

東北大学大学院医学系研究科 分子遺伝学教室 教授

財団法人癌研究会 癌研究所 細胞生物部 部長

野田 哲生

「変異マウスを用いた発癌制御遺伝子の単離・同定の試み」

1. 研究実施の概要

近年の分子遺伝学的解析の結果、がんはがん遺伝子やがん抑制遺伝子の変異により生じる遺伝子病であることが明らかになって来ている。従って、ヒト発癌の分子機構を解明するには、がんの発生母地である組織・細胞において、これらががん関連遺伝子の機能解析を行うことが必須となっている。本研究はマウス分子遺伝学的手法を駆使して、がん関連遺伝子変異の影響を個体内で解析し、発がんの分子過程を明らかにすることを目的とした。本課題の研究内容は、用いた手法により、1) ヒト発がんモデルマウスを用いたフォワード・ジェネティクスによる発がん制御遺伝子の単離・同定の試みと、2) コンディショナル・ジーンターゲティング法による発がん関連遺伝子の機能解析の2つに大別され、これらは共に、「APC 遺伝子と Wnt シグナルによる発がん」を中心研究テーマとしているが、以下に各研究の成果を簡単に述べる。

1) ヒト大腸腺腫症 (FAP) モデルマウスを用いた発がん制御遺伝子の単離・同定：

我々が APC 遺伝子に変異を導入することにより作製した FAP モデルマウスにおける消化管腺腫の発生は、野生型由来近交系マウス (CAST/Ei) と交配することにより、約 1/20 にまで減少する。本研究において我々は、戻し交配による大規模な遺伝学的実験と QTL 解析により、CAST/Ei 系マウスの染色体上の 6ヶ所に、FAP モデルマウスの腫瘍発生を抑制する遺伝子座をマップし、さらにスピードコンジェニック系統の作製により、染色体 10 番及び 15 番上の 2つの領域に関して、実際に FAP モデルマウスの腫瘍数を抑制する機能を持つことを明らかにした。染色体 10 番上の領域は、その後の実験で約 3.0cM に絞り込むことに成功した。次いで、直接塩基配列解読によりその 10 番上の領域内の遺伝子の多型解析を行った結果、この領域内からの候補遺伝子の同定に成功している。一方、我々は FAP モデルマウスの作製過程で、その発生腫瘍数が約 1/50 にまで減少するサプレッサー変異を有する変異マウス系統を得た。遺伝学的実験により、この責任遺伝子は APC 遺伝子近傍の約 1.7cM の領域にマップされた。次に、DNA チップによる遺伝子発現解析と塩基配列の解読による解析から、この領域内の α カテニン遺伝子が候補遺伝子として同定されている。現在、この FAP モデルマウスの腺腫形成における α カテニンの役割について解析中である。

2) コンディショナル・ジーンターゲティングによる Wnt シグナル関連遺伝子の機能解析：

我々はまず、我々が確立したアデノウイルス感染系 (AxCre) によるコンディショナル・ジーンターゲティング法を用いて、マウスの各種上皮における発がんへの APC 遺伝子変異の関与について解析を行った。まず、マウス大腸においても APC 遺伝子変異が実際に腺腫形成を誘導することを示し、その腫瘍ゲノム DNA の遺伝学的解析から、大腸上皮の腺腫化には APC 変異のみで十分であることを示した。さらに我々は、肝、胆、膵、肺、乳腺等の上皮における APC 遺伝子の不活化に成功し、その解析から、APC の不活化は肝内胆管や胆のうの上皮細胞を癌化させること、又 p53 遺伝子変異と共存する時には、膵上皮細胞

も癌化させることを明らかにした。これらの癌ではβカテニンの貯留が明らかであり、さらに cyclinD1 の発現が見られるなど Wnt シグナルの活性化が認められた。一方、他の上皮細胞では増殖性の変化は認められなかった。これらの結果から、マウス個体内の各種腺上皮組織の多くで、APC はβカテニンの分解に機能しているが、組織によってβカテニンの貯留が Wnt シグナル活性化に直接つながる組織とそうではない組織が存在することを明らかにした。

