

癌転移抑制の研究

所属機関 田附興風会医学研究所 第五研究部
研究者名 三宅 正幸

《研究の概要》

癌細胞の運動を抑制することは、癌転移の制御につながると我々は考え、癌細胞の運動を阻止する様々なモノクローナル抗体をマウスを用い作製してきた。この中で、遺伝子クローニングにより、MH8-4 抗体は、IgG1 に属し、integrin $\alpha 3$ を認識していることが判明した。MH7-3 抗体は integrin $\alpha 5$ を認識しており、癌細胞の接着に関係していると思われる。MH52-7 は CD44H を認識しており、これもまた接着に関係しているのではないかと考えられた。更に MH8-11、MH8-15 及び MH7-5 は、ウェスタンブロットによる分子量は異なるが同じ Aminopeptidase N (APN) を認識していると考えられ、グリコシレーションによって分子量が異なるものと考えられた。これらの臨床的意義を検討するために、実際の臨床病理標本を用い RT-PCR 及び免疫組織染色を行い予後との検討を行った。その結果、integrin $\alpha 3$ の減弱、消失は大腸癌や非小細胞肺癌の転移と関連しており、予後の悪化につながることが判明した。一方、integrin $\alpha 5$ は逆に転移部で過剰発現しており、非小細胞肺癌においてその過剰発現が予後の悪化につながることを明らかにした。また、APN は、血管新生にも関連しており、その増加は、非小細胞肺癌や大腸癌で予後不良因子となった。また我々は、これまで継続してきた Transmembrane 4 Superfamily (TM4SM) について Motility Related Protein-1 (MRP1/CD9)、KAI1/CD82 を用いて、アデノウイルスを用いることで原発巣細胞に強制発現させ、肺への癌転移を制御することができるかどうか試みた。その結果、肺転移を抑制できるだけでなく、また、生存期間も延長させることが可能であるということが判明した。以上のことから、これらの研究を更に発展させていくことで、近い将来実際に癌転移の抑制が可能になるであろうと考えられた。

研究者氏名及び所属機関

研究者氏名	所属機関及び地位	分担研究課題
三宅正幸	田附興風会医学研究所 第五研究部部長	研究の統括 モノクローナル抗体の作成
瀧 俊彦	田附興風会医学研究所 第五研究部部員	エピトープの解析
石田久雄	田附興風会医学研究所 第五研究部部員	乳癌、肺癌における 臨床的意義の検討
小川 修	京都大学大学院医学研究科 泌尿器病態学教授	泌尿器癌における 臨床的意義の検討
嶋田 裕	京都大学大学院医学研究科 腫瘍外科学講師	消化器癌における 臨床的意義の検討

研究報告

I. 研究の目的

癌は現在欧米でだけでなく日本でもまた死亡原因の第1位を占めるに至った。また、その治療における費用も著しく増加してきており医療費の抑制という点からも、いかに癌治療を効率良く進歩させるかが大きな問題となってきた。この癌治療において転移の抑制は最も大きな意味を持つものである。なぜならば、固形癌の根本的治療は外科切除であるからである。転移を制御することが出来れば、人工材料などを用いて欠損部を補填し、拡大切除を行うことでかなりの外科治療の適応となる癌患者が増加することが考えられる。こうしたことから、癌転移を抑制することにより癌を良性腫瘍の如く治療が出来ると言うことは、現在の日本の医療において最も望まれているものの一つであると考えられる。癌の転移は原発巣からの癌細胞の解離、組織内への浸潤、脈管系への浸潤、脈管内の移動、内皮細胞への接着、結合組織内浸潤、転移巣の形成、血管新生に伴う増殖へと続く非常に多様な過程からなっている。この様々な過程で癌の転移を阻止することが可能であると考えられる。中でも細胞の運動はこれらのプロセスにおいて非常に大きな役割を果たしていると考えられた。我々は、これまで癌細胞運動の制御ということから癌転移に取り組んできた。そして、世界に先駆けて癌転移抑制遺伝子としての Motility Related Protein-1 (MRP1/CD9) のクローニングに成功し、更にこれが属している Transmembrane 4 Superfamily (TM4SF) の中で KAI1/CD82 がやはり同じく癌転移抑制遺伝子としての特徴を持つことを明らかにした。これまでの癌治療と異なり、転移抑制抗体や正常組織にも強く発現している癌転移抑制遺伝子である MRP-1/CD9 や KAI1/CD82 による遺伝子治療は癌の再発・転移の予防に繋がるものである。また、これらを用いた拡大・進行癌の術前治療は、外科手術時のマニピュレーションによる転移の抑制にも繋がる。癌転移の抑制は、癌治療において非常に大きな意味を持ち、これにより癌の悪性度は低下し、良性腫瘍の如く、治療を行うことができるものと考えられる。そのため、これまでと異なり、かなりの外科治療適応の拡大を計ることができる。我々は、今回の基礎研究が臨床応用への架け橋となる

ことを最終目標として癌転移の抑制に取り組みたい。

II. 研究計画および材料と方法

1. 新しい運動抑制モノクローナル抗体の作製

我々は、細胞の運動を阻止することから転移を制御することが出来ないかと考え、様々な細胞運動を阻止するモノクローナル抗体を作製し、このエピトープを決定することから、転移の制御へと取り組むことにした。そのために我々は、まず初めに各種培養癌細胞を用い、マウスを癌細胞で免疫し、癌細胞に対するマウスモノクローナル抗体を作製した。その後、この中から細胞運動を抑制するモノクローナル抗体を選別していった。手段としては、ELISA法を用いて、癌細胞に対するモノクローナル抗体を選別後、 $8\mu\text{m}$ の無数の穴のあいたトランスウェルを用い、上層のウェル内に癌細胞を 2×10^5 入れ、下層にハイブリドーマの上澄み液と培地を入れた。その後、18h~24h後に下層に侵入してくる細胞数を減少させる、すなわち、細胞運動を抑制するハイブリドーマを選択した。これを、再度Gold colloid法にて確認した。次いで、FACSを用いていろいろな癌細胞や正常細胞における分布を確認し、より一般性の高い物質を認識しているモノクローナル抗体を選別していった。次いで、抗原の大まかなエピトープの決定を行っていった。手段としては、反応性の高かった癌細胞を過ヨウ素酸で処理し、糖鎖を分解した後、反応性が落ちるかどうかを検討した。この時点で反応性が落ちるものは、おそらく糖鎖を認識しているものと考え、この段階で、糖鎖認識抗体、蛋白質認識抗体の二種類のモノクローナル抗体に分別し、更なる検討を進めて行った。

次いでウェスタンブロットや免疫沈降を行い、エピトープが蛋白質であると判明したもののなかで分子量等から一般的に抗原構造が推定出来ないものについては、遺伝子クローニングを行っていった。この手段としては、一つはRaji細胞を用い、これにその蛋白が発現されていない場合、発現している癌細胞からcDNAライブラリーを作成し、Raji細胞に強制発現させ、MACSあるいはFACSにより、そのエピトープを発現している細胞を選択し、増殖させて、更にcDNAライブラリーを作成し、強制発現を繰り返した。その後、DNAを単離し、シークエンスを行い、その遺伝子構造を明らかにした。

