

DNAチップを用いた病態解析法の開発

●市川 仁 ◆水島 洋 (2001年度)

国立がんセンター研究所

〈研究の目的と進め方〉

DNAチップ (DNAマイクロアレイ) 技術の開発・進展により、臨床検体の遺伝子発現を網羅的に解析し、その遺伝子発現データを用いて診断や疾患の分類を行うことが可能になったが、遺伝子発現データの意味を理解し病態の把握や病因の解明に役立てることは容易ではない。解決法の一つとして我々が考えたのは、培養細胞を用いてそこに働く遺伝子発現制御ネットワークをある程度明らかにし、その情報を用いて臨床検体の遺伝子発現を解釈するということである。そこで本研究では、外来性に特定の遺伝子を発現させる等の操作を行った培養細胞の遺伝子発現データを取得・解析することにより、疾患の遺伝子発現データを理解する基盤を構築すること、またそれらを用いて病態の把握や病因の解明に役立つ効率的な手法を開発することを目的とした。

本研究は「遺伝子発現プロファイリングによる白血病解析法の開発」という課題名でスタートしたが、2年目より上記研究課題名に改め、白血病を主な材料としながらより一般的な解析手法の開発を目指した。白血病は転写因子異常が多く見られる悪性腫瘍であり、しばしば特異的な染色体転座によりキメラ転写因子が産生される。これらのキメラ転写因子が、細胞の分化、増殖に関与する下流標的遺伝子の発現異常及びそれに引き続く細胞機能の変化を引き起こし、白血病発症の原因になると考えられている。しかしながら、これらのキメラ転写因子が実際にどのような遺伝子の発現異常を引き起こしているのか、またそれらが白血病の発症及びその病態とどのように関連しているのかはほとんど明らかになっていなかった。そこで、本研究の初期においては、白血病発症の鍵となり、その病態を決定付ける遺伝子発現変化、細胞機能変化を明らかにするため、キメラ転写因子が培養細胞において引き起こす細胞内遺伝子の発現変化を同定し、これを転写制御ネットワークとして整理することを目指した。また遺伝子発現パターンだけからは同定が困難なシグナル伝達系の機能的な変化を、DNAチップによる初期応答遺伝子の解析により明らかにすることも試みた。このため、以下の解析を中心に研究を行った。

- 1) 白血病キメラ転写因子が引き起こす遺伝子発現異常の解析
- 2) 白血病キメラ転写因子が引き起こすシグナル伝達異常の解析
- 3) 転写制御領域解析ソフトウェアの開発

上記の解析においては、DNAチップを用いて同定された転写因子の下流標的遺伝子を組み合わせることで、転写制御ネットワークの解明を目指したが、それぞれの転写因子毎に形質導入細胞を構築しなければならない非効率性が問題となった。そこで、本研究の後半においては、より広範な転写制御ネットワークの解明のため、時系列遺伝子発現データを用いた解析とクロマチン免疫沈降/DNAチップの組み合わせによるいわゆるChIP on chip法による解析を試みることにした。時系列遺伝子発現データを用いた転写制御ネットワークの解析としては、in

vitroにおいて成熟好中球へ分化させることが可能なマウス骨髄系細胞株を用いて、分化誘導刺激後の遺伝子発現データを取得し、その情報科学的解析を通して転写制御ネットワークの解明を目指した。また、培養細胞を用いて得られた遺伝子発現情報を適用する対象として、小児急性骨髄性白血病の臨床検体を数十症例程度の収集し、その遺伝子発現データを解析することとした。さらに、より広範な悪性腫瘍に対応する基盤として、細胞の形質転換に関係する遺伝子の解析も行うことにした。以上のような考えの下、本研究の後半においては以下の解析を行った。

- 4) 好中球分化に伴う遺伝子発現変化の解析
- 5) クロマチン免疫沈降法による転写因子/プロモーター結合の解析
- 6) 小児急性骨髄性白血病の遺伝子発現解析
- 7) 白血病の病態解析法の開発
- 8) 細胞の形質転換に関わる遺伝子の解析