一方我々は、APC 遺伝子のコンディショナル・ノックアウトマウスに加えβカテニン遺伝子のコンディショナル・ノックアウトマウス (CK) とコンディショナル・アクチベーションマウス (CA) を作製し、これらを各種組織で Cre 酵素を発現するマウスと交配し、各種組織において高い効率で各遺伝子を不活化、又は活性化することで、Wnt シグナルの機能解析を行って来た。その結果、現在までに、乳腺上皮、皮膚、神経堤細胞由来組織、心筋における Wnt シグナルの機能と、そこでの APC 遺伝子の役割を明らかにすることが出来た。まず、乳腺上皮では、活性化型変異βカテニンを発現させると、導管の side branching の誘導が見られ、さらに導管内腺腫が誘導されることから、Wnt シグナルが乳腺の発達と乳癌の発生に機能することが示唆された。一方、皮膚では、まずβカテニン即ち Wnt シグナルが毛のうの発生に必須なことを明らかにし、次いで APC がこのβカテニンの分解を介して、皮膚における毛のう領域を限局させることに機能していることを明らかにし、さらに Wnt シグナルの活性化が表皮基底細胞にアポトーシスを誘導することも明らかにした。神経堤由来組織では、顔面、頸部や心臓の一部の発生、発達において Wnt シグナルが細胞増殖を正に制御していることを明らかにし、さらに APC はこの Wnt シグナルを負に制御することで形態形成の制御を行っていることを明らかにした。いずれにしても、これらの腺上皮以外の上皮細胞や上皮以外の組織でも、APC がβカテニンの分解を行い、βカテニンが Wnt シグナルの活性化に機能していることが明らかとなったが、そうした細胞の多くではさらにアポトーシスの誘導が観察された点は、FAP 患者における発がんの臓器特異性を考える上で非常に興味深い。最後に、心筋において特異的に APC を不活化したマウスにおいても、若干のβカテニンの貯留とアポトーシスの出現が認められ、さらにこれらのマウスは拡張型心筋症を起こして死亡することが明らかとなった。近年、心不全における Wnt シグナルの役割が注目されており、現在このマウスの詳細な解析を行っている。

〈グループ別の成果〉

我々は、以下の4グループを一体化して運営しており、前述の研究実施の概要にも全てのグループの成果が貢献している。そこで、本項目においては、前述の成果を上げる上での各グループの役割をごく簡略に述べ、さらにそれ以外の各グループの研究成果について述べる。

1) 分子生物学的解析グループ: 本研究の中心的役割を果たしており、前述の成果中の「発がん制御遺伝子候補のポジショナル・クローニング」や「Wnt シグナル関連遺伝子のコン

ディショナル・ノックアウトマウスの作製と解析」を行った。また本グループは、Patched、TGF β type II 受容体、Smad4、PDK-1、Tsc-2、Axin らの発がんに関与する情報伝達系の遺伝子群や、aPKC λ 、ASIP といった上皮細胞の極性の決定に機能する遺伝子群のコンディショナル・ノックアウトマウスの作製を行い、これらを各種 Cre トランスジェニックマウスと交配することで、これらのシステムが個体内の上皮組織において果たしている役割と、その発がんへの関与を解析した。さらに本グループは、Smad2、Tob1、Tob2、Caf1 ら約 20 種類の発がん関連遺伝子のノックアウトマウスの作製、解析を行った。

2) 遺伝学的解析グループ：本グループは、FAP モデルマウスを用いた発がん制御遺伝子の単離、同定の試みにおいて、大がかりな交配実験と遺伝学的解析により、その候補遺伝子座のマッピングを行って来た。また、各種腫瘍由来の DNA の遺伝学的解析により、発がん過程で染色体 DNA に生じる変異の様式の解析を行ない、さらに最近ではゲノムデータベース解析による遺伝子探索を行った。

3) 病理学的解析グループ：本グループは、前述の研究概要中のモデルマウスにおける発がん過程やノックアウトマウスの個体レベルの異常の組織学的解析を行った。本グループはさらに、培養細胞株を用いた発がん過程の解析を行い、「大腸腺腫の癌化のステップへの LEF-1 遺伝子発現の関与の発見」と「Wnt 受容体結合分子群の単離、同定とその機能の証明」という、2つの大きな成果を上げている。

4) 突然変異導入グループ：本グループは、前述 3 グループとは独立に仕事を進めており、本グループの研究成果は前述の成果には全く含まれていない。本グループは、まず、ジーンターゲット法を用いて、マウス個体内で胚細胞や体細胞において突然変異が導入される分子機構を解析し、さらにその一部の遺伝子に関しては発がんへの関与の解析も行った。対象としては、EndoIII、Mlh1、OGG1 などの DNA 修復遺伝子や Wm ファミリーに属する Wm、RecQ1、RecQ4、RecQ5 のヘリカゼ遺伝子群、さらにはナイミーヘン症候群の原因遺伝子である Nbs1 の遺伝子のノックアウトマウスを作製し、その解析を行って来た。

2. 研究構想

近年の分子遺伝学的研究の成果により、がんはがん遺伝子やがん抑制遺伝子の変異により生じる「遺伝子病」であると考えられるようになったが、実際の生体内における発がんの機構や、発生したがん細胞が多段階を経て、がんの発症へと至るプロセスには、未だ不明な点が多い。我々は本研究において、マウス分子遺伝学を用いた複数の研究プロジェクトを推進し、生体内において発がんのプロセスを制御している分子機構の解明を行なうことにより、ヒトの発がんの予防や治療の新たな標的を同定することを試みた。本研究では、