2. 転移抑制遺伝子MRP-1/CD9、KAI1/CD82による転移抑制治療

これまで我々は、細胞運動を抑制することから、癌の転移に取り組んでき、いくつかの遺伝子のクローニングに世界に先駆けて成功してきた。中でもMotility Related Protein 1 (CD9)のクローニングは、このファミリーの属するTM4SFの研究を癌転移へと導き、ME491/CD63やKAI1/CD82が癌転移抑制遺伝子としての性格を持つことを明らかにする端緒となった。今回我々は、これらを用いてアデノウイルスによる遺伝子療法をマウスで行い、癌の転移の制御にとり組んだ。

3. エピトープの臨床的意義の解析

上記の新たに作製した転移抑制モノクローナル抗体の内、エピトープが決定したものについては、更に研究を臨床へと展開していくことにした。特に、判明した各種の蛋白質を認識している抗体について、実際の切除癌組織を用いてRT-PCRや免疫組織学的検討を行い、癌の転移と関係ないかどうか、その臨床的意義を検討した。

Ⅲ. 研究成果

最終的には 15 種類の細胞運動を阻止するモノクローナル抗体の作製に成功した。次いで、抗原の大まかなエピトープの決定を行っていった。手段としては、反応性の高かった癌細胞を過ヨウソ酸で処理し、糖鎖を分解した後、反応性が落ちるかどうかを検討した。この時点でおそらく糖鎖であろうと考えられる抗体が、7 種類存在した。これらはエピトープの解析方法が異なるので、まず蛋白を認識しているもののクローニングを優先させることにした。

先ず、ウェスタンブロットや免疫沈降を行い、エピトープが蛋白質であると判明したものは、8 種類存在した。これらの中で分子量等から一般的に抗原構造が推定出来ないものについて、遺伝子クローニングを行っていった。この手段としては、一つは Raji 細胞を用い、これにその蛋白が発現されていない場合、発現している癌細胞から cDNA ライブラリーを作成し、Raji 細胞に強制発現させ、MACS あるいは FACS により発現している細胞を選択し、増殖させて、更に cDNA ライブラリーを作成し、強制発現を繰り返した。その後、DNA を単離し、シーケンスを行った。その結果、MHB-4 抗体は、IgG1 に属し、非常に様々な細胞の運動を抑制することが判明し、140kDa の蛋白質を認識していた。そこで上記のように、遺伝子クローニングを行ってきた結果、integrin $\alpha 3$ を認識していることが判明した。MH7-3 抗体は integrin $\alpha 5$ を認識しており、癌細胞の接着に関係していると思われた。MH52-7 は CD44H を認識しており、これもまた接着に関係しているのではないかと考えられた。更に MH8-11、MH8-15 及び MH7-5 は、ウェスタンブロットによる分子量は異なるが同じ Aminopeptidase N (APN) を認識していると考えられ、グリコシレーションによって分子量が異なるものと考えられた。

7 種類の糖鎖を認識していると判明した抗体については、まず抗原と考えられる糖鎖を豊富に持っている癌細胞株から、糖脂質を抽出してきて、抗体との反応性を検討していった。しかしながら、糖脂質との反応性は認められず、更に詳細に反応を見るために、様々な糖脂質のパネルを用い、それぞれの抗体を使って、TLC immunostaining を行ったが、やはり、反応性は認められなかった。その結果、これらの糖鎖は糖蛋白の糖鎖であると考えられた。そこで、抗体アフィニティカラムを用いて抗原を精製し、その後糖鎖を切り出し、NMR 等により分析を進めていった。しかしながら、いずれの抗体も 100 万単位の高分子量の抗原を認識しており、ムチンの表面糖鎖を認識していると考えられ、詳細な構造決定は困難を極め、現在エピトープの決定に至るものは一つも成功しなかった。

2. TM4SF による遺伝子治療

また、以前より研究を進めている MRP-1/CD9 に関しては、アデノウイルスをベクターとして肺転移を抑制できるかどうかの実験を行った。自然肺転移がおきるマウスのメラノーマ株である BL6 を用いて実験したところ、対象群の肺転移数が 99 ± 23 であるのに対し、MRP-1/CD9 を強制発現させた群では、 26 ± 23 と、73.7% の高い抑制率を示した。生存率においても、対象群が 43.9 日であるのに対し、62.4 日と有意に延長させることに成功した。

更に、以前より研究を進めている KAI1/CD82 に関しても、やはり、アデノウイルスをベクターとして肺転移を抑制できるかどうかの実験を行った。同様にマウスのメラノーマ株である BL6 を用いて実験したところ、対象群の肺転移数が 89 ± 28 であるのに対し、KAI1/CD82 を強制発現させた群では、 22 ± 9.0 と高い抑制率を示した。更に生存期間も、コ

ントロール群の 43.9 日に比べ、57.8 日と有意に延長した。更に興味深いことには、これらの両者を併用した場合、その相乗効果が得られるということが判明した。生存期間において、両者の併用群は、実に 84.9 日と延長させることに成功した。この原因として TM4SF、integrin family 複合体が構成される際、MRP-1/CD9 と KAI1/CD82 が同一複合体を構成しないということから、競合的に働いて相乗効果が得られているのかも知れない。

3. クローニングしたエピトープの臨床的意義

検討した物質は MH8-4 抗体が認識している integrin $\alpha 3$ 、MH7-3 抗体が認識している integrin $\alpha 5$ 、MH8-11 が認識している APN、及び MH52-7 が認識している CD44H である。これらを肺癌、乳癌、大腸癌、胃癌、食道癌、腎癌及び膀胱癌等で検討した。その結果、integrin $\alpha 3$ 、APN がもっとも良く臨床的意義を持つことが判明した。また、CD44H については特に有意な結果は得られなかった。

a) integrin $\alpha 3$

MH8-4 抗体を用いて、大腸癌の原発部位と肝転移部位を比較してみると、17 例の原発部位で発現していた integrin $\alpha 3$ が 11 例で肝転移部位で減少することが判明した。また、原発部位で減弱していた場合、転移部位で増加しているものは 1 例も存在せず、integrin $\alpha 3$ の減弱消失は転移に深く関わっているものと考えられた。次に、臨床病理標本で癌の予後との関係を免疫組織学的に解明していった。その結果、非小細胞肺癌全体では、integrin $\alpha 3$ が減弱しているものの 5 年生存率は 47.1%であるのに対し、保持群の生存率は 55.9%と、減弱群の予後が悪い傾向が判明したが、これを更に組織別で検討してみたところ、腺癌においては減弱群は 35.2%、保持群は 54.4%と減弱群がより有意に予後が悪いことが判明した。これは肺癌の腺癌の再発形態が、遠隔転移が扁平上皮癌に比べ遥かに多いことと考え併せると、非常に興味深い結果と考えられる。また、大腸癌においても、やはり同様の結果が見られた。Integrin $\alpha 3$ 減弱群の 5 年生存率は 73%と、保持群の 84%に比べ有意に減弱群の予後が悪いことが判明した。

b) Aminopeptidase N (APN)