〈研究開始時の研究計画〉

本研究課題がスタートした2000年は、DNAチップが医学の領域に使われ始めて間もない頃であり、Stanford大のP. Brown、D. BotsteinらによるcDNAチップを用いた乳がん組織と乳腺上皮細胞の解析から腫瘍特異的な遺伝子発現パターンを同定した報告、MITのE. Landerらによるoligonucleotideチップを用いて遺伝子発現から急性白血病を骨髄性とリンパ球性に分類できることを示した報告、同グループによる各種PDGFレセプター変異体に対する初期応答遺伝子を比較した報告、Harvard大のD. Haberらによるoligonucleotideチップを用いてがん抑制転写因子WT1の標的遺伝子を同定した報告等があるが、まだDNAチップの評価は定まっていない時期であった。このような状況の中で、本研究においては、Affymetrix社のoligonucleotideチップを用いて、血球系細胞株における白血病キメラ転写因子AML1-MTG8、FUS-ERGの下流標的遺伝子の同定、その下流における転写制御ネットワークの解析、G-CSF初期応答遺伝子の解析等を行い、急性骨髄性白血病の遺伝子発現を理解する基盤の構築に当たった [項目1)～3)]。その後、DNAチップ技術の進展・普及の中で、より効率的で普遍性のあるネットワーク解析法を目指すこととし、時系列遺伝子発現データの解析によるネットワークの解明、ChIP on chipによる解析等に取り組むとともに、臨床検体の遺伝子発現データの解析と、その病態、発症機構解明のより効率的な方法の開発を試みた [項目4)～8)]。

1) 白血病キメラ転写因子が引き起こす遺伝子発現異常の解析

急性骨髄性白血病に高頻度に見られるt(8;21)転座白血病と、やや頻度は低いがやはり急性骨髄性白血病に見られ、予後不良であることから注目されているt(16;21)転座白血病のキメラ転写因子を対象とすることとした。t(8;21)転座白血病のAML1-MTG8キメラ転写因子とt(16;21)転座白血病のFUS-ERGキメラ転写因子はともに、

マウス骨髄系細胞株L-Gに発現させると、G-CSFによるL-G細胞の好中球への分化を阻害し、G-CSFに依存した増殖を誘導することが明らかになっていった。そこで、各キメラ転写因子を安定に発現させたL-G細胞と、ベクターのみを導入したコントロール細胞においてDNAチップを用いて遺伝子発現を解析し、その比較からこれらの転写因子により発現の変動を受ける下流遺伝子を同定することとした。また、メタロチオネインプロモーターを用いて誘導発現可能な細胞を構築し、これらのキメラ転写因子の発現誘導に伴う下流遺伝子の発現変化を経時的にモニタリングし、直接的な制御を受けているかどうかを判定することとした。直接的な制御を受ける遺伝子の中で転写制御に関係するものは、その下流遺伝子を同様の方法で同定し、このような解析の繰り返しにより、下流遺伝子を転写制御カスケードもしくはネットワークとして整理することを目指した。

2) 白血病キメラ転写因子が引き起こすシグナル伝達異常の解析

上記のように、AML1-MTG8はG-CSFによるL-G細胞の好中球への分化を阻害し、G-CSFに依存した増殖を誘導することから、G-CSFシグナルの伝達経路に何らかの変化を引き起こしていることが示唆されていた。そこで、AML1-MTG8を安定に発現させたL-G細胞、ベクターのみを導入したコントロール細胞、G-CSF receptor強発現細胞の三つを用いて、G-CSF刺激後経時的にDNAチップを用いて遺伝子発現を測定して、G-CSF刺激に対する初期応答遺伝子を網羅的に同定し、それらの比較によりシグナル伝達経路の変化を明らかにすることを試みた。同定された初期応答遺伝子のプロモーター配列データと、特異的阻害剤が初期応答遺伝子に与える影響を統合することにより、既知のシグナル伝達経路と初期応答遺伝子を対応させるとともに、リン酸化特異的抗体等を用いることにより検証することを計画した。

3) 転写制御領域解析ソフトウェアの開発

DNAチップ解析により同じ転写制御を受けていると予想される遺伝子群が明らかになっても、ゲノム塩基配列データから転写制御領域やその制御に関わる転写因子を予測することは困難である。一方、重要な転写制御機構はマウスとヒト等異なる生物種間においても保存されていると考えられる。そこで、転写制御領域の解析を容易にするため、種間で保存されているorthologous遺伝子の周辺塩基配列を比較し、その転写因子結合部位、転写制

