮体癌細胞での老化プログラム再構築に関与する遺伝子が存在することが明らかとなった。このため、60 例の子宮体癌組織 DNA から STS マーカーを用いた LOH 解析を行ったところ、1q42 領域に約半数の症例で欠失を証明した。このため、1q42 領域をカバーする BAC コンテイングを作成し、子宮体癌細胞への BAC DNA 移入実験を行ったところ、正常 1 番染色体単一移入時と全く同様に、子宮体癌細胞の老化が誘導された。本 BAC クローン内には ORF12、HUBCEP70、ENST27746 が含まれる。このため、それぞれの cDNA を作成し、発現ベクターに組み込み、子宮体癌細胞へ遺伝子導入したところ、ORF12cDNA 遺伝子導入により、子宮体癌細胞の老化が誘導された。これに伴い、ORF12 導入子宮体癌細胞では p21CDK インヒビター発現が亢進した。ORF12 のアミノ酸構造を解析した結果、proline hydroxylase 活性を有することが判明したため、HIF-1 及び VHL 蛋白との相互作用を解析した結果、ORF12 は HIF-1/VHL シグナル伝達を制御することにあり、子宮体癌細胞での老化プログラム再構築に関与していることが判明した。子宮体癌細胞株及び組織 DNA における塩基配列を決定したところ、30% を越える症例及び細胞株で変異が検出された。

2) ヒト 7q11 領域に存在する細胞老化誘導遺伝子

従来の我々の研究により、ヒト 7q11.21 領域には絨毛癌抑制に機能する遺伝子とマウス F9 細胞へ老化プログラムを再構築する遺伝子とが存在する。両遺伝子が同一のものであるか否かは不明である。このため、本領域を含む BAC クローンを単離し、絨毛癌細胞株へ遺伝子導入した。造腫瘍性抑制を示した 2BAC クローンをもとに cDNA ライブラリーから 10 数個の完全長 cDNA を単離した。これらのうち、ヒトゲノムドラフトシークエンスから同領域に所在が推定されたクローン 6-8 は、HTF (human teratoma Factor) 12 遺伝子であった。HTF12 遺伝子を絨毛癌細胞株へ導入したところ、細胞増殖の抑制、細胞形態変化及び造腫瘍性の抑制効果を認めた。このため、絨毛癌化の抑制を司る有力な候補遺伝子であることが示唆された。HTF12 遺伝子の完全長 cDNA を作成し、塩基配列を決定した。3 種類の選択的スプライシングを起こすことが判明した。さらに本 cDNA は Zn フィンガーモチーフと KRAV ドメインにより構成されるが、それぞれのドメイン数の異なる複数種の類似遺伝子が存在することが判明した。

3) 絨毛癌細胞に分化プログラムを再構築する NECC1/HOP 遺伝子の単離

私たちは、正常絨毛で高発現し、絨毛癌細胞で発現抑制される NECC1/HOP 遺伝子を cDNA サブトラクションにより単離した。NECC1/HOP は多臓器で発現しており、4q11-12 領域に存在する。NECC1/HOP 蛋白は、ホメオドメイン構造のみを有し、蛋白間相互作用を行う領域を欠くユニークな構造を有する 73 アミノ酸からなる蛋白である。NECC1/HOP 遺伝子を発現ベクターに組み込み、同発現を欠く絨毛癌細胞株から強制発現系を樹立した。NECC1/HOP 遺伝子発現に伴い、絨毛癌細胞株の造腫瘍性は抑制されていた。多くの NECC1/HOP 強制発現細胞では、顕著な細胞形態変化が誘導された。細胞の平坦化、巨細胞化、多核化という形態変化を示し、絨毛癌細胞は老化により死滅した。これらの形態変化はランゲハンス型絨毛細胞から合胞体型絨毛細胞の分化過程に類似していたため、後者の特異的分化マーカーである hPL(Human Placental Lactogen)の発現を解析した。その結果 NECC1/HOP 強制発現により形態変化した絨毛癌細胞で、その高発現が観察された。以上から NECC1/HOP 発現に伴い、絨毛癌細胞に分化及び老化プログラムが再構築されることが示唆された。一方 NECC1/HOP ノックアウト実験により心筋の発生・増殖が、阻害されることが外国の研究者により発表された。NKX2.5 により NECC1/HOP 発現が導かれ、NKX2.5/SRF/GATA4 転写因子複合体活性を負に制御することも明らかとなった。このため、我々も NECC1/HOP ノックアウトマウスを作成し、胎盤発生への関与を検討した。9.5-11.5dpc マウス胎盤において、ノックアウトにより全例、海綿状栄養膜芽細胞層の発生障害と巨細胞層の過剰発生を認めたため、NECC1/HOP はマウス胎盤発生において重要な機能を有することが判明した。NECC1/HOP はヒト絨毛でも合胞体型絨毛細胞にのみ、その発現を認めた。