APN を認識している MH8-11 抗体を用い、臨床病理標本で大腸癌 114 例の予後との関係を免疫組織学的に検討したところ、APN を過剰発現しているものの 5 年生存率は、73.8%と発現量の低いものの 84.0%に比べ有意に低下することが判明した。また、膵癌においても 50 例の切除標本で検討してみたところ、中間生存期間は陽性例が 9.5 ヶ月であるのに対し、減弱例は 13.2 ヶ月と有意に産生群が予後不良であった。非小細胞肺癌では APN 陽性患者の 5 年生存率は 44.5%であるのに対し、陰性患者は 68.2%と有意に APN 陽性例の予後が不良であることが判明した。またこれを組織型別に見ると、腺癌では 5 年生存率が陽性例が 45.2%にすぎないのに対し、陰性例では 63.4%とわずかに有意に ($p=0.045$) 陽性例の予後不良の傾向があったが、扁平上皮癌では更に明確に陽性例で 37.5%であるのに対し、陰性例では 75.7% ($p=0.009$) と極めて有意に陽性例の予後が不良であることが判明した。微小血管数との相関においても扁平上皮癌で有意に相関関係が認められ、APN による腫瘍血管新生誘導が示唆された。これまでに、我々は MH8-11 抗体が血管内皮細胞の運動を抑制することから APN を抑制することで癌周囲への新生血管の誘導産生を抑制することを、ヌードマウス移植腫瘍で見出している。従って、臨床材料からの結果はメタロプロテアーゼの一種としての APN の作用と血管新生における APN の作用の両者が関係しているものと

考えられた。しかしながら、食道癌や胃癌では、このような予後に関連した成績は全く得られなかった。食道癌における検討では殆ど CD13 の発現が認められず、CD13 の食道癌における役割は不明であった。胃癌 121 例では 48 例に陽性、36 例に弱陽性、37 例で陰性であった。CD13 発現が転移に関連し予後不良因子であると考えてきたが、胃癌では CD13 発現減弱症例で逆に有意に予後不良でその発現とリンパ節転移に関連が認められ、多変量解析でも有意な予後因子であった。一方、正常胃粘膜では腸上皮化成および粘膜の内腔側で強く染色された。腎癌、前立腺癌については手術後経過時間が短い症例で検討したため、予後に対する検討は早急であると考えられるので、まだ結論づけることは出来ない。現時点では、前立腺癌で癌細胞は正常前立腺上皮と比較して APN を強く発現していたが、一般的に腺癌構造を示さない低分化な Gleason grade 5 のものが、高分化な Gleason grade 4 のものに比べて発現量が低く、予後との相関は胃癌などの様に肺扁平上皮癌と異なる可能性が出てきた。しかしながら、APN の阻害剤として既に白血病で認可されているベスタチンが、二重盲検試験で胃癌では無効であったが、肺の扁平上皮癌で有意に有効性を示した報告が今年度の Journal of National Cancer Institute 誌上でなされており、非常に興味深いと考えられた。

4. integrin $\alpha 5$

非小細胞肺癌で RT-PCR 及び免疫組織染色を用い、臨床的意義を検討した。その結果、integrin $\alpha 5$ の過剰発現は有意にリンパ節転移と関連していることが明らかになった。早期のリンパ節転移を伴っていない切除肺癌の原発巣で、この発現の臨床的意義を検討したところ、過剰発現しているものが 63.2%であるのに対して、正常の発現範囲内のものが 81.8%と有意に integrin $\alpha 5$ を発現しているものの予後が悪いことが判明した。他の癌については、特に有意差を認めなかった。

IV. 考察

我々の今回の研究で新たなる細胞運動抑制モノクローナル抗体のクローニングから、integrin $\alpha 3$ 、integrin $\alpha 5$ 、CD44H 及び APN の四者が特定された訳である。これの臨床的意義を考えてみると、非常に興味深い現象が判明した。原発巣から癌細胞が解離して、血管内皮を通過してリンパ管や血管内に侵入する過程が転移の第一段階と考えられるが、これに関与しているのは integrin $\alpha 3$ 、CD44H、MRP-1/CD9 及び KAI1/CD82 であると考えられた。これらはすべて何らかの点で、原発巣から癌細胞の解離に関連している接着分子である。しかしながら、Metaplasia や Dysplasia 等の前癌状態では、これらの異常は認められなかった。従って、癌化に伴い初めてこれらの異常が始まるものと考えられる。現在、まだこれらのいずれかが、どのような機序で異常をきたすかが明らかには出来てはいない。しかし、非小細胞肺癌などで類推してみると integrin $\alpha 3$ や、CD44H の異常は、既にこの段階で始まっているのかもしれない。それに対して、KAI1/CD82 や MRP-1/CD9 の減弱欠損異常は癌が進行するにつれて、起こってくると考えられる。特に、MRP-1/CD9 の異常はかなり進行して初めて出現し、転移が形成されるものと考えられる。その後、脈管内や細胞外マトリックスで免疫細胞の攻撃からくぐり抜けることが出来た癌細胞が、転移巣を形成して行くわけであるが、integrin $\alpha 5$ はこの段階で深く関わっていると考えられる。即ち、転移巣が浸潤拡大していくのに癌細胞同士の接着に深く関連していると考えられる。

もちろん、これらの異常が単独で起こって転移形成が成立するわけではなく、特に我々がこの助成金を受ける以前から続けている MRP-1/CD9 及び KAI1/CD82 については integrin family や他の TM4SF のメンバー、HB-EGF 等と大きな複合構成体を形成していることが判明している。この中で MRP-1/CD9 や KAI1/CD82 は co-factor として働いていると考えられ、この大きな複合体全体で接着やシグナル伝達に関与していると考えられている。

そこでこれからの研究課題として、integrin $\alpha 3$ 、integrin $\alpha 5$ については、MRP-1/CD9 や KAI1/CD82 が属している TM4SF と複合構成体を形成していることが判明しているので、更に癌の進展につれて、どのように、この構成体が変化していくか、MH8-4 抗体や MH7-3 抗体を利用してつきとめていく。即ち、原発巣部位で integrin $\alpha 3\beta 1$ と MRP-1/CD9、あるいはまた、integrin $\alpha 3\beta 1$ と KAI1/CD82 の複合構成体が優位をしめて転移を抑制している可能性がある。一方、転移部位は integrin $\alpha 5\beta 1$ と MRP-1/CD9、KAI1/CD82 との複合構成体が優位を占めているのかもしれない。更に、この問題を複雑にしているのが、最近報告された PETA3/CD151 の存在である。

最近、我々は同じ TM4SF に属している PETA3/CD151 が逆に転移促進遺伝子であるということ明らかにした。更に PETA3/CD151 も integrin $\alpha 3$ 及び integrin $\alpha 5$ と複合構成体を形成していることも明らかにしてきた。癌の進展につれて、どのようにこの構成体の変化していくか、これらの抗体を利用して検討していきたい。理論的には、癌転移に伴い崩壊して行くと考えられる MRP-1/CD9-integrin 複合構成体あるいは、KAI1/CD82-integrin 複合構成体を再構築させて転移癌細胞で優位を示す PETA3/CD151-integrin 複合構成体を崩壊させることにより、転移の抑制を試みることに挑戦していく。MRP-1/CD9、KAI1/CD82 に関しては、アデノウイルスを用いる実験で肺転移を抑制することに成功したので、更にポリエチレンイミンを用いた吸入療法による遺伝子導入、及び、抗体を用いた免疫遺伝子療法等を進めて行く予定である。

更に、CD44H に関しては、変異型である CD44v6 細胞株にトランスフェクションし、転移能を抑制できるかどうかを検討していきたい。それには、アデノウイルスをベクターとして *in vivo* で転移を抑制することができるかどうか試みていきたい。APN に関しては上記のモノクローナル抗体を用い、担癌マウスで転移の抑制、あるいは癌の進展を抑制することが一部の細胞で可能になったため、これを現在キメラ化ヒト型モノクローナル抗体に改変し、人への臨床応用が可能であれば検討していく予定である。現在、癌治療においては、分子標的療法が脚光を浴びており、これらの点からも、複数の分子標的療法を行うことにより、近い将来、癌の転移は抑制できるものと我々は考えている。これにより、良性腫瘍の如く、巨大化した悪性浸潤癌を外科切除していく適用拡大を現実化させていきたい。

V. 研究成果の発表

- 1) Huang, C., **Taki, T.**, Higashiyama, M., Kohno, N., and **Miyake, M.** p16 protein expression is associated with a poor prognosis in squamous cell carcinoma of the lung. *Brit. J. Cancer*, 82: 374-380, 2000.
- 2) Hirasawa, Y., Kohno, N., Yokoyama, A., Kondo, K., Hiwada, K., and **Miyake M.** Natural autoantibody to MUC1 is a prognostic indicator for non-small cell lung cancer. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 161: 589-594, 2000.