御領域等の推測を支援するソフトウェアの開発を行った。

4) 好中球分化に伴う遺伝子発現変化の解析

in vitroにおいて好中球へ分化させることが可能なマウス骨髄系細胞株L-GMを用い、好中球分化に伴う経時的遺伝子発現データを取得して、好中球分化を制御する遺伝子発現ネットワークの解明を目指した。複数の分化誘導系を用いることで時系列発現データによるネットワーク構築の困難さを軽減しようと考え、G-CSF receptorを外来性に発現させ、G-CSF刺激により分化を誘導する系と、好中球分化に関わる転写因子C/EBP α 、C/EBP ϵ 、PU.1をメタロチオネインプロモーターを用いて誘導発現可能な細胞を構築し、これらの転写因子により分化を誘導する系を用いることとした。

5) クロマチン免疫沈降法による転写因子/プロモーター結合の解析

DNAチップ解析により同じ転写制御を受けていると予想される遺伝子群が明らかになっても、直接的にその遺伝子に作用しているかどうかを明らかにすることは容易ではない。そこで、異なった方向から転写制御ネットワークを解明する試みとして、発現の変化している遺伝子のプロモーター領域に、どのような転写因子が結合しているかを、クロマチン免疫沈降法により解析することにした。また、クロマチン免疫沈降法による解析を効率的に行うために、プロモーターDNAチップの開発も計画した。

6) 小児急性骨髄性白血病の遺伝子発現解析

下記病態解析法を適用する対象として、小児急性骨髄性白血病の臨床検体を収集し、遺伝子発現データを取得することとした。特に好中球系白血病の遺伝子発現データを主に用いて解析法の評価を行うとともに、全データを用いて急性骨髄性白血病の遺伝子発現の特徴についても解析を行うこととした。

7) 白血病の病態解析法の開発

上記の培養細胞を用いて得られた、白血病キメラ転写因子の下流転写制御や好中球分化制御に関する遺伝子発現情報を活用して、急性骨髄性白血病の病態把握や病因解明に役立つツールの開発を計画した。転写制御ネットワークの解明は当初計画通りに進行しなかったため、分化誘導シグナル特異的遺伝子を用いて特定の分化シグナルの活性化/不活性化状態を判断する解析法の開発を行った。

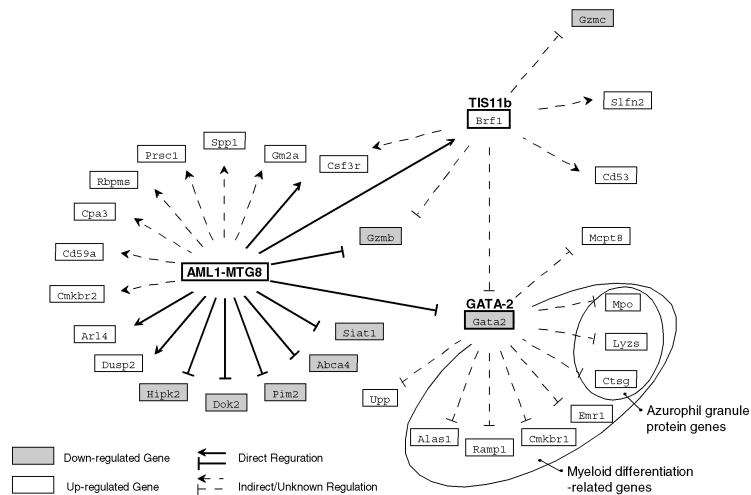


図1. DNAチップを用いて明らかになったAML1-MTG8下流の部分転写制御ネットワーク

8) 細胞の形質転換に関わる遺伝子の解析

白血病以外の悪性腫瘍の解析を行う基盤として、Srcプロテインキナーゼによる形質転換の系を利用し、特に基質非依存性増殖能、運動能に関わる遺伝子の解析を行うこととした。