B. 細胞老化誘導に関与する Ras/ERα (エストロゲンリセプターα) シグナル伝達

変異型 K-Ras 蛋白により伝達されるシグナルは、正常細胞に老化を誘導する。しかし p14ARF 発現を欠く NIH3T3 細胞では形質転換を誘導する。変異型 K-Ras により形質転換した NIH3T3 細胞(K12V)にドミナント・ネガティブ ERα 変異体を発現(K12VDNER)すると、細胞増殖・造腫瘍性の抑制とともに、顕著な細胞老化が誘導された。DNER 発現に伴い MDM2 蛋白の発現及び p53 免疫沈降中の MDM2 蛋白は顕著に減少し、p53 蛋白の転写因子としての機能は亢進した。その結果、p53 下流の p21CDK インヒビター発現が誘導され、K12V 細胞に老化プログラムが再構築された。以上の結果から K-Ras 変異体は ERα 機能を活性化し、p14ARF 発現欠如下においては、MDM2 蛋白発現の亢進/p53 蛋白の機能抑制/p21CDK インヒビター発現抑制を介して NIH3T3 細胞をトランスフォームすることが明らかとなった。一方、K12V 細胞において DNER を発現すると、MDM2 発現抑制/p53 活性化/p21 発現誘導を生ずる。ヒト癌の多くで p14ARF は発現を消失しているため、この p53 安定化シグナルをヒト癌に再構築し、がん細胞に老化を誘導する分子標的療法の有効性が示唆された。ERα 活性化シグナルは、Ras/MAPK を介する AF1 及びリガンドと結合する AF2 からなる。このため、MEK 阻害剤及び抗エストロゲン剤併用による癌細胞老化誘導の有無を解析した。ERα 発現(+)/卵巣癌・子宮体癌細胞株を用いた。両剤の併用は、それぞれ単独使用群と比較し、これらの癌細胞に低濃度でかつ顕著な細胞老化を誘導することが明らかとなった。MDM2 発現抑制/p53 活性化/p21 発現亢進というシグナル伝達の再構築を基盤としていることも判明した。一方、MDM2 siRNA をがん細胞に投与し、MDM2 蛋白発現を阻害することによっても、同様にがん細胞に老化プログラムを再構築することが判明した。今後、新規分子標的療法の開発に着手する予定である。

C. 細胞老化誘導に関与する p21 機能ドメインの同定

本研究で解明された、変異型 K-Ras 存在下における DNER 変異体の発現及び、HDAC 阻害剤による癌細胞老化の誘導は、いずれも p21CDK インヒビター発現亢進を伴う。p16CDK インヒビター発現を必要としない。p21 蛋白は、サイクリン/CDK に結合しキナーゼ活性の抑制に関与する領域と PCNA 蛋白と結合し、DNA 合成を阻害する領域から構成される。このため、本研究では野生型 p21、サイクリン/CDK と結合する領域のみを有する delc'p21、pCNA 結合領域のみを有する delN'p21 変異体を作成し、発現ベクターに組み込んだ。Rb シグナルを維持する癌細胞及び不活化している癌細胞株から、3 種類の p21 蛋白強制発現系を樹立した。Rb シグナル伝達の有無に関わらず、野生型 p21、delc'p21 蛋白は、がん細胞に老化を誘導した。以上の結果から、Rb シグナル伝達以外の分子機構が p21 下流で機能することにより、細胞老化が誘導されることが判明した。さらに p21 蛋白中サイクリン/CDK 結合領域のみで細胞老化誘導シグナルは活性化することも明らかになった。