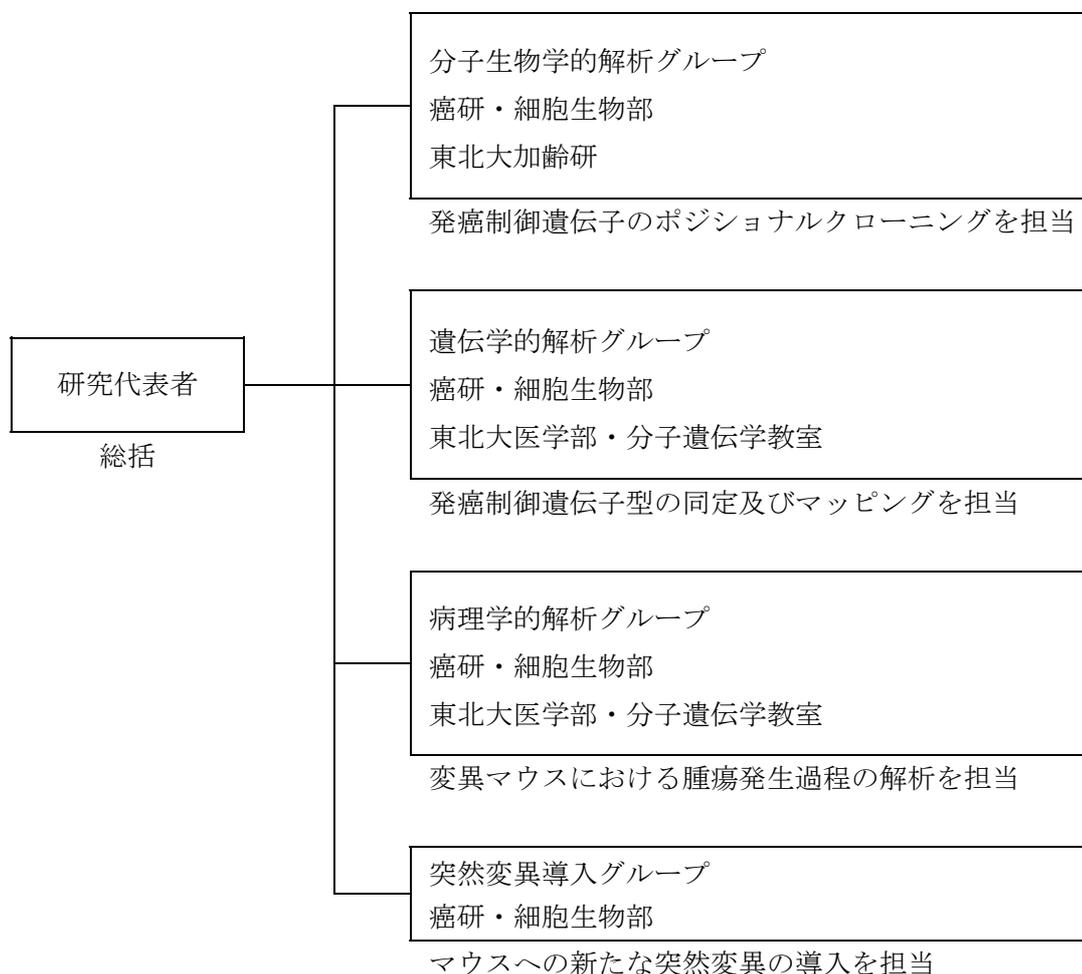
まずヒト大腸がんの発生の主要なプロセスと考えられている「大腸腺腫を経ての大腸がんの発生プロセス」に焦点を当て、この APC 遺伝子変異に基づくと考えられている発がん過程を個体内において制御している分子機構の解明を目的として、2つの大きなプロジェクトを推進して来た。

第1のプロジェクトは、我々が開発したヒト家族性大腸腺腫症 (FAP) モデルマウスを用いたフォワード・ジェネティクス (順遺伝学) による研究プロジェクトであり、APC 遺伝子変異に起因する発がんを生体内で制御している遺伝子を単離・同定するために、以下の2つの研究課題を設定した。1つは、野生由来近交系マウスの遺伝的背景が、FAP モデルマウスの消化管発がんを強く制御することに着目し、その責任遺伝子の同定を試みるものである。手法としては、マウスの交配による遺伝学的実験と QTL 解析により、この発がん抑制に機能している遺伝子座をマウス染色体上にマップした上で、各々の遺伝子座に関しコンジュニックマウス系統を作成し、さらに交配実験により腫瘍発生の抑制を確認し、その領域の塩基配列の解析により遺伝子の同定を目指した。フォワード・ジェネティクスによる、もう1つの研究課題は、我々の研究室で FAP モデルマウスの作製の過程で得られた、消化管発がんが強く抑制される新たな変異マウスである APC580D-C119 の原因遺伝子の単離・同定の試みである。その手法としては、大規模な交配実験により得られるマウスの表現型と遺伝子型を解析することにより、まず原因遺伝子のマッピングを行ない、次いで C119 マウスのゲノム上のその領域内に存在する各遺伝子の塩基配列を解析し、これを野生型と比較することにより原因遺伝子の単離・同定を試みるものである。次に我々は、第2のプロジェクトとしてジーンターゲットングを始めとするリバース・ジェネティクス (逆遺伝学) の手法を用いて、マウス個体内における APC 遺伝子の機能とその発がんへの関与の分子機構を明らかにすることを目的として、一連の研究課題を設定した。即ち、APC 遺伝子は β カテニン蛋白の分解を促進することで、がん抑制遺伝子として機能していると考えられていることから、マウス個体内の各種組織におけるこの Wnt シグナルの機能を解析することにより、APC 変異による発がん過程を制御している分子機構の解明を試みた。そのための手法としては、Cre-loxP システムによるコンディショナル・ジーンターゲットング法を用い、まず APC 及び β カテニン遺伝子のコンディショナル・ノックアウトマウスと、 β カテニン遺伝子のコンディショナル・アクチベーションマウスを作製し、さらに各種組織で特異的に Cre 酵素を発現するマウスを作製して、これらのマウスを上記のコンディショナル・マウスと交配することにより、マウスの各種組織・細胞で時異的に APC や β カテニン遺伝子を不活化したり、或いは β カテニン遺伝子に活性化型変異を導入したりして、そのマウス個体を病理学的手法により詳細に解析することにより、Wnt シグナルの機能解析を試みた。さらに我々は、以上の「APC 変異による大腸発がんの分子機構」に焦点を当てたプロジェクトに加えて、第3のプロジェクトとして、各種ヒト癌の解析から、その変異がヒト発がんに関与することが想像される数多くのがん関連遺伝子に関して、ジーンターゲットング法によりそのノックアウトマウスを作成し、これを用いた機能解析を通じて