<研究期間の成果>

1) 白血病キメラ転写因子が引き起こす遺伝子発現異常の解析

AML1-MTG 8 をレトロウイルスベクターを用いてL-G細胞に安定に発現させ、その遺伝子発現パターンをベクターのみを導入したコントロール細胞と比較することにより、AML1-MTG 8 の下流遺伝子を同定した。その結果、Tis11bやGATA-2のように転写制御に関与するもの、G-CSF receptorやPAC-1のようにシグナル伝達に関与するものを含め、約 70 遺伝子を同定した。また、myeloperoxidase, cathepsin G, proteinase 3 等の前骨髄球において形成されるアズール顆粒の構成因子の発現が誘導され、その一方で骨髄球から後骨髄球段階において形成される特殊顆粒の構成因子の発現は抑制されることが明らかになった。すなわち、AML1-MTG 8 は骨髄芽球から前骨髄球への分化を促進し、それ以降の好中球分化を阻害するものと考えられた [論文 2]。次に、AML1-MTG 8 により直接制御を受けている遺伝子を同定するため、AML1-MTG 8 をメタロチオネインプロモーターにより誘導発現可能なL-G細胞を構築し、発現誘導後経時的に遺伝子発現をモニタリングした。その結果、Tis11bやGATA-2を含む11遺伝子が直接制御を受けていると推定された。そこで、Tis11bやGATA-2についてもレトロウイルスベクターを用いてL-G細胞に安定に発現させ、DNAチップによりその下流遺伝子を同定した。AML1-MTG 8 の下流遺伝子に、Tis11bとGATA-2の下流遺伝子を重ね合わせることで部分的な転写制御ネットワークを作成した [図 1]。

FUS-ERGに関しても、レトロウイルスベクターを用いてL-G細胞に安定に発現させ、DNAチップによりその下流遺伝子を同定した。また、TR1 転写活性化ドメインの欠失変異体FUS-ERG Δ 1-173及びTR2 転写活性化ドメインの欠失変異体FUS-ERG Δ 174-265を用いることにより、TR1 及びTR2 依存的に制御される下流標的遺伝子を同定し、FUS-ERGがTR1 とTR2 を使い分けることにより異なる標的遺伝子に作用していることを示した [論文 5]。

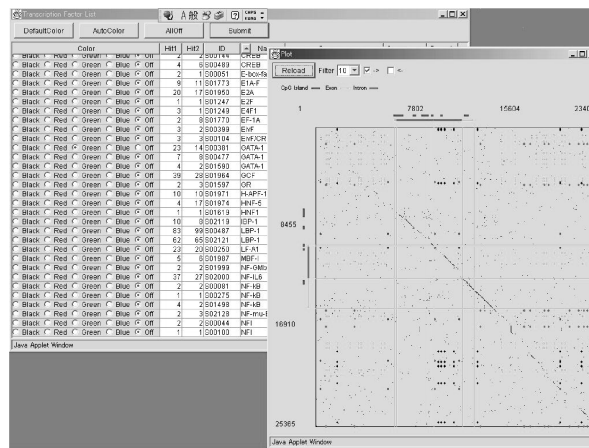


図2. 転写制御領域解析ソフトウェア

2) 白血病キメラ転写因子が引き起こすシグナル伝達系の異常の解析

AML1-MTG 8 がL-G細胞のG-CSFによる分化を阻害し、G-CSFに依存した増殖を誘導することから、AML1-MTG 8 はG-CSFシグナル伝達系の異常を引き起こしていると考えられた。この質的变化を遺伝子発現により検出するため、AML1-MTG 8 を安定に発現させたL-G細胞、ベクターのみを導入したコントロール細胞、G-CSF receptorを強発現させた細胞からG-CSF刺激後経時的にRNAを調製し、DNAチップを用いて解析した。その遺伝子発現データを基にG-CSF刺激に対する初期応答遺伝子を網羅的に同定し、各細胞間でその誘導パターンの比較を行った。その結果、AML1-MTG 8 により初期応答遺伝子の誘導は全体的に増強されるが、その増強の度合いは遺伝子間で異なることを見出した。AML1-MTG 8 はG-CSF receptorの発現を上昇させることによりG-CSFシグナル全体を増強させるとともに、その下流シグナル伝達経路を変化させ部分的にシグナルを増強もしくは抑制していることが示唆された。

3) 転写制御領域解析ソフトウェアの開発

DNAチップ解析により同じ転写制御を受けていると予想される遺伝子群が明らかになっても、ゲノム塩基配列データから転写制御領域やその制御に関わる転写因子を予測することは困難である。一方、重要な転写制御機構はマウスとヒトなど異なる生物種間においても保存され