- 3) Adachi M., **Taki, T.**, Higashiyama, M., Kohno, N., Inufusa, H., and **Miyake, M.** Significance of integrin cx5 gene expression as a prognostic factor in node negative non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 6: 96-101, 2000.
- 4) Hamada, H., Kohno, N., Yokoyama, A., Kondo, K., Yang, S-Z., Hiwada, K., Watanabe, K., and **Miyake, M.** A novel monoclonal antibody, H9, directed against the core protein of MUC1 mucin. *Oncol. Report*, 7: 225-232, 2000.
- 5) Konishi, T., Huang, C.-L., Adachi, M., **Taki, T.** Inufusa, H., Kodama, K., Kohno, N., and **Miyake, M.** The K-ras gene regulates vascular endothelial growth factor gene expression in non-small cell lung cancers. *Int. J. Oncol.*, 16: 501-511, 2000.
- 6) Yagita, M., Huang C. L., Umehara, H., Matsuo, Y., Tabata, R., **Miyake, M.** Konaka, Y., and Takatsuki, K. A novel natural killer cell line (KHYG-1) from A patient with aggressive natural killer cell leukemia carrying a p53 point mutation. *Leukemia*, 14: 922-930, 2000.
- 7) **Miyake, M.**, Inufusa, H., Adachi, M., **Ishida, H.**, Hashida, H., Tokuhara, T., and Kakehi, Y. Suppression of pulmonary metastasis using adenovirally motility related protein-I (MRP-1/CD9) gene delivery. *Oncogene*, 19: 5221-5226, 2000.
- 8) Habuchi, T., Suzuki, T., Sasaki, R., Wang, L., Sato, K., Satoh, S., Akao, T., Tsuchiya, N., Shimoda, N., Wada, Y., Koizumi, A., Chihara, J., **Ogawa, O.**, and Kato, T. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostate hyperplasia in Japanese population. *Cancer Res.*, 60: 305-308, 2000.
- 9) Arai, Y., Egawa, S., Tobisu, K., Sagiya, K., Sumiyoshi, Y., Hashine, K., Kawakita, M., Matsuda, T., Matsumoto, K., Fujimoto, H., Okada, T., Kakehi, Y., Terachi, T., and **Ogawa, O.** Radical prostatectomy: time trends, morbidity and mortality in Japan. *Brit. J. Urol. Inter.*, 85: 287-294, 2000.
- 10) Kakehi, Y., Kamoto, T., **Ogawa, O.**, Kato, T., Tobisu, K., Akakura, K., Egawa, S., Usami, M., Maeda, O., Arai, Y., Sumiyoshi, Y., Kamiryo, Y., and Yoshida, O. Clinical significance of nonpalpable prostate cancer with favorable biopsy features in Japanese men. *Eur. Urol.*, 37: 552-558, 2000.
- 11) Higashi, S., Habuchi, T., Takahashi, T., Kamoto, T., Kakehi, Y., **Ogawa, O.**, and Hiai, H. Allelic imbalances on chromosome 20 in human transitional cell carcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.*, 91: 499-503, 2000.
- 12) We, X-X., Mizutani, Y., Kakehi, Y., Yoshida, O. and **Ogawa, O.** Enhancement of Fas mediated apoptosis in renal cell carcinoma cells by adriamycin. *Cancer Res.*, 60: 2912-2918, 2000.
- 13) Lu, J-J., Kakehi, Y., Takahashi, T., Wu, X-X., Yuasa, T., Yoshiki, T., Okada, Y., Terachi, T., and **Ogawa, O.** Detection of circulating cancer cells by reverse transcription-polymerase chain reaction for uroplakin II in peripheral blood of patients with urothelial cancer. *Clin. Cancer Res.*, 6: 3166-3171,

2000

- 14) Kakehi, Y., Kamoto, T., Okuno, H., Terai, A., Terachi, T., and Ogawa, O. Perioperative frozen section examination of pelvic nodes is unnecessary for the majority of clinically localized prostate cancers in the prostate-specific antigen era. *Int. J. Urol.*, 7: 281-286, 2000.
- 15) Sasaki, R., Habuchi, T., Sato, K., Akao, T., Kakinuma, H., Li-Qing, Z., Lizhong, W., Matsuo, S., Sasaki, S., Ogawa, O., and Kato T. The clinical utility of measuring total PSA, PSA density, r-seminoprotein and r-seminoprotein/total PSA in prostate cancer prediction. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 30: 337-342, 2000.
- 16) Habuchi, T., Liqing, Z., Suzuki, T., Sasaki, R., Tsuchiya, N., Tachiki, H., Shimoda, N., Satoh, S., Sato, K., Kakehi, Y., Kamoto, T., Ogawa, O., and Kato, T. Increased risk of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia associated with a CYP17 gene polymorphism with a gene dosage effect. *Cancer Res.*, 60: 5710-5713, 2000.
- 17) Ueda, T., Tamaki, M., Ogawa, O., Yamauchi, T., and Yoshimura, N. Improvement of interstitial cystitis symptoms and problems that developed during treatment with oral IPD-1151 T. *J. Urol.*, 164: 1917-1920, 2000.
- 18) Terai, A., Ishitoya, S., Mitsumori, K., and Ogawa, O. Molecular epidemiological evidence for ascending urethral infection in acute bacterial prostatitis. *J. Urol.*, 164: 1945-1947, 2000.
- 19) Takahashi, T., Habuchi, T., Kakehi, Y., Okuno, H., Terachi, T., Kato, T., and Ogawa, O. Molecular diagnosis of metastatic origin in a patient with metachronous multiple cancers of the renal pelvis and bladder. *Urology*, 56: 331, 2000
- 20) Wu, XX., Kakehi, Y., Takahashi, T., Habuchi, T., and Ogawa, O. Telomerase activity in urine after transurethral resection of superficial bladder cancer and early recurrence. *Int. J. Urol.*, 7: 210-217, 2000
- 21) Maeda, H., Segawa, T., Kamoto, T., Yoshida, H., Kakizuka, A., Ogawa, O., and Kakehi, T. Rapid detection of candidate metastatic foci in the orthotopic inoculation model of androgen-sensitive prostate cancer cells introduced with green fluorescent protein. *Prostate*, 45: 335-340, 2000
- 22) Terai, A., Okada, Y., Ohkawa, T., Ogawa, O., and Yoshida, O. Changes in the incidence of lower urinary tract stones in Japan from 1965 to 1995. *Int. J. Urol.*, 7: 452-456, 2000
- 23) Pimkhaokham, A., Shimada, Y., Fukuda, Y., Kurihara, N., Imoto, I., Yang, Z.Q., Imamura, M., Nakamura, Y., Amagasa, T., and Inazawa, J. On-random chromosomal imbalances in cell lines from esophageal squamous cell carcinomas: Possible involvement of the ATF3 and CENPF genes in the 1q32 amplicon. *Jpn. J. Cancer Res.*, 91: 1126-1133, 2000.
- 24) Kato, M., Imamura, M., Hosotani, R., Shimada, Y., Doi, R., Itami, A., Izumi,