各遺伝子の発がんへの関与を明かにすることを試みた。特に、多段階発がんにおける複数の遺伝子座の不活化には、遺伝子変異の導入効率が上昇することが必須と考えられるため、この体細胞変異の導入に関与すると思われる遺伝子に関しては、特に詳細な解析を行なうこととした。

各研究グループの役割分担は、用いる研究手法に基づいて行なわれた。即ち、「遺伝学的解析グループ」は、フォワード・ジェネティクスの手法を用いての各遺伝子座のマッピングとマウスのコンジェニック系統の作製を担当し、「分子生物学的解析グループ」はマウス染色体 DNA 上の遺伝子の塩基配列の解読による責任遺伝子の同定と、リバース・ジェネティクスの手法を用いてのノックアウトマウス及びトランスジェニックマウスの作製を担当した。「病理学的解析グループ」は、各変異マウスの発がん過程や発生における異常の病理組織学的解析を担当し、「突然変異導入グループ」は、各種ノックアウトマウスにおける体細胞レベルでの遺伝子変異導入の効率とその様式の解析を行なった。

3. 研究実施体制



4. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

・平成 11 年 6 月 7 日～6 月 8 日

哺乳動物遺伝学研究会（千葉県木更津市、かずさアカデミアホール）

参加人数 110 名

5. 主な研究成果

(1) 原著論文 (国内 20 件、海外 55 件)

海外

- (1) A. Terunuma, K. Shiba and T. Noda. (1997) A novel genetic system to isolate a dominant negative effector on DNA-binding activity of Oct-2. *Nucleic Acids Res.*, 25 (10): 1984-1990.
- (2) Y. Wakabayashi, Y. Kikkawa, Y. Matsumoto, T. Shinbo, S. Kosugi, D. Chou, M. Furuya, K. Jishage, T. Noda, H. Yonekawa and R. Kominami. (1997) Genetic and physical delineation of the region of the mouse deafness mouse deafness mutation *shaker-2*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 232: 107-110.
- (3) Y. Takei, S. Kondo, A. Harada, S. Inomata, T. Noda and N. Hirokawa. (1997) Delayed development of nervous system in mice homozygous for disrupted microtubule-associated protein 1B (MAP1B) gene. *J. Cell Biol.*, 137 (7): 1615-1626.
- (4) K. Shiba, T. Stello, H. Motegi, K. Musier-Forsyth, T. Noda and P. Shimmel. (1997) Human lysyl-tRNA synthetase accepts N73 variants and rescues E.coli double-defective mutant. *J. Biol. Chem.*, 272: 22809-22816.
- (5) H. Shibata, K. Toyama, H. Shioya, M. Ito, M. Hirota, S. Hasegawa, H. Matsumoto, H. Takano, T. Akiyama, K. Toyoshima, R. Kanamaru, Y. Kanegae, I. Saito, Y. Nakamura, K. Shiba and T. Noda. (1997) Rapid colorectal adenoma formation initiated by conditional targeting of the *Apc* gene. *Science*, 278: 120-123.
- (6) C. Ikebe, K. Ohashi, T. Fujimori, O. Bernard, T. Noda, E.J. Robertson and K. Mizuno. (1997) Mouse LIM-kinase 2 gene: cDNA cloning, genomic organization and tissue-specific expression of two alternatively initiated transcripts. *Genomics*, 46: 504-508.
- (7) J. Aruga, O. Minowa, H. Yaginuma, J. Kuno, T. Nagai, T. Noda and K. Mikoshiba. (1998) Mouse *Zic1* is involved in cerebellar development. *J. Neurosci.*, 18 (1): 284-293.
- (8) J. Toshima, K. Nakagawara, M. Mori, T. Noda and K. Mizuno. (1998) Structural organization and chromosomal localization of the mouse *Tesk1* (testis-specific protein kinase 1) gene. *Gene*, 206: 237-245.
- (9) Y. Doi, M. Kurita, M. Matsumoto, T. Kondo, T. Noda, S. Tsukita, S. Tsukita and T. Seya. (1998) Moesin is not a receptor for measles virus entry into mouse embryonic stem cells. *J. Virol.*, 72 (2): 1586-1592.
- (10) Y. Yonekawa, A. Harada, Y. Okada, T. Funakoshi, Y. Kanai, Y. Takei, S. Terada, T. Noda and N. Hirokawa. (1998) Defect in synaptic vesicle precursor transport and neuronal cell death in KIF1A motor protein-deficient mice. *J. Cell Biol.*, 141 (2): 431-441.
- (11) M. Saitou, K. Fujimoto, Y. Doi, M. Itoh, T. Fujimoto, M. Furuse, H. Takano, T. Noda and S. Tsukita. (1998) Occludin-deficient embryonic stem cells can differentiate into polarized epithelial cells bearing tight junctions. *J. Cell Biol.*, 141 (2): 397-408.
- (12) H. Kawate, K. Sakumi, T. Tsuzuki, Y. Nakatsuru, T. Ishikawa, S. Takahashi, H. Takano, T. Noda and M. Sekiguchi. (1998) Separation of killing and tumorigenic effects of an alkylating agent in mice defective in two of the DNA repair genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 5116-5120.
- (13) H. Takeshima, S. Komazaki, K. Hirose, M. Nishi, T. Noda and M. Iino. (1998) Embryonic lethality and abnormal cardiac myocytes in mice lacking ryanodine receptor type 2. *EMBO J.*,