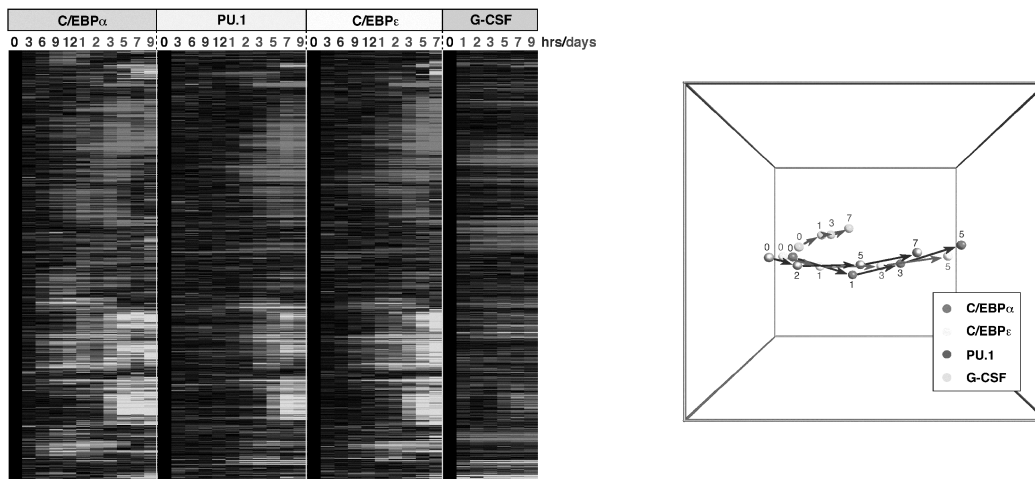


図3. L-GM細胞の好中球分化における 遺伝子発現変化

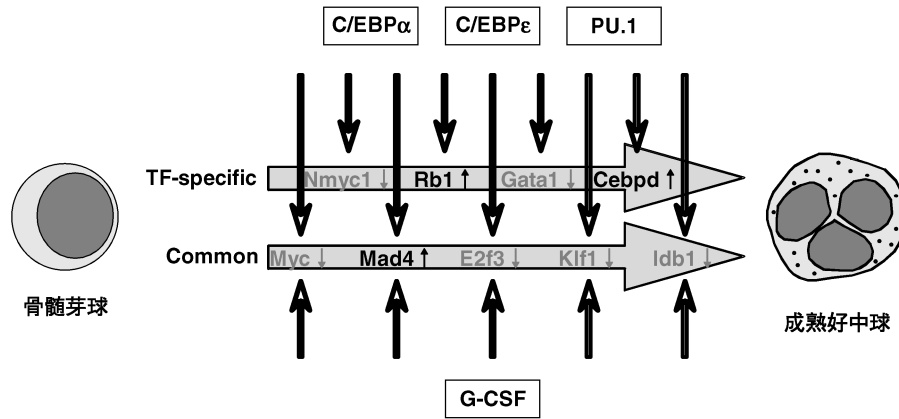


図4. 予想された二つの好中球分化パスウェイ

ていると考えられる。そこで、転写制御領域の解析を容易にするため、種間で保存されているorthologous遺伝子の周辺塩基配列を比較し、その中に転写因子結合部位、CpGアイランド、コーディング領域等の情報を2次元プロット上に選択表示させるソフトウェアを開発した。コーディング領域やエクソン/イントロン構造等の情報はGenBankフォーマットで記載されたフィーチャーテーブルから読み込み、CpGアイランドやCpG出現頻度とともに転写因子の共通結合部位とHarrプロットを表示させることが出来る [図2]。

4) 好中球分化に伴う遺伝子発現変化の解析

マウス骨髄系細胞株L-GMに、メタロチオネインプロモーターを用いてC/EBP α 、C/EBP ϵ 、PU.1を誘導発現できる系を構築し、これらの転写因子が好中球分化誘導能を持つことを見出した。これら三つの系に、G-CSF receptorを外来性に発現させてG-CSFを投与することにより好中球分化を誘導する系を加えて、計四つの系において、分化誘導後、0時間、3時間、6時間、9時間、12時間、1日、2日、3日、5日、7日、9日の遺伝子発現をDNAチップを用いて測定し、その変化を解析した [図3]。また、マウス骨髄・末梢血からFACSにより分画した造血幹細胞、未分化前駆細胞、骨髄系細胞、成熟好中球分画の遺伝子発現をDNAチップを用いて解析し、分化したL-GM細胞の遺伝子発現と比較した結果、上記四つのin vitro分化系がin vivoの分化をよく再現しており、よいモデル系であることが確認された。