- K., Kosaka, T., and Konishi, J. Curative resection of microgastrinomas based on the intraoperative secretion test. *World J. Surg.*, 24: 1425-1430, 2000.
- 25) **Shimada, Y.**, Watanabe, G., Yamasaki, S., Maeda, M., Kawave, A., Kaganoi, J-I., Itama, A., Fukumoto, M., Kanda, Y., and Imamura, M. Histological response of cisplatin predicts patients' in oesophageal cancer and p53 protein accumulation in pretreatment biopsy is associated with cisplatin sensitivity. *Eur. J. Cancer*, 36: 987-993, 2000
- 26) **Shimada, Y.** Sato, F., Watanabe, G., Yamasaki, S., Kato, M., Maeda, M., and Imamura, M. Loss of fragile histidine triad gene expression is associated with progression of esophageal squamous cell carcinoma, but not with the patient's prognosis and smoking history. *Cancer*, 89: 5-11, 2000
- 27) Tanaka, H., **Shimada, Y.**, Harada, H., Shinoda, M., Hatooka, S., Imamura, M., and Ishizaki, K. Polymorphic variation of the ARP gene on 3p21 in Japanese esophageal cancer patients. *Oncol. Rep.*, 7: 591-593, 2000
- 28) Hong, T., **Shimada, Y.**, Kano, M., Kaganoi, J., Uchida, S., Komoto, I., Yamabe, H., and Imamura, M. The Epstein-Barr virus 1s rarely associated with esophageal cancer. *Int. J. Mol. Med.*, 5: 363-368, 2000
- 29) Uchida, S., Watanabe, G., **Shimada, Y.**, Maeda, M., Kawabe, A., Mori, A., Arii, S., Uehata, M., Kishimoto, T., Oikawa, T., and Imamura, M. The suppression of small GTPase Rho signal transduction pathway inhibits angiogenesis, in vitro and in vivo. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 269: 633-640, 2000
- 30) Mori, K., Hasegawa, M., Nishida, M., Toma, H., Fukuda, M., Kubota, T., Nagasue, N., Yamada, H., Hirakawa-YS Chung K, Ikeda, T., Takasaki, K., Oka, M., Kameyama, M., Toi, M., Fujii, H., Kitamura, M., Sasaki, H., Ozono, S., Makuuchi, H., **Shimada, Y.**, Onishi, Y., Aoyagi, S., Mizutani, K., Ogawa, M., Nakao, A., Kinoshita, H., Tono, T., Imamoto, H., Nakashima, Y., and Manabe, T. Expression of levels of thymidine hosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase in various human tumor tissues. *Int. J. Oncol.*, 17: 33-38, 2000
- 31) Hashida, H., Takabayashi, A., Adachi, M., Imai, T., Kondo, K., Kohno, N., Yamaoka, Y., and **Miyake, M.** The novel monoclonal antibody MH8-4 inhibiting cell motility recognizes integrin $\alpha 3$: inverse of its expression with metastases in colon cancer. *Int. J. Oncol.*, 18: 89-95, 2001
- 32) Hashida, H., Takabayashi, A., Adachi, M., Kondo, K., Kohno, N., Yamaoka, Y., and **Miyake, M.** A cell motility inhibiting monoclonal antibody MH7-5, which recognizes aminopeptidase N: its expression in colon cancer. *Cell-Surface Aminopeptidase: Base and Clinical Aspects*, 167-170, 2001
- 33) Ikeda, N. Nakajima, Y., Sho, M., Adachi, M., Huang, C., Iki, K., Kanehiro, H., Hisanaga, M., Nakano, H., **Miyake, M.** The association of K-ras gene mutation and vascular endothelial growth factor gene expression in pancreatic cancers *Cancer*, 92: 488-499, 2001

- 34) Tokuhara, T., Adachi, M., Hashida, H., Ishida, H., Taki, T., Higashiyama, M., Kodama, K., Tachibana, S., Sasaki, S., and Miyake, M. Neutral endopeptidase/CD 10 and aminopeptidase N/CD13 gene expression as a prognostic factor in non-small cell lung cancer. *Jpn. J. Thorac. Cardio. Surg.*, 49: 489-496, 2001
- 35) Tokuhara; T., Hasegawa, H., Hattori, N., Ishida, H., Taki, T., Tachibana, S., Sasaki, S., and Miyake, M. Clinical significance of CD151 gene expression in non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 7: 4109-4114, 2001.
- 36) Inufusa, H., Adachi, T., Kiyokawa, T., Nakatani, Y., Wakano, T., Nakamura, M., Okuno, K., Shiozaki, H., Yamamoto, S., Suzuki, M., Ando, O., Kurimoto, M., Miyake, M., and Yasutomi, M. Le^y glycolipid-recognizing monoclonal antibody inhibits procoagulant activity and metastasis of human adenocarcinoma. *Int. J. Oncol.*, 19: 941-946, 2001.
- 37) Inufusa, H., Nakamura, M., Adachi, T., Aga, M., Kurimoto, M., Nakatani, Y., Wakano, T., Miyake, M. Okuno, K., Shiozaki, H., and Yasutomi, M. Role of galectin-3 in adenocarcinoma liver metastasis. *Int. J. Oncol.*, 19: 913-919, 2001.
- 38) Mizutani, Y., Nakao, M., Ogawa, O., Yoshida, O., Bonavida, B., and Miki, T. Enhanced sensitivity of bladder cancer cells to tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand mediated apoptosis by cisplatin and carboplatin. *J. Urol.*, 165: 263-270, 2001
- 39) Takahashi, T., Kakehi, Y., Mitsumori, K., Akao, T., Terachi, T., Kato, T., Ogawa, O., and Habuchi, T. Distinct microsatellite alterations in upper urinary tract tumors and subsequent bladder tumors. *J. Urol.*, 165: 672-677, 2001.
- 40) Yamamoto, S., Nakano, M., Terai, A., Yuri, K., Nakata, K., Nair, GB., Kurazono, H., and Ogawa, O. The presence of the virulence island containing the USP gene in uropathogenic Escherichia Coli is associated with urinary tract infection in an experimental mouse model. *J. Urol.*, 165: 1347-1351, 2001
- 41) Wu, X-X., Kakehi, Y., Mizutani, Y., Terachi, T., and Ogawa, O. Increased intracellular doxorubicin by anti-FAS monoclonal antibody: a mechanism that enhance the cytotoxicity in renal cell carcinoma cells. *Urology*, 57: 993-998, 2001.
- 42) Kakinuma, H., Habuchi, T., Ito, T., Mishina, M., Sato, K., Satoh, S., Akao, T., Ogawa, O., and Kato T. BCL10 is not a major target for frequent loss of 1p in testicular germ cell tumors. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 126: 134-138, 2001
- 43) Wu, X-X., Kakehi, Y., Mizutani, Y., Lu, J., Terachi, T., and Ogawa, O. Activation of caspase-3 in renal cell carcinoma cells by anthracyclines or 5-fluorouracil. *Int. J. Oncol.*, 19: 19-24, 2001
- 44) Fujiwara, H., Emi, M., Nagai, H., Ohgaki, K., Imoto, I., Akimoto, M., Ogawa,