D. HDAC 阻害剤によるがん細胞老化プログラムの再構築

HDAC 阻害剤 Sodium Butyrate(NaB)は、野生型または変異型 p53 遺伝子に関わらず、子宮体癌・卵巣癌子宮頸癌細胞に細胞老化を顕著に誘導した。NaB は p53 非依存性に p21CDK インヒビター発現を亢進した。NaB は HPV(+)/子宮頸癌細胞でも、p53 非依存性 p21 蛋白発現を導いたが、これに伴う Rb 蛋白の脱リン酸化型への移行は全く観察されなかった。このため、マイクロアレイ法を用い、NaB 処理により発現変化する遺伝子群を解析した。NaB 処理により P21 過剰発現系と全く同様に細胞周期関連遺伝子群は発現抑制され、細胞外マトリックス及びその受容体遺伝子発現は亢進することが判明した。以上から NaB の癌治療への応用が期待されたが、NaB は血中すみやかに分解され、効果が消失する欠点を有する。最近、Kramer et al(2003)により抗てんかん薬 VPA(バルプロ酸ナトリウム)にも HDAC 阻害作用があることが報告された。このため、VPA による細胞老化誘導及びその分子機構を解析し、NaB と比較した。その結果、VPA(0.5 - 1.5mM)により NaB と全く同様に時間依存性、p53 非依存性に p21 蛋白発現が誘導されることが判明した。p21 蛋白発現に伴い、卵巣癌細胞は G0/G1 期に集積し、Rb 蛋白の脱リン酸化を導いた。さらに VPA は NaB と同様に高濃度では癌細胞にアポトーシスを誘導した。以上の結果を基に、卵巣癌・腹膜癌及び卵管癌症例に対し、既存の標準化学療法に加えて、VPA1 日 1200mg 経口投与を行い、その臨床的効果を判定する臨床試験を実施すべく、実施計画書を作成し、九州大学大学院医学研究院倫理委員会に審議を依頼した。

特記事項 (これまでの研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。)

1) 絨毛癌細胞に分化プログラムを再構築する NECC1/HOP 遺伝子の単離

本研究において、私たちは絨毛癌抑制遺伝子として NECC1/HOP 遺伝子を単離した。その遺伝子機能を明らかにするため、NECC1/HOP 発現を消失している絨毛癌細胞株 (CC1 及び Bewo) に NECC1/HOP を遺伝子導入し、再構築細胞を樹立した。NECC1/HOP 強制発現に伴い、絨毛癌細胞の造腫瘍能は顕著に抑制された。造腫瘍能の抑制は、絨毛癌細胞が形態変化し、多核化及び巨細胞化し、やがて細胞死するためと示唆された。正常絨毛細胞においてラングハンス型トロホプラストは細胞融合を介して、多核化、巨細胞化し、合胞体絨毛細胞に分化し、胎児栄養を司る。NECC1/HOP 発現に伴い、絨毛癌細胞に出現する形態変化は、正常絨毛細胞の分化過程に類似していたため、合胞体絨毛細胞の分化マーカーである hPL 発現を解析したところ、形態変化した細胞でのみ hPL 発現を認めた。以上から NECC1/HOP 遺伝子は、絨毛癌細胞に分化プログラムを再構築することが示唆された。NECC1/HOP は合胞体絨毛細胞にのみ発現し、ラングハンス型絨毛細胞では発現を認めないため、NECC1/HOP は正常絨毛細胞の分化に機能すると推測される。NECC1/HOP の胎盤の組織構築への関与を明らかにするため、NECC1/HOP^{-/-} ノックアウトマウスを作成し、胎盤発生への関与を解析した。マウス胎盤はヒトのそれとは異なり、胎盤迷路層、海綿状栄養膜層及び巨細胞層より構成される。巨細胞層は、ヒト絨毛外トロホプラストと機能的類似性を有することが指摘されている。NECC1/HOP ノックアウトマウス胎盤では海綿状栄養膜層の発育抑制及び巨細胞層の過剰発育を全例に認めた。このため、海綿状栄養膜幹細胞から巨細胞への分化を負に制御する機能が示唆される。ヒト絨毛外トロホプラストの発生異常は妊娠中毒症などの生殖に関わる難病の原因となる。このため、今後 NECC1/HOP 発現と妊娠中毒症などの病態との関連を研究することが必要で生殖医学への貢献が期待される。