上記四つのin vitro分化系の遺伝子発現の比較により、分化誘導初期において引き起こされる遺伝子発現変化は、その分化誘導刺激に依存して互いに大きく異なっているにも関わらず、成熟好中球へ分化した時には非常によく似たパターンを示すことが明らかとなった。すなわち、異なる入力によっても同じ出力が得られる厳密な遺伝子発現制御機構(好中球分化パスウェイ)が備わっていることが予想された。また、転写因子遺伝子の発現に注目して解析した結果、好中球分化に働くパスウェイが二つに分割できる可能性が示唆され、C/EBP α 、C/EBP ϵ 、PU.1による3種の分化系ではその両方が、G-CSFによる分化系ではその一方のみが活性化されていることが予想された [図4]。現在、情報学的手法によりこの時系列遺伝子発現データを用いたネットワーク解析を行っているが、発現変化が比較的単調であること、発現変化する遺伝子が四つの分化系間で極めて類似していること等のため進行が遅れ、現在も継続中である。一方、階層的クラスタリングや自己組織化地図(SOM, self-organizing map)等の手法により好中球分化に関わる遺伝子を分類すると、

少ないながら四つの分化系のうちG-CSFにより分化を誘導する系においてのみ発現が上昇する遺伝子群(G-CSF分化誘導シグナル特異的の遺伝子群)とC/EBP α により分化を誘導する系においてのみ発現が上昇する遺伝子群(C/EBP α 分化誘導シグナル特異的の遺伝子群)が存在することが明らかになった [図5]。

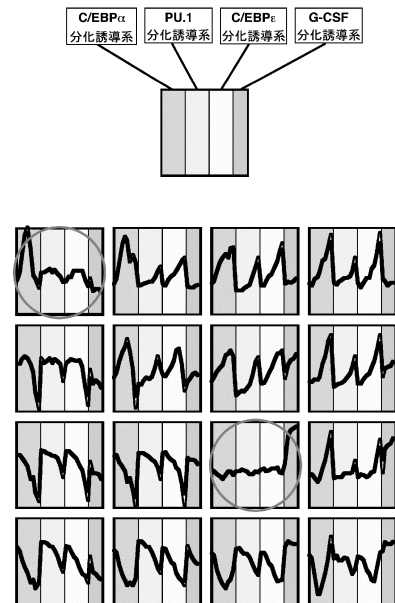


図5. G-CSF分化系、C/EBP α 分化系に特異的な遺伝子

5) クロマチン免疫沈降法による転写因子/プロモーター結合の解析

効率的な遺伝子発現制御ネットワーク解析法として、各転写因子特異的抗体及び抗タグ抗体を用いた免疫沈降法により、転写因子のプロモーターDNAに対する結合を網羅的に解析し、標的遺伝子を同定できないか検討した。しかしながら、プロモーターDNAチップによる解析に十分な免疫沈降の特異性が得られず断念することとした。

6) 小児急性骨髄性白血病の遺伝子発現解析

本研究で開発する病態解析法を適用する対象として、計61症例の小児急性骨髄性白血病の臨床検体を収集し、DNAチップを用いて遺伝子発現データを取得した。このうち2003年までに得られた54症例の遺伝子発現データについて、病型(FAB分類、French-American-British classification)、核型/染色体異常、予後等との比較を行い、これらの白血病の遺伝子発現パターンが、白血病細胞が有するt(8;21)、inv(16)、11q23再構成、+21等の染色