17: 3309-3316

- (14) T. Manabe, Y. Noda, T. Mamiya, H. Katagiri, T. Houtani, M. Nishi, T. Noda, T. Takahashi, T. Sugimoto, T. Nabeshima and H. Takeshima. (1998) Facilitation of long-term potentiation and memory in mice lacking nociceptin receptors. *Nature*, 394: 577-581.
- (15) S. Hiratsuka, O. Minowa, J. Kuno, T. Noda and M. Shibuya. (1998) Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95: 9349-9354.
- (16) H. Okada, T. Watanabe, M. Niki, H. Takano, N. Chiba, N. Yanai, K. Tani, H. Hibino, S. Asano, M.L. Mucenski, Y. Ito, T. Noda and M. Satake. (1998) *AML1(-/-)* embryos do not express certain hematopoiesis-related gene transcripts including those of *PUL1* gene. *Oncogene*, 17: 2287-2293.
- (17) S. Katamine, N. Nishida, T. Sugimoto, T. Noda, S. Sakaguchi, K. Shigematsu, Y. Kataoka, A. Nakatani, S. Hasegawa, R. Moriuchi and T. Miyamoto. (1998) Impaired motor coordination in mice lacking prion protein. *Cell Mol. Neurobiol.*, 18 (6): 731-742.
- (18) K. Shiba, H. Motegi, M. Yoshida and T. Noda. (1998) Human asparaginyl-tRNA synthetase: molecular cloning and the inference of the evolutionary history of Asx-tRNA synthetase family. *Nucleic Acids Res.*, 26(22): 5045-5051.
- (19) A. Orimo, S. Inoue, K. Ikeda, M. Sato, A. Kato, N. Tominaga, M. Suzuki, T. Noda, M. Watanabe and M. Muramatsu. (1998) Molecular cloning, localization, and developmental expression of mouse brain finger protein (bfp)/ZNF179: Distribution of bfp mRNA partially coincides with the affected areas of Smith-Magenis syndrome. *Genomics*, 54: 59-69.
- (20) Y. Doi, M. Itoh, S. Yonemura, S. Ishihara, H. Takano and T. Noda, S. Tsukita and S. Tsukita. (1999) Normal development of mice and unimpaired cell adhesion/fell motility/action-based cytoskeleton without compensatory up-regulation of Ezrin or Radixin in Moesin gene knockout. *J. Biol. Chem.*, 274(4): 2315-2321.
- (21) Y. Yoshihara, T. Mizuno, M. Nakahira, M. Kawasaki, Y. Watanabe, H. Kagamiyama, K. Jishage, O. Ueda, H. Suzuki, K. Tabuchi, K. Sawamoto, H. Okano, T. Noda and K. Mori. (1999) A genetic approach to visualization Neurotechnique of multisynaptic neural pathways using pant lectin transgene. *Neuron*, 22: 33-41.
- (22) T. Kobayashi, O. Minowa, J. Kuno, H. Mitani, O. Hino and T. Noda. (1999) Renal carcinogenesis, hemangiomas, and embryonic lethality caused by a germ-line *Tsc2* mutation in mice. *Cancer Res.*, 59: 1206-1211.
- (23) M. Nishi, H. Takeshima, T. Houtani, K. Nakagawara, T. Noda and T. Sugimoto. (1999) RhoN, a novel small GTP-binding protein expressed predominantly in neurons and hepatic stellate cells. *Mol. Brain Res.*, 67: 74-81.
- (24) A. Orimo, N. Tominaga, M. Suzuki, T. Kawakami, J. Kuno, M. Sato, O. Minowa, S. Inoue, S. Kato, T. Noda and M. Muramatsu. (1999) Successful germ-line transmission of chimeras generated by coculture aggregation with J1 ES cells and eight-cell embryos. *Anal. Biochem.*, 269 (1): 204-207.
- (25) I. Saito, K. Haruta, M. Shimuta, H. Inoue, H. Sakurai, K. Yamada, N. Ishimaru, H. Higashiyama, T. Sumida, H. Ishida, T. Suda, T. Noda, Y. Hayashi and K. Tsubota. (1999) Fas ligand-mediated exocrinopathy resembling Sjogren's syndrome in mice transgenic for IL-10. *J. Immunol.*, 162: 2488-2494.