胎盤絨毛の発生・分化・増殖の分子機構は全く解明されていない。このような現状において、絨毛癌抑制遺伝子として単離した NECC1/HOP が絨毛トロホプラストの分化過程で機能するという発見は重大である。胎盤絨毛、特に合胞体絨毛細胞は胎児栄養を司っているため、その異常は胎児発育障害の原因となる。多くの胎児発育障害は、胎盤機能の低下を原因とする。心筋細胞における NECC1/HOP を介するシグナル伝達に関する研究から、NKX/SRF/GATA 転写因子複合体を負に制御することが明らかにされている。絨毛細胞に分化を誘導する NECC1/HOP シグナルが、心筋細胞と全く同一の NKX 及び GATA ファミリーメンバーにより構成されている転写因子複合体を調節するとは考え難い。このため、現在 NECC1/HOP を介する分化シグナルの詳細について研究している。

これらの研究によりシグナル伝達の全体が解明されれば、胎盤の早期老化を原因とする妊娠の異常に関する分子機構を明らかにすると共に、生殖医学に関する様々な難病に対する分子標的治療の開発を可能にする。

2) 細胞老化誘導に関する Ras/ERα シグナル伝達

ヒト癌において高頻度に出現する活性型 K-Ras 変異体は下流で ERα を活性化することにより NIH3T3 細胞をトランスフォームする。このため、ドミナント・ネガティブ ERα 変異体(DNER)を K-Ras 変異体とともに、共発現すると、細胞増殖・造腫瘍能の抑制とともに、細胞老化が誘導される。p14^{ARF} 発現消失下において、DNER は MDM2 発現の抑制、p53 蛋白の活性化、p21CDK インヒビター発現亢進を導くためである。p14^{ARF} 発現は多くのヒト癌で発現を消失している。このため、MDM2/p53/p21 シグナルをヒトホルモン依存性腫瘍 (ERα 発現腫瘍) において再構築し、がん細胞に老化を誘導する分子標的治療を開発することが可能である。ERα 活性化阻害剤として、MEK 阻害剤及び抗エストロゲン剤を同時に投与することにより、ERα の機能的不活化、及び MDM2 siRNA による MDM2 発現制御、の 2 手段が p53 安定化シグナルの再構築の手段として想定される。本研究では、2 分子標的治療の有効性について検証した。MEK 阻害剤及び抗エストロゲン剤を同時投与することにより、がん細胞では p53 安定化シグナルが再構築され、がん細胞老化が誘導された。本効果は、極めて低濃度の MEK 阻害剤によっても発揮された。MEK 阻害剤は Ras/MAPK 経路を遮断するため、正常細胞へ大きなダメージを与える。低濃度 MEK 阻害剤による不完全な Ras/MAPK 経路の遮断でも抗エストロゲン剤との併用により、ERα 機能は阻害することが可能で、本分子標的療法の安全性並びに有効性が示唆される。

また、siRNA は将来の核酸医薬品としての有効性が期待されている。本研究では MDM2 を標的とした siRNA を投与することにより、がん細胞での MDM2 蛋白発現を顕著に抑制できることを示した。MDM2 発現抑制によりと同様に p53 安定化シグナルをがん細胞に再構築できた。本研究は ERα 及びその下流シグナルを操作することにより、ERα 発現(+)ヒトホルモン依存性腫瘍に p53 安定化シグナルを再構築し、がん消滅のための分子標的療法を開発するもので、その社会的貢献は大である。

3) HDAC 阻害剤によるがん細胞老化プログラムの再構築

HDAC 阻害剤である NaB は、p53 非依存性に p21CDK インヒビター発現を誘導し、がん細胞へ老化を誘導する。NaB によるがん細胞老化誘導は全てのがん細胞で認められるが、Rb を介するシグナルが正常に維持されているがん細胞では、特に高率に老化が導かれる。しかし、NaB は血中で速やかに分解され、効果を消失するという欠点があり、臨床応用できずにいた。長年抗てんかん薬、躁状態・躁病治療薬として使用されてきたバルプロ酸(VPA)に HDAC 阻害活性のあることが 2003 年に発表された。このため、本研究では VPA 及び NaB の HDAC 阻害活性、p21CDK インヒビター発現誘導能及びがん細胞老化誘導能を比較検討した。その結果、VPA は低濃度で NaB と全く同様の効果を有することが判明した。また、1.5mM 濃度以上の VPA はがん細胞へ老化を誘導するばかりでなく、アポトーシスも誘導することが明らかとなった。このため、九州大学大学院医学研究院倫理委員会に「進行卵巣・卵管・腹膜癌に対するヒストン脱アセチル化阻害剤・バルプロ酸の効果判定臨床試験」の実施計画書を提出した。臨床試験により、その安全性及び臨床的效果を明らかにすることができれば、極めて予後不良であるこれらの悪性疾患の予後改善のために大きな貢献を果たすことが可能である。