- O., and Habuchi, T. Definition of a 1-Mb homozygous deletion at 9q32-q33 in a human bladder-cancer cell line. *J. Hum. Genet.*, 46: 372-377, 2001.
- 45) Nonoguchi, K., Tokuchi, H., Okuno, H., Watanabe, H., Egawa, H., Saito, K., Ogawa, O., and Fujita, J. Expression of Apg-1, a member of the Hsp110 family, in the human testes and sperm. *Int. J. Urol.*, 8: 308-314, 2001
- 46) Mizutani, Y., Hongo, F., Sato, N., Ogawa, O., Yoshida, O., and Miki, T. Significance of serum soluble Fas ligand in patients with bladder cancer. *Cancer*, 92: 287-293, 2001
- 47) Mizutani, Y., Wada, H., Ogawa, O., Yoshida, O., Fukushima, M., Nonomura, N., and Miki, T. Prognostic significance of thymidylate synthase activity in bladder carcinoma. *Cancer*, 92: 510-518, 2001
- 48) Yuasa, T., Okamoto, K., Kawakami, T., Mishina, M., Ogawa, O., and Okada, Y. Expression pattern of cancer testis antigens in testicular germ cell tumors and adjacent testicular tissue. *J. Urol.*, 165: 1790-1794, 2001
- 49) Habuchi, T., Takahashi, T., Kakinuma, H., Wang, L., Tsuchiya, N., Satoh, S., Akao, T., Sato, K., Ogawa, O., Knowles, M.A., and Kato, T. Hypermethylation at 9q32-33 tumour suppressor region is age-related in normal urothelium and an early and frequent alteration in bladder cancer. *Oncogene*, 20: 531-537, 2001.
- 50) Hosseinkhani, H., Aoyama, T., Ogawa, O., and Tabata, Y. In vitro transfection of plasmid DNA by different-cationized gelatin with or without ultrasound irradiation. *Proc. Jpn. Acad.*, 77: 161-166, 2001
- 51) Kamba, T., Higashi, S., Kamoto, T., Shisa, H., Yamada, Y., Ogawa, O., and Hiai, H. Failure of ureteric bud invasion: a new model of renal agenesis in mice. *Am. J. Pathol.*, 159: 2347-2353, 2001.
- 52) Nakano, M., Yamamoto, S., Terai, A., Ogawa, O., Makino, S., Hayashi, H., Nair, G.B., and Kurazono, H. Structural and sequential diversity of the pathogenicity island of uropathogenic *Escherichia coli* which encodes the USP protein. *FEMS Microbiol. Letter*, 205: 71-76, 2001.
- 53) Maeda, H., Hori, S., Nishitoh, H., Ichijo, H., Ogawa, O., Kakehi, Y., and Kakizuka, A. Tumor growth inhibition by arsenic trioxide (As₂O₃) in the orthotopic metastasis model of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.*, 61: 5432-5440, 2001.
- 54) Kakehi, Y., Kamoto, T., Shiraishi, T., Kato, T., Tobisu, K., Akakura, K., Egawa, S., Maeda, O., Sumiyoshi, Y., Arai, Y., and Ogawa, O. Correlation of initial PSA level and biopsy features with PSA-doubling time in early stage prostate cancers in Japanese men. *Eur. Urol.*, 41: 47-53, 2001.
- 55) Inai, M., Kano, M., Shimada, Y., Sakurai, K., Chiba, T., and Imamura, M. Telomerase activity of the lugol-stained and unstained squamous epithelia in process of the esophageal carcinogenesis. *Br. J. Cancer*, 85: 1006-1013, 2001.

- 56) Itami, A., Watanabe, G., Shimada, Y., Hashimoto, Y., Kawamura, J., Kato, M., Hosotani, R., and Imamura, M. Ligands for peroxisome proliferator activated receptor gamma inhibit growth of pancreatic cancers both in vitro and in vivo. *Int. J. Cancer*, 94: 370-376, 2001.
- 57) Itami, A., Kato, M., Komoto, I., Doi, R., Hosotani, R., Shimada, Y., and Imamura, M. Calcium-sensing receptor is involved in calcium-evoked gastrin release from human gastrinoma cells. *Life Science*, 70: 119-129, 2001.
- 58) Hong, T., Shimada, Y., Uchida, S., Itami, A., Li, Z., Ding, Y., Kaganoi, J., Komoto, I., Sakurai, T., and Imamura, M. Expression of angiogenic factors and apoptotic factors in leiomyosarcoma and leiomyoma. *Int. J. Mole. Med.*, 8: 141-148, 2001
- 59) Makino, T., Shimada, Y., Maeda, M., Komoto, I., and Imamura, M. Carbohydrate antigens as a risk factor for hematogenous recurrence of esophageal squamous cell carcinoma patients. *Oncol. Rep.*, 8: 981-985, 2001.
- 60) Kan, T., Shimada, Y., Sato, F., Maeda, M., Kawabe, A., Kaganoi, J., Itami, A., Yamasaki, S., and Imamura, M. Gene expression profiling in human esophageal cancers using cDNA microarray. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 286: 792-801, 2001.
- 61) Imoto, I., Yang, Z-Q., Pimkhaokham, A., Tsuda, H., Shimada, Y., Imamura, M., Ohki, M., and Inazawa, J. Identification of cIAP as a candidate target gene within an amplicon at 11 q22 in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Res.*, 61: 6629-6634, 2001.
- 62) Imoto, I., Pimkhaokham, A., Fukuda, Y., Yang, ZQ., Shimada, Y., Nomura N, Hirai H, Imamura M, Inazawa J. SNO is a probable target for gene amplification at 3q26 in squamous-cell carcinomas of the esophagus. *Biochem Biophys Res Commun*, 286:559-565, 2001.
- 63) Yasui, K., Imoto, I., Fukuda, Y., Pimkhaokham, A., Yang, ZQ., Naruto, T., Shimada, Y., Nakamura, Y., and Inazawa, J. Identification of target genes within an amplicon at 14q 12-q 13 in esophageal squamous cell carcinoma. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 32: 112-118, 2001 ,
- 64) Shiraishi, M., Itoh, T., Furuyama, K., Yamasaki, S., Shimada, Y., Hosotani, R., Nakashima, Y., and Imamura, M. Case of metastatic breast cancer from esophageal cancer. *Dis. Esophagus.*, 14: 162-165, 2001.
- 65) Imamura, M., Shimada, Y., Ide, H., Ozawa, S., Kuwano, H., Kato, H., Yamana, H., Shiozaki, H., Kobayashi, S., and Sakamoto, T. Prognostic significance of cyclinD1 and E-cadherin in patients with esophageal squamous cell carcinoma-Multi institutional retrospective analysis-Am. J. Coll. Surg., 192: 708-718, 2001.
- 66) Watanabe, G., Kaganoi, J., Imamura, M., Shimada, Y., Itami, A., Uchida, S., Sato, F., and Kitagawa, M. Progression of esophageal carcinoma by loss of