- (26) Y. Maeno, S. Moroi, H. Nagashima, T. Noda, H. Shiozaki, M. Monden, S. Tsukita and A. Nagafuchi. (1999) α -Catenin deficient F9 cells differentiate into signet ring cells. *Am J Pathol.*, 154 (5): 1323-1327.
- (27) O. Minowa, K. Ikeda, Y. Sugitani, T. Oshima, S. Nakai, Y. Katori, M. Suzuki, M. Furukawa, T. Kawase, Y. Zheng, M. Ogura, Y. Asada, K. Watanabe, H. Yamanaka, S. Gotoh, M. Nishi-Takeshima, T. Sugimoto, T. Kikuchi, T. Takasaka, and T. Noda. (1999) Altered cochlear fibrocytes in a mouse model of DFN3 nonsyndromic deafness. *Science*, 285: 1408-1411.
- (28) K. Miyasaka, H. Shinozaki, S. Suzuki, Y. Sato, S. Kanai, M. Masuda, A. Jimi, A. Nagata, T. Matsui, T. Noda, A. Kono and A. Funakoshi. (1999) Disruption of cholecystokinin (CCK)-B receptor gene did not modify bile or pancreatic secretion or pancreatic growth: A study in CCK-B receptor gene knockout mice. *Pancreas*, 19 (2): 114-118.
- (29) M. Nishi, S. Komazaki, N. Kurebayashi, Y. Ogawa, T. Noda, M. Iino and H. Takeshima. (1999) Abnormal features in skeletal muscle from mice lacking mitsugumin 29. *J. Cell Biol.*, 147 (7): 1473-1480.
- (30) A. Orimo, S. Inoue, O. Minowa, N. Tominaga, Y. Tomioka, M. Sato, J. Kuno, H. Hiroi, Y. Shimizu, M. Suzuki, T. Noda and M. Muramatsu. (1999) Underdeveloped uterus and reduced estrogen responsiveness in mice with disruption of the estrogen-responsive finger protein (efp) gene, which is a direct target of estrogen receptor α (ER α). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96 (21): 12027-12032.
- (31) K. Murata, N. Ishii, H. Takano, S. Miura, L.C. Ndhlovu, M. Nose, T. Noda and K. Sugamura. (2000) Impairment of antigen-presenting cell function in mice lacking expression of OX40 ligand. *J. Exp. Med.*, 191 (2): 365-374.
- (32) H. Kawate, R. Itoh, K. Sakumi, Y. Nakabeppu, T. Tsuzuki, F. Ide, T. Ishikawa, T. Noda, H. Nawata and M. Sekiguchi. (2000) A defect in a single allele of the *Mlh1* gene causes dissociation of the killing and tumorigenic actions of an alkylating carcinogen in methyltransferase-deficient mice. *Carcinogenesis*, 21 (2): 301-305.
- (33) O. Minowa, T. Arai, M. Hirano, Y. Monden, S. Nakai, M. Fukuda, M. Itoh, H. Takano, Y. Hippo, H. Aburatani, K. Masumura, T. Nohmi, S. Nishimura and T. Noda. (2000) *Mmh/Ogg1* gene inactivation results in accumulation of 8-hydroxyguanine in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97 (8): 4156-4161.
- (34) H. Akazawa, I. Komuro, Y. Sugitani, Y. Yazaki, R. Nagai and T. Noda. (2000) Targeted disruption of the homeobox transcription factor Bapx1 results in lethal skeletal dysplasia with asplenia and gastroduodenal malformation. *Genes to Cells*, 5: 499-513.
- (35) N. Takakura, T. Watanabe, S. Soenobu, Y. Yamada, T. Noda, Y. Ito, M. Satake and T. Suda. (2000) A role for hematopoietic stem cells in promoting angiogenesis. *Cell*, 102: 199-209.
- (36) H. Beppu, M. Kawabata, T. Hamamoto, A. Chytil, O. Minowa, T. Noda and K. Miyazono. (2000) BMP Type II receptor is required for gastrulation and early development of mouse embryos. *Dev. Biol.*, 221 (1): 249-258.
- (37) H. Saegusa, T. Kurihara, S. Zong, O. Minowa, A. Kazuno, W. Han, Y. Matsuda, H. Yamanaka, M. Osanai, T. Noda and T. Tanabe. (2000) Altered pain responses in mice lacking alpha 1E subunit of the voltage-dependent Ca²⁺ channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97 (11): 6132-6137.