研究成果の発表状況(この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(発表予定のものを記入することも可能。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会等における発表状況について記入してください。)

- 1 Kato K, Horiuchi S, Takahashi T, Ueoka Y, Arima T, Matsuda T, Kato H, Nishida J, Nakabeppu Y, Wake N : Contribution of estrogen receptor α (ER α) to oncogenic K-Ras-mediated NIH3T3 cell transformation and its implication for escape from senescence by modulating the p53 pathway. : J. Biol. Chem., 277, 13, 11217-11224(2002)
- 2 Kato H, Terao Y, Ogawa M, Matsuda T, Arima T, Kato K, Yong Z, Wake N : Growth-associated Gene Expression Profiles by Microarray Analysis of Trophoblast of Molar Pregnancies and Normal Villi. : International Journal of Gynecological Pathology. 21, 3, 255-260(2002)
- 3 Drewell RA, Arney KL, Arima T, Barton SC, Brenton JD, Surani A : Novel conserved element upstream of the H19 gene are transcribed and act as mesoderm enhancers. : Development 129 1205-1213(2002)
- 4 Zhou Y, Kato H, Asanoma K, Kondo H, Arima T, Kato K, Matsuda T, Wake N : Identification of FOXC1 as a TGF- β 1 responsive gene and its involvement in negative regulation of cell growth : Genomics 80 5 465-472(2002)
- 5 Kato K and Wake N : Contribution of estrogen receptor α and progesterone receptor-B to oncogenic K-Ras-mediated NIH3T3 cell transformation. : Cell and Molecular Biology of Endometrial Carcinoma(Springer-Verlag Tokyo 2003), 207-218(2003)
- 6 Asanoma K, Matsuda T, Kondo H, Kato K, Kishino T, Niikawa N, Wake N, Kato H:NECC1, a candidate choriocarcinoma suppressor gene which encodes homeodomain consensus motif. : Genomics 81, 15-25(2003)
- 7 Ueoka Y, Kato K and Wake N : Hepatocyte growth factor modulates motility and invasiveness of ovarian carcinomas via Ras mediated pathway. : Molecular and cellular endocrinology, 202, 80-88(2003)
- 8 Yamayoshi A, Kato K, Iwase R, Yamaoka T, Wake N and Murakami A. : Photodynamic antisense therapy: regulation of cervical carcinoma cells by psoralen-conjugated oligonucleotides. : Nucleic Acid Research Supplement, 3, 75-76(2003)
- 9 Matsuda T, Wake N : Genetics and molecular markers in gestational trophoblastic disease with special reference to their clinical application. :Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology, 17, 6, 827-836(2003)
- 10 Ichinoe A, Behmanesh M, Tominaga Y, Ushijima Y, Hirano S, Sakai Y, Tsuchimoto D, Sakumi K, Wake N, and Nakabeppu Y : Identification and characterization of two forms of mouse MUTYH proteins encoded by alternatively spliced transcripts. Nucl. Acids. Res. 32: 477-487(2004)
- 11 Oudejans CBM, Mulders J, Konst A, Westerman BA, van Wijk IJ, Leegwater PAJ, Kato HD, Matsuda T, Wake N, Pals G, Lachmeijer AMA, ten Kate LP, and Blankensin MA : The parent - of - origin effect of 10q22 coincides with two regions enriched for genes with downregulated expression in androgenetic placenta. Hum Mol Genet 2003 in press
- 12 Ninomiya Y, Kato K, Takahashi A, Ueoka K, Kamikihara T, Arima T, Matsuda T, Kato H, Nishida J, Wake N : K-Ras and H-Ras activation promote distinct consequences on endometrial cell survival. : Cancer Reserch 2004 in press