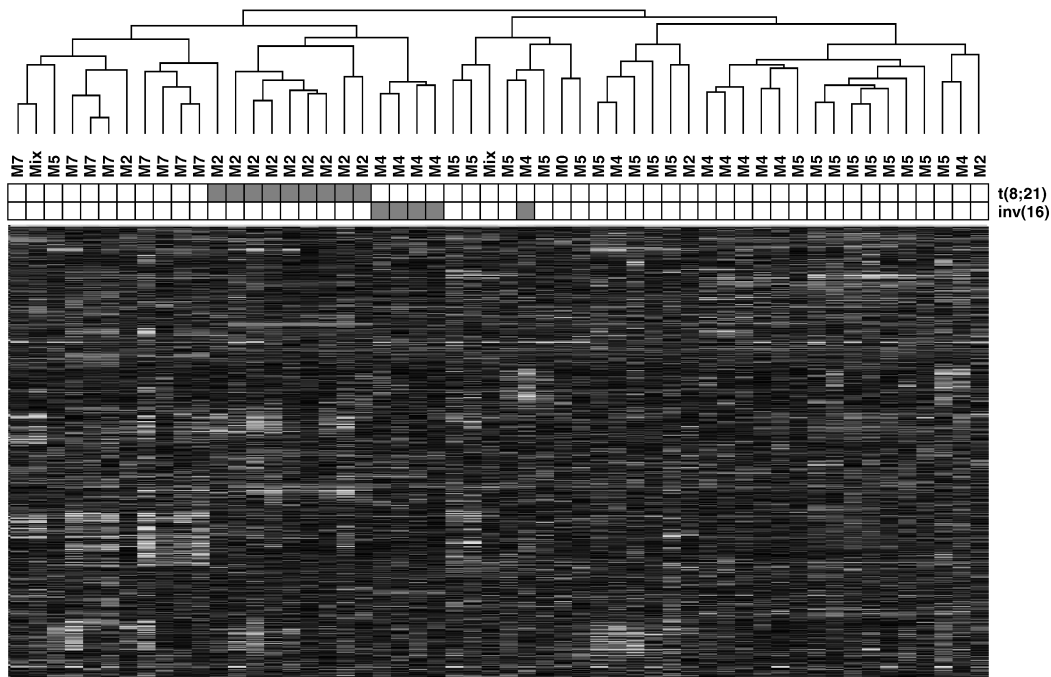


図6. 小児急性骨髄性白血病のクラスター解析

体異常により強く規定されていること [図6]、少ないながら予後と相関する遺伝子発現シグナチャが存在することを明らかにした [論文3]。また、染色体異常と相関した発現を示す遺伝子群はその白血病の分子病態及び発症機構を反映していると予測されることから、それらの同定及び解析を行った結果、t(8;21)及びinv(16)を有する白血病はともに幹細胞マーカーを強く発現しており、造血幹細胞の性質を維持した白血病であることが示唆された。そこで、メチルセルロース培地中でのコロニー形成を継続できるかどうかで幹細胞性維持能 (self-renewal能) に関わる遺伝子をスクリーニングするアッセイ系を構築し、t(8;21)、inv(16)と相関した発現を示す遺伝子を解析した。その結果、self-renewal能を有し、白血病発症の原因の一部となっていると思われる遺伝子を同定した。

7) 白血病の病態解析法の開発

急性骨髄性白血病の中でも好中球系白血病 (FAB分類M2) の発症には、好中球分化阻害が必須のステップであると考えられている。一部の好中球系白血病においてはC/EBP α 遺伝子に変異があることが知られているが、それ以外のものにおいても分化阻害を引き起こす何らかの遺伝子変異が起きていると予想されている。そこで、C/EBP α 分化系、C/EBP ϵ 分化系、PU.1分化系、G-CSF分化系で変動する遺伝子の発現を見ることで、どのような遺伝子変異により好中球分化パスウェイが遮断もしくは不活性化されているか予測できるのではないかと考えた。ヒトとマウスの遺伝子発現データを同一空間で比較する手法を開発し、好中球系白血病臨床検体の発現データと、in vitro分化系におけるL-GM細胞の分化初期段階の発現データとの比較を行った。また、上記G-CSF分化誘導シグナル特異的遺伝子群とC/EBP α 分化誘導シグナル特異的遺伝子群の発現状態をプロットし、検体間で比較した [図7]。その結果、好中球系白血病には、G-CSF分化誘導シグナル特異的遺伝子群の発現が高い一群と低い一群があり、大きく2種類に分類できることが明らかになった。発現が低い一群においては、何らかの遺伝子変異によりG-CSF分化シグナルが遮断されていることが予想され、このような解析により、白血病発症に働いて

いる分化阻害機構を予測できる可能性が示された。

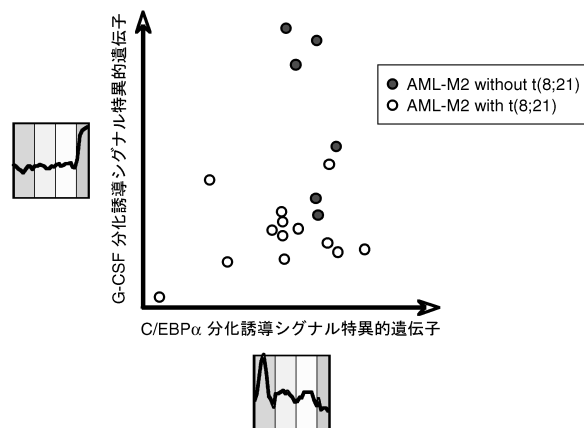


図7. 好中球系白血病における分化誘導シグナル特異的遺伝子の発現

8) 悪性腫瘍の形質転換に関わる遺伝子の同定

基質非依存性増殖と運動能の獲得は、固形腫瘍における悪性腫瘍細胞の顕著な特徴である。白血病以外の悪性腫瘍に関して、上記のような解析を行う基盤として、Srcプロテインキナーゼが正常細胞を形質転換して基質非依存性増殖を誘導し、運動能を付与する時に発現変動する遺伝子の解析を行った [論文1, 4]。また、特にSrcの下流シグナル伝達分子であるCasの部位特異的変異体を用いて、基質非依存性増殖に関わる遺伝子と、運動能に関わる遺伝子を分離して同定した [論文5]。