- (38) T. Houtani, M. Nishi, H. Takeshima, K. Sato, S. Sakuma, S. Kamimoto, T. Ueyama, T. Noda and T. Sugimoto. (2000) Distribution of Nociceptin/orphanin FQ precursor protein and receptor in brain and spinal cord: a study using in situ hybridization and X-gal histochemistry in receptor-deficient mice. *J. Comp. Neurol.*, 424: 489-508.
- (39) Y. Uehara, C. Mori, T. Noda, K. Shiota and N. Kitamura. (2000) Rescue of embryonic lethality in hepatocyte growth factor/scatter factor knockout mice. *Genesis*, 27: 99-103.
- (40) Y. Yoshida, S. Tanaka, H. Umemori, O. Minowa, M. Usui, N. Ikematsu, E. Hosoda, T. Imamura, J. Kuno, T. Yamashita, K. Miyazono, M. Noda, T. Noda and T. Yamamoto. (2000) Negative regulation of BMP/Smad signaling by Tob in osteoblasts. *Cell*, 103: 1085-1097.
- (41) M. Saitou, M. Furuse, H. Sasaki, J-D Schulzke, M. Fromm, H. Takano, T. Noda and S. Tsukita. (2000) Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol. Biol. Cell*, 11:4131-4142.
- (42) S. Hiratsuka, Y. Maru, A. Okada, M. Seiki, T. Noda and M. Shibuya. (2001) Involvement of Flt-1 tyrosine kinase (vascular endothelial growth factor receptor-1) in pathological angiogenesis. *Cancer Res.*, 61: 1207-1213.
- (43) T. Yokomizo, M. Ogawa, M. Osato, T. Kanno, H. Yoshida, T. Fujimoto, S. Fraser, S. Nishikawa, H. Okada, M. Satake, T. Noda, S. Nishikawa and Y. Ito. (2001) Requirement of *Runx1/AML1/PEBP2 αB* for the generation of hematopoietic cells from endothelial cells. *Genes to Cells*, 6: 13-23.
- (44) M. Kubota, T. Murakoshi, H. Saegusa, A. Kazuno, S. Zong, Q. Hu, T. Noda and T. Tanabe. (2001) Intact LTP and fear memory but impaired spatial memory in mice lacking $Ca_v2.3$ (α_{1E}) channel. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 282: 242-248.
- (45) K. Tobiume, A. Matsuzawa, T. Takahashi, H. Nishitoh, K. Morita, K. Takeda, O. Minowa, K. Miyazono, T. Noda and H. Ichijo. (2001) ASK1 is required for sustained activations of JNK/p38 MAP kinases and apoptosis. *EMBO Rep.*, 2: 222-228.
- (46) T. Kobayashi, O. Minowa, Y. Sugitani, S. Takai, H. Mitani, E. Kobayashi, T. Noda and O. Hino. (2001) A germ-line *Tsc1* mutation causes tumor development and embryonic lethality that are similar, but not identical to, those caused by *Tsc2* mutation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (15): 8762-8767.
- (47) R. Yao, T. Maeda, S. Takada and T. Noda. (2001) Identification of a PDZ domain containing golgi protein GOPC, as an interaction partner of frizzled. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 286: 771-778.
- (48) Y. Hirai, N. Tanaka, R. Furuta, T. Kawaguchi, M. Sakamoto, S. Shirahama and T. Noda. (2001) Somatic mutations of the PTEN/MMAC1 gene associated with frequent chromosomal loss detected by using comparative genomic hybridization in endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.*, 83: 81-88.
- (49) J. Toshima, J.Y. Toshima, M. Suzuki, T. Noda and K. Mizuno. (2001) Cell-type-specific expression of a TESK1 promoter-linked lacZ gene in transgenic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 286: 566-573.
- (50) Y. Sakata, H. Saegusa, S. Zong, M. Osanai, T. Murakoshi, Y. Shimizu, T. Noda, T. Aso and T. Tanabe. (2001) Analysis of Ca^{2+} currents in spermatocytes from mice lacking $Ca_v2.3$ (α_{1E}) Ca^{2+} Channel. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 288: 1032-1036.

- (51) S. Hasegawa, T. Sato, H. Akazawa, H. Okada, A. Maeno, M. Ito, Y. Sugitani, H. Shibata, J. Miyazaki, M. Katsuki, Y. Yamauchi, K. Yamamura, S. Katamine, and T. Noda. (2002) Apoptosis in neural crest cells by functional loss of APC tumor suppressor gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99: 297-302.
- (52) H. Toriyama, L. Wang, H. Saegusa, S. Zong, M. Osanai, T. Murakoshi, T. Noda, K. Ohno and T. Tanabe. (2002) Role of Ca_v 2.3 (α_{1E}) Ca²⁺ channel in ischemic neuronal injury. Basic and Clin. Neuropharmacol., 13: 261-265.
- (53) S. Takiguchi, S. Suzuki, Y. Sato, S. Kanai, K. Miyasaka, A. Jimi, H. Shinozaki, Y. Takata, A. Funakoshi, A. Kono, O. Minowa, T. Kobayashi and T. Noda. (2002) Role of CCK-A receptor for pancreatic function in mice: a study in CCK-A receptor knockout mice. Pancreas, 24: 276-283.
- (54) M. Furuse, M. Hata, K. Furuse, Y. Yoshida, A. Haratake, Y. Sugitani, T. Noda, A. Kubo and S. Tsukita. (2002) Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. J Cell Biol., 156: 1099-1111.
- (55) Y. Owada, H. Takano, H. Yamanaka, H. Kobayashi, Y. Sugitani, Y. Tomioka, I. Suzuki, R. Suzuki, T. Terui, M. Mizugaki, H. Tagami, T. Noda and H. Kondo. (2002) Altered water barrier function in epidermal-type fatty acid binding protein-deficient mice. J Invest Dermatol., 118: 430-435.

国内

- (1) 岡田 斉、野田哲生 ジーンターゲティングの実際, 実験医学 14(20)増刊: 2710-2714, 1996.
- (2) 野田哲生 Gene targeting における現在の問題点と今後の展望, 最新医学 51(6): 1079-1085, 1996.
- (3) 野田哲生 発癌研究とジーンターゲティング, 実験医学 14(20)増刊: 2865-2871, 1996.
- (4) 柴田浩行、野田哲生 コンディショナル・ジーンターゲティング—*in vivo*における新しい遺伝子機能解析法—, BIO Clinica 11(5): 376-380, 1996.
- (5) 伊藤正紀、柴田浩行、野田哲生 がん抑制遺伝子と発がんモデル動物, 最新医学 51(6): 1153-1160, 1996.
- (6) 仁木 賢、岡田 斉、野田哲生、佐竹正延 PEBP2/CBF 転写因子のターゲティング, 血液 腫瘍科 34(4): 298-302, 1997.
- (7) 伊藤正紀、野田哲生 遺伝子治療のための疾患モデル—FAP モデルマウスと HNPCC モデルマウス—, 肝胆膵 34(4): 489-494, 1997.
- (8) 野田哲生 マウス遺伝学とコンディショナル・ジーンターゲティング, 遺伝子医学 1(1): 125-126, 1997.
- (9) 中井茂康、野田哲生 神経特異的 POU 転写調節因子群 (Brn) の機能解析, 神経研究の進歩 41(5): 715-726, 1997.
- (10) 八尾良司、野田哲生 ノックアウトマウスを用いた APC の機能解析, 実験医学 15(16)増刊: 107-111, 1997.
- (11) 伊藤正紀、野田哲生 大腸癌研究の進展—APC 遺伝子と大腸癌—, 実験医学 15(8): 879-884, 1997.
- (12) 長谷川純崇、野田哲生 新しいジーンターゲティングの手法 (Cre-loxP), 内分泌・

- 糖尿病科 5(4): 396-403, 1997.
- (13) 柴田浩行、金丸龍之介、野田哲生 コンディショナル・ジーンターゲティング法による遺伝子機能解析, 癌と化学療法 24(4): 460-165, 1997.
 - (14) 柴田浩行、金丸龍之介、野田哲生 疾患モデルマウスによる発癌機構解明の試み, 組織培養工学 23: 32, 1997.
 - (15) 児玉龍彦、野田哲生、(司会) 宮園浩平 発生工学による疾病の成因と病態の解析, 現代医療 29(12): 158-176, 1997.
 - (16) 柴田浩行、金丸龍之介、野田哲生 コンディショナルジーンターゲティング法を利用した大腸発がん機構の解明, 最新医学 53(6): 1269-1277, 1998.
 - (17) 野田哲生 遺伝性非腺腫性大腸癌モデルマウスにおける発癌過程の解析とその集学的治療法開発への応用, がん治療のあゆみ 17: 61-66, 1998.
 - (18) 市川幸司、松本武久、古市泰宏、野田哲生 Werner 症候群, 現代医療 30(7): 173-180, 1998.
 - (19) 野田哲生 コンディショナル・ジーンターゲッティングによるヒト発癌機構の解析, 産科と婦人科 65(9): 1135-1140, 1998.
 - (20) 外山馨、野田哲生 皮膚疾患のモデルとしての transgenic mouse と knockout mouse, 遺伝子工学と皮膚疾患 14: 41-50, 1998.

(2) 特許出願

なし