- EGF-STAT1 pathway. *Cancer J.*, 7: 132-139, 2001.
- 67) Yang, Z., Imoto, I., Pimkhaokham, A., Shimada, Y., Sasaki, K., Oka, M., Inazawa, J. A novel amplicon 9p23-24 insquamous cell carcinoma of the esophagus that lies proximal to GASC 1 and arbors NFIB. *Jpn. J. Cancer Res.*, 92: 1-6, 2001
- 68) Harada, H., Uchida, N., Shimada, Y., Kumimoto, H., Shinoda, M., Imamura, M., and Ishizaki, K. Polymorphism and allelic loss at the AS3 locus on 13q12-13 in esophageal squamous cell carcinoma. *Int. J. Oncol.*, 18: 1003-1007, 2001
- 69) Uchida, N., Kunimoto, H., Nishizawa, K., Tokumasu, S., Harada, H., Shimada, Y., and Ishizaki, K. Mismatch repair and microsatellite instability in esophageal cancer cells. *Int. J. Cancer*, 91: 687-691, 2001.
- 70) Horii, N., Nishimura, Y., Okuno, Y., Kanamori, S., Hiraoka, M., Shimada, Y., and Imamura, M. Impact of neoadjuvant chemotherapy on Ki67 and PCNA labeling index for esophageal squamous cell carcinomas. *Int. J. Radioat. Oncol. Biol. Phys.*, 49: 527-532, 2001.
- 71) Li, Z., Shimada, Y., Kawabe, A., Sato, F., Maeda, M., Komoto, I., Hong, T., Ding, Y., Kaganoi, J., and Imamura, M. Suppression of N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA)-induced esophageal tumorigenesis in F344 Rats by JTE-522, a selective COX-2 inhibitor. *Carcinogenesis*, 22: 547-551, 2001.
- 72) Sato, F., Shimada, Y., Li, Z., Watanabe, G., Maeda, M., and Imamura, M. Lymph node micrometastases and prognosis in patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br. J. Surg.*, 88: 426-432, 2001.
- 73) Shimada, Y., Inai, M., Kano, M., Sakurai, T., Chiba, T., and Imamura, M. Telomerase activity and p53 protein accumulation in the lugol-stained and unstained esophageal squamous epithelia. *Superficial Esophageal Neoplasm*, Edi Masayuki Imamura, Springer -Verlag, 201-208, 2001.
- 74) Tsunoda, H., Shimada, Y., Watanabe, G.; Nakau, M., and Imamura, M. Covered metaric stent treatment of a patients with spontaneous rupture of the esophagus. *Dis. Esophagus*, 14: 254-257, 2001.
- 75) Hashida, H., Takabayashi, A., Tokuhara, T., Taki, T., Kondo, K., Kohno, N., Yamaoka, Y., and Miyake M. Integrin $\alpha 3$ expression as a prognostic factor in colon cancer: Association with MRP-1/CD9 and KA11/CD82. *Int. J. Cancer*, 97: 518-525, 2002.
- 76) Kohno, M., Hasegawa, H., Miyake, M., Yamamoto, T. and Fujita, S. CD151 enhances cell motility and metastasis of cancer cells in the presence of focal adhesion kinase. *Int. J. Cancer*, 97: 336-343, 2002.
- 77) Hashida, H., Takabayashi, A., Kanai, M., Adachi, M., Kondo, K., Kohno, N., Yamaoka, Y., and Miyake, M. Aminopeptidase N is involved in cell motility and angiogenesis: Its clinical significance in human colon cancer. *Gastroenterology*, 122: 376-386, 2002.

- 78) Ueda, T., Tamaki, M., Ogawa, O., And Yoshimura, N. Overexpression of platelet-derived endothelial cell growth factors/thymidine phosphorylase in patients with interstitial cystitis and bladder carcinoma. *J. Urol.*, 167: 347-345, 2002.
- 79) Wu, X.-X., Kakehi, Y., Mizutani, Y., Kamoto, T., Kinoshita, H., Isogawa, Y., Terachi, T., and Ogawa, O. Doxorubicin enhances TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer. *Int. J. Cancer*, 20: 949-954, 2002.
- 80) Motohashi, H., Sakurai, Y., Saito, H., Masuda, S., Urakami, Y., Goto, M., Fukatsu, A., Ogawa, O., and Inui, K. Gene expression levels and immunolocalization of organic iron transporters in the human kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 13: 866-874, 2002.
- 81) Aoyama, T., Hosseinkhani, H., Yamamoto, S., Ogawa, O., and Tabata, Y. Enhanced expression of plasmid DNA-cationized gelatin complex by ultrasound in murine muscle. *J. Cont. Release*, 80: 345-356 2002.
- 82) Nakamura, E., Megumi, Y., Kobayashi, T., Kamoto, T., Ishitoya, S., Terachi, T., Tachibana, M., Matsushiro, H., Habuchi, T., Kakehi, Y., and Ogawa, O. Genetic polymorphisms of the Interleukin-4 receptor a gene are associated with an increasing risk and poor prognosis of sporadic renal cell carcinoma in a Japanese Population. *Clin. Cancer Res.*, 8: 2620-2625, 2002.
- 83) Kakehi, Y., Kamoto, T., Ogawa, O., Arai, Y., Litwin, M.S., Suzukamo, Y., and Fukuhara, S. Development of Japanese version of the USLA Prostate Cancer Index: a pilot validation study. *Int. J. Clin. Oncol.*, 7: 306-311, 2002
- 84) Fujiwara, H., Emi, M., Nagai, H., Nishimura, T., Konishi, N. Kubota, Y., Ichikawa, T., Takahashi, S., Shuin, T., Habuchi, T., Ogawa, O., Inoue, K., Skolnick, M.H., Swensen, J., Camp, N.J., and Tavtigian, S. V. Association of common missense changes in ELAC2 (HPC2) with prostate cancer in a Japanese case-control series. *J. Hum. Genet.*, 47: 641-648, 2002.
- 85) Kamoto, T., Satomura, S., Yoshiki, T., Okada, Y., Henmi, Y., Nishiyama, H., Kobayashi, T., Terai, A., Habuchi, T., and Ogawa, O. Lectin-reactive a-fetoprotein (AFP-L3%) curability and prediction of clinical course after treatment of non-seminomatous germ cell tumors. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 32: 472-476, 2002.
- 86) Hosseinkhani, H., Aoyama, T., Ogawa, O., and Tabata Y. Liver targeting of plasmid DNA by pullulan conjugation based on metal coordination. *J. Cont. Release*, 83: 287-302, 2002
- 87) Okada, T., Sonoda, E., Yamashita, Y.M., Koyoshi, S., Tateishi, S., Yamaizumi, M., Takeda, M., Ogawa, O., and Takeda, S. Involvement of vertebrate Polk in Rad 18 independent postreplication repair of UV damage. *J. Biol. Chem.*, 277: 48690-48695, 2002
- 88) Yoshimura, K., Arai, Y., Fujimoto, H., Nishiyama, H., Ogura, K., Okino, T.,

- and **Ogawa, O.** Prognostic impact of extensive parenchymal invasion pattern in pT3 renal pelvic transitional cell carcinoma. *Cancer*, 94: 3150-3156, 2002
- 89) Kawabe, A., **Shimada, Y.**, Uchida, S., Maeda, M., Sato, F., Itami, A., and Imamura, M. Expression of cyclooxygenase-2 is associated with carcinogenesis of the lower part of thoracic esophageal carcinoma and p53. *Oncology*, 62: 46-54, 2002.
- 90) Nakakuki, K., Imoto, I., Pimkhaokham, A., Fukuda, Y., **Shimada, Y.**, Imamura, M., Amagasa, T., and Inazawa J. Novel targets for the 18q 11.3 amplification frequently observed in esophageal squamous cell carcinomas. *Carcinogenesis*, 23: 19-24, 2002.
- 91) Li, Z.G., Hong, T., **Shimada, Y.**, Komoto, I., Kawabe, A., Ding, Y.Z., Kaganoi, J., Hashimoto Y., and Imamura, M. Suppression of N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA)-induced esophageal tumorigenesis in F344 Rats by Resveratrol. *Carcinogenesis*, 23: 1531-1536, 2002.
- 92) Sato, F., **Shimada, Y.**, Li, Z., Kano, M., Watanabe, G., Maeda, M., Kawabe, A., Kaganoi, J., Itami, A., Nagatani, S., and Imamura, M. Paratracheal lymph node metastasis is associated with cervical lymph node metastasis in patients with thoracic esophageal squamous cell carcinoma. *Ann. Surg. Oncol.*, 9: 65-70, 2002.
- 93) Ding, Y., **Shimada, Y.**, Gorrin-Rivas, M. J., Itami, A., Li, Z., Hong, T., Maeda, M., Komoto, I., Kawabe, A., Kaganoi, J., and Imamura M. Clinicopathological significance of human macrophage metalloelastase expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology*, 63: 378-384, 2002.
- 94) Shiozaki, H., Doki, Y., Yamana, H., Ozawa, S., Kato, H., Kuwana, H., Sakamoto, T., Shineha, R., **Shimada, Y.**, Nakamura, T., Natsugoe, S., Okazumi, S., Mukai, M., Takubo, K., and Isono, K. A Multi-institutional study of immunohistochemical investigation for the role of cyclin D1 and E-Cadherin in superficial squamous cell carcinoma of the esophagus. *J. Surg. Oncol.*, (in press).
- 95) Ikeda, N., Nakajima, Y., Tokuhara, T., Hattori, N., Sho, M., Kanehiro, H, and **Miyake, M.** Clinical Significance of Aminopeptidase N/CD13 Expression in Human Pancreatic Carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 9:1503-1508,2003.
- 96) Hashida, H., Takabayashi, A., Tokuhara, T., Hattori, N., Taki, T., Hasegawa, H., Satoh, S., Kobayashi, N., Yamaoka, Y., and **Miyake, M.** Clinical Significance of Transmembrane 4 Superfamily in Colon Cancer. *Brit. J. Cancer*, (in press).
- 97) Wang, L., Habuchi, T., Mitsumori, K., Li, Z., Kamoto, T., Kinoshita, H., Tsuchiya, N., Sato, K., Ohyama, C., Nakamura, A., **Ogawa, O.**, and Kato, T. Increased risk of prostate cancer associated with AA genotype of cyclin D1 gene A870G polymorphism. *Int. J. Cancer*, 103: 116-120, 2003.

- 98) Kobayashi, T., Kamoto, T., Isogawa, Y., Kinoshita, H., Terai, A., Habuchi, T., and Ogawa, O. Ratio of prostate specific antigen minor molecular form-to-total prostate antigen is constant regardless of the pathological conditions of the prostate. *J. Urol*, 169: 121-124, 2003.
- 99) Wu, W-W., Kakehi, Y., Mizutani, Y., Nishiyama, H., Kamoto, T., Megumi., K., and Ogawa O. Enhancement of TRAIL/AP02L-mediated apoptosis by adriamycin through inducing DR4 and DRS in renal cell carcinoma cells. *Int. J. Cancer*, 104: 409-417, 2003.
- 100) Okumura, T., Yasumoto, S., Shimada, Y., and Imamura, M. The neurotrophin receptor p75NTR characterizes keratinocyte stem cell that fully reconstitute human squamous epithelial cell subsets in vitro. *Oncogene*, (in press)
- 102) Shimada, Y., Maeda, M., Watanabe, G., and Imamura, M. High serum soluble E-Selectin levels are associated with postoperative haematogenic recurrence in esophageal squamous cell carcinoma patients. *Oncol. Reports*, 2003 (in press)
- 103) Liang, Z., Lippman, SM., Kawabe, A., Shimada, Y., and Xu, XC. Identification of Benzo (a) pyrene Diol EpoxideObinding DNA fragmentts using DNA immunoprecipitation Technique. *Cancer Res.*, 63: 1470-1474, 2003.
- 104) Kaido, T., Arie, S., Shimada, Y., Mori, A., and Imamura, M. Portal embolization in various types of liver: novwl variables to predict hypertrophy. *Hepatogastroenterology*, 50: 140-145, 2003.
- 105) Shimada, Y., Maeda, M., Watanabe, G., Yamasaki, S., Komoto, I., Kaganoi, J., Kan, T., Hashimoto, Y., Imoto, I., Inazawa, J., and Imamura, M. Cell culture in esophageal squamous cell carcinoma and the association with molecular markers. *Clin. Cancer Res.*, 9: 243-249, 2003.
- 106) Ding, Y., Shimada, Y., Maeda, M., Kawabe, A., Kaganoi, J., Komoto, I., Hashimoto, Y., Miyake, M., Hashida, H., and Imamura, M. Association of CC chemokine receptor-7 with lymph node metastasis of esophageal squamous cell carcinoma. (revised)
- 107) Nagatani, S., Shimada, Y., Sato, F., Watanabe, G., Maeda, M., Kaganoi, J., and Imamura, M. Expression of E-cadherin, cyclinD1, matrix methalloproteinase9 and vascular endothelial growth factor in primary tumor of esophageal squamous cell carcinoma does not predict lymph node micrometastasis. (revised)
- 108) Kawamura, J., Shimada, Y., Kitaichi, H., Komoto, I., Hashimoto, Y., Kaganoi, J., Miyake, M., Yamasaki, S., Kondo, K., and Imamura, M. Clinicopathological investigation of Aminopeptidase N/CD13 expression in gastric cancer. (submitted)
- 109) Shimada Y et al. Prognostic significance of Dysadherin expression in esophageal squamous cell carcinoma (submitted)
- 110) Shimada Y et al. Clinical significance of Dysadherin expression in gastric

- cancer patients. (Submitted)
- 111) Nagatani S, Shimada Y, Li Z, Kaganoi J, Kan T, Maeda M, Watanabe G, Imamura M. Validation of intra-operative detection of paratracheal lymph node metastasis using real-time RT-PCR targeting esophageal squamous cell carcinoma Authors. (submitted)
- 112) Hashimoto Y, Shimada Y, Itami A, Ito T, Kawamura J, Kawabe A, Kaganoi J, Maeda M, Watanabe G, Imamura M. Growth inhibition through activation of peroxisome proliferator-activated receptor α in human oesophageal squamous cell carcinoma. (submitted)
- 113) Fang M, Song Y, Liu, Yang GY, Nie Y, Zhou X, Shimada Y, Wang LD, Yang CS. Gastrin-releasing peptide in human esophageal squamous cell carcinoma (submitted)
- 114) Kaganoi J, Shimada Y, Kano M, Nagatani S, Okumura T, Watanabe G, Maeda M, Imamura M. Prognostic Significance of Circulating Esophageal Cancer Cells in Peripheral Blood targeting Squamous Cell Carcinoma antigen messenger RNA (submitted)