〈国内外での成果の位置づけ〉

すでに論文として報告したAML1-MTG8の下流遺伝子、小児急性骨髄性白血病の染色体異常や予後と相関する遺伝子については注目を集めたと思われ、海外から多くの問い合わせやデータ提供依頼が来ている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

各転写因子特異的抗体及び抗タグ抗体を用いたクロマチン免疫沈降法により、転写因子/プロモーター結合を

解析できないか検討したが、抗体の特異性が低く、PCRによる検出はできて、プロモーターDNAチップによる解析に必要な特異性は得られなかった。

好中球分化の時系列遺伝子発現データを用いた転写制御ネットワークの解析については、測定タイムポイントの不足、データの精度等のDNAチップによる転写制御ネットワーク解析の一般的問題に加え、発現変化が比較的単調であること、発現変化する遺伝子が四つの分化系間で極めて類似していること等によって、現在のところ満足できる結果は得られておらず、継続中である。

〈今後の課題〉

好中球分化の転写制御ネットワークの解析については、解析する遺伝子をクラスター化し、ネットワーク構築の対象とするノード数をある程度絞り込めば、S-system等の手法によりネットワーク推定が可能になりつつある。より有用なネットワーク推定のために、どのようなクラスタリング手法が有効かが問題となっている。

本研究で検討した特定のシグナル特異的遺伝子を用いて悪性腫瘍の病態を把握するような手法は、様々な腫瘍化パルスウェイが働いていることが知られている固形腫瘍に適用した方が有効であると思われる。今後はどのようなパルスウェイ/シグナル特異的遺伝子に注目し、どのような悪性腫瘍に適用するかが課題となると思われる。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1) 論文/プロシーディング

1. 0202271858
Goldberg, G. S., Jin, Z., Ichikawa, H., Naito, A., Ohki, M., El-Deiry, W. S., and Tsuda, H., Global effects of anchorage on gene expression during mammary carcinoma cell growth reveal role of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in anoikis. *Cancer Res.*, 61, 1334-1337 (2001).
2. 0303271901
Shimada, H., Ichikawa, H., and Ohki, M., Potential involvement of the AML1-MTG8 fusion protein in the granulocytic maturation characteristic of the t(8;21) acute myelogenous leukemia revealed by microarray analysis, *Leukemia*, 16, 874-885 (2002).
3. 0403262005
Yagi, T., Morimoto, A., Eguchi, M., Hibi, S., Sako, M., Ishii, E., Mizutani, S., Imashuku, S., Ohki, M., and Ichikawa, H., Identification of a gene expression signature associated with pediatric AML prognosis, *Blood*, 102, 1849-1856 (2003).
4. 0602082154
Alexander, D. B., Ichikawa, H., Bechberger, J. F., Valiunas, V., Ohki, M., Naus, C. C. G., Kunimoto, T., Tsuda, H., Miller, W. T., and Goldberg, G. S., Normal cells control the growth of neighboring transformed cells independent of gap junctional communication and Src activity. *Cancer Res.*, 64, 1347-1358 (2004).
5. 0602082207
Zou, J., Ichikawa, H., Blackburn, M. L., Hu, H. M., Zielinska-Kwiatkowska, A., Mei, Q., Roth, G. J., Chansky, H. A., and Yang, L., The oncogenic TLS-ERG fusion protein exerts different effects in hematopoietic cells and fibroblasts. *Mol. Cell. Biol.*, 25, 6235-6246 (2005).

6. Shen, Y., Jia, Z., Nagele, R. G., Ichikawa, H., Goldberg, G. S., Src utilizes Cas to suppress Fhl1 in order to promote nonanchored growth and migration of tumor cells. *Cancer Res.*, in press.
- 2) データベース/ソフトウェア
なし
- 3) 特許など
なし
- 4) その他顕著なもの
なし