

# ヒトゲノム構造解析ツールとして的高密度ゲノム DNA マイクロアレイの開発と応用

●井本 逸勢<sup>1)</sup> ◆稲澤 譲治<sup>1)</sup> ◇蒔田 芳男<sup>2)</sup>

1) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所 2) 旭川医科大学・医学部

## <研究の目的と進め方>

ヒトゲノム DNA の配列情報が明らかになった現在、微細なレベルでの疾患遺伝子座の発見は疾患遺伝子の同定に直結する。このため、先天異常や癌など病型は同じであっても複雑な表現型を示す本態不明の疾患におけるゲノムの一次構造あるいは機能異常を示す領域を、全ゲノムを対象に高精度かつ high-throughput に探索できるシステムを構築し効率よくスクリーニングを行っていくことは、これらの疾患の遺伝的要因を解明する重要な手段である。

このような背景のもと、①数 10Kb - 数 Mb レベルでゲノムコピー数異常を高感度かつ安定に検出できる高密度・高感度の实用 BAC アレイを作製する基盤技術を整備し、②これらを用いたアレイ CGH 法 (コピー数異常解析) とならびにその応用法 (ゲノム機能異常解析) を、対象疾患ごとに体系的に遂行していくシステムを構築して、効率よく新規疾患関連遺伝子やその調節領域の異常の探索、ならびに新規症候群の同定と分子病態解明を推進するとともに、③実際の臨床診断ツールとなりうるゲノムアレイのデザインとその適応を確立することで個別化医療の推進に寄与し、④ゲノム解析の基盤技術・情報を提供し領域内外の他の研究技術との融合を図る。

本課題は、疾患関連遺伝子の探索・同定による疾患のシステム的理解と個別化医療の達成により、研究成果を社会へ還元できると共に、ゲノム解析の基盤技術を提供し当該領域の他の研究技術と組み合わせることさらに有用な応用法の開発に貢献できる可能性がある

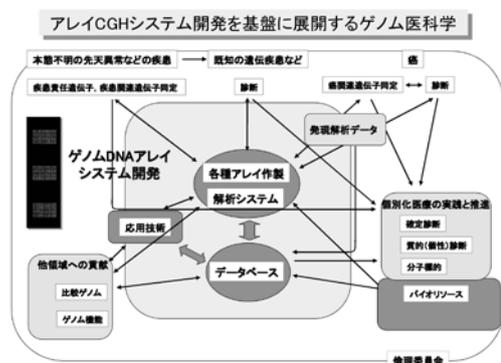
## <研究開始時の研究計画>

本課題では以下の項目について研究を行うことを計画した。

- ① 全ゲノムスクリーニング診断用アレイ、特定の染色体領域高密度アレイ、あるいは遺伝子・異常領域特異的フォーカスアレイなどの主に bacterial artificial chromosome (BAC) クローンを用いたアレイ各種実用ゲノムアレイを作製するための基盤技術ならびに BAC クローンなどのリソースの充実をはかり、実際にアレイを作製するとともに、これらを用いたアレイ CGH 法の開発・改良ならびに解析ソフトなどのシステム整備を行う。
- ② 本態不明の多発奇形・精神発達遅滞 (MCA/MR) を症状に持つ先天異常症や癌などの臨床検体あるいは細胞株を系統的に収集するシステムを構築し (情報ならびにバイオリソースのバンキングシステム)、これらの材料を対象にゲノムアレイ CGH 法を行うことで潜在的な異常領域の探索を行う。さらに、異常領域を指標に疾患関連遺伝子の同定を行う。
- ③ ゲノムアレイと Methylated CpG Island Amplification (MCA) 法と組み合わせたプロモーター領域のメチル化異常の解析や chromatin immunoprecipitation (ChIP) 法と組み合わせたプロモーター領域の結合蛋白 (複合体) 異常の検出などの応用法を確立し、②と同様に詳細に疾患発生に関わるゲノム異常の探索と異常の標的遺伝子の同定を行う。
- ④ ②、③で得られた結果を基盤に、疾患あるいは疾患群ごとにその病態に関わる遺伝子や領域からなる臨床検査レベルで使用可能なアレイを作製し、これを軸にした個別化医療システムを構築する。

本計画研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 13 年 3 月 29 日文科科学省・厚生労働省・経済産業省共同告示第 1 号) (平成 16 年 12 月 28 日全部改正) (平成 17 年 6 月 29 日一部改正)」が定める A 群ならびに B 群試料等に相当するヒト細胞を用いるため、「ヒトゲノム研究に関する基本原則」(科学技術会議生命倫理委員会) を十分理解し、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して実施するよう計画され

た。本研究で用いられるヒト試料は、東京医科歯科大学難治疾患研究所ならびに臨床施設において倫理審査委員会にて承認された手続きに基づき収集され、具体的には、臨床施設でインフォームドコンセントを取得され、匿名化処理が施された後、東京医科歯科大学・難治疾患研究所の細胞ならびに DNA バンクに供与され、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に用いられるため、個人情報漏洩することはないシステムが担保されている。



## <研究期間の成果>

### (1) ゲノムアレイ作製ならびに解析システム整備

BAC クローンを用いた自作ゲノムアレイ、すなわち、①ゲノムワイドなスクリーニング用高密度アレイ (MCG Whole Genome Array-4500)、② X 染色体全体をカバーする高密度アレイ (MCG X-tiling Array)、③ 遺伝疾患診断用アレイ (MCG Genome Disorder Array Ver. 1, Ver. 2, Ver.3)、④ 1p36 領域の高密度アレイ (MCG 1p36 Contig Array)、⑤ 癌関連遺伝子を中心にした遺伝子特異的な高精度アレイ (MCG Cancer Array-800)、⑥ Copy number variation (CNV) 領域 667 座位の検出用のアレイ (MCG Genome Variation Array) の設計、プローブ選択と FISH による位置確認、アレイの作製と改良、ならびに 1 コピーの変化の検出が可能であることなどの精度検定の確認を行い、試料解析に用いた。さらに、各アレイに対応した解析ソフトの開発、データ登録、データ更新を行った。

### MCGアレイ

1) Whole Genome Array-4500	- ヒト24 種類の染色体を 4523 BAC でカバー
2) Cancer Array-800	- 800種類の既知がん関連遺伝子を搭載
3) 1p36-Contig Array	- 1p36の約20Mbを 212 BAC で隙間なくカバー
4) X-tiling Array	- X染色体を1001個のBACで隙間なくカバー
5) Genome Disorder Array	- 各種染色体異常症を検出するための 561 BAC を搭載
6) Genome Variation Array	- 大きなサイズのゲノムコピー数多型の 667座位を検出

BAC アレイは、染色体解析技術を補完する診断法として臨床応用が期待されることから、これまで蓄積された解析結果ならびに国内外での解析情報を基盤により有用なスクリーニング用アレイ

イ（診断用ターゲットアレイ）の設計とクローン選択を進めた。実際に、遺伝疾患診断用アレイ (MCG Genome Disorder Array Ver.3) は、本課題に期間中に（2009年10月）、富士フィルム株式会社より商品化（先天異常症候群解析用DNAアレイ「GD-700」）され、これを用いた受託解析が株式会社ピーエムエルより開始されている（2009年9月28日 NEDO、富士フィルム、ピーエムエルよりプレスリリース）。

### Genome Disorder (GD)-Array は2009年10月 実用化供給



東京医科歯科大学・難治研で開発した 先天異常疾患診断用BACアレイ Genome Disorder (GD)-Array

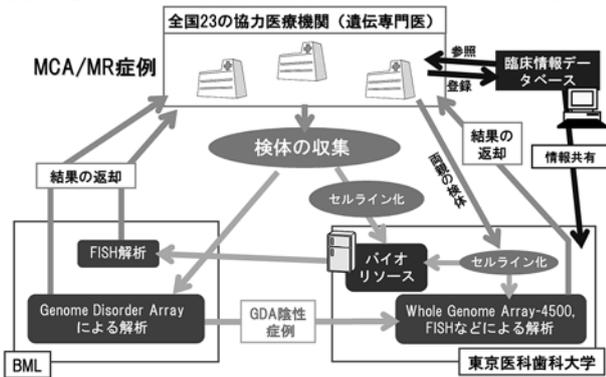


アレイCGHを診断法として活用するための解説書（平成20年3月）

### (2) ゲノムアレイを用いたヒト疾患ゲノムの一次構造異常解析

自作ゲノムアレイを中心に、本課題では特に先天異常症例（通常の染色体検査で異常の検出されないMCA/MR症例）を中心にヒト疾患における潜在的ゲノム一次構造異常・エピゲノム異常解析を行った。羽田支援班との協力のもとに組織した臨床遺伝コンソーシアム内で、MCA/MR症例について100例/年の計画で臨床情報ならびにDNAおよび不死化リンパ球の収集を重点的に展開し、2009年9月現在約550例と計画を上回る症例の登録を達成している。異常の検出された検体を中心に両親検体の登録も進めている。

### 実用化を目指した先天異常疾患解析のためのコンソーシアムの構築

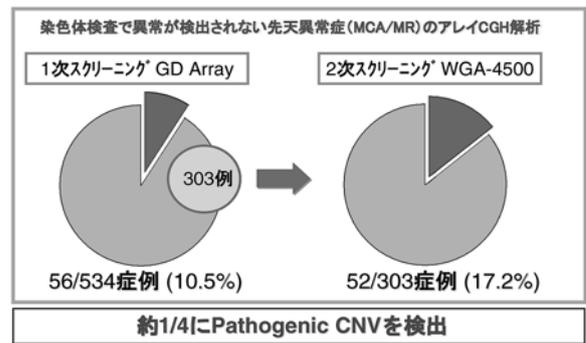


収集されたMCA/MR症例のうち、MCG Genome Disorder

### アレイCGH診断法実用化コンソーシアムの先生方

- |                        |                 |
|------------------------|-----------------|
| 旭川医科大学医学部 小児科          | 藤田秀男 先生         |
| 神奈川県立こども医療センター 遺伝科     | 黒澤健司 先生         |
| 千葉県こども病院 遺伝科           | 羽田 明 先生、石井拓磨 先生 |
| 大阪府立母子保健総合医療センター 企画調査部 | 岡本伸彦 先生         |
| 愛知県心身障害者コロニー中央病院 小児内科  | 水野誠司 先生         |
| 東京医科歯科大学医学部附属病院 小児科    | 荒木聡 先生、水谷修紀 先生  |
| 東京医科歯科大学病院 遺伝子診療室      | 沼部博直 先生         |
| 東京都立北豊育センター            | 沼部博直 先生         |
| 北海道大学病院 小児科            | 斎藤伸治 先生         |
| 信州大学医学部附属病院 遺伝子診療部     | 福岡隆光 先生、古庄知己 先生 |
| 熊本大学医学部附属病院 小児科        | 三浦浩 先生、遠藤文夫 先生  |
| 琉球大学医学部附属病院 小児科        | 知念安紹 先生         |
| 国立成育医療センター 遺伝診療科       | 小崎里華 先生         |
| 東京都立清瀬小児病院 遺伝科         | 大木寛生 先生         |
| 東京通信病院 小児科             | 小野正恵 先生         |
| 北里大学病院 臨床遺伝学           | 高田史男 先生         |
| 広島県立広島病院 小児科           | 小野浩明 先生         |
| 神戸大学医学部 小児科            | 八木真理子 先生        |
| 防衛医大 小児科               | 松本浩 先生          |
| 群馬県立小児医療センター           | 吉橋博史 先生         |
- （登録ID順）

### コンソーシアム症例解析のまとめ（2005年10月～2009年9月）



Array (GDアレイ)により結果の確定した534症例中56例(10%)に疾患の原因となる異常を検出した。このうち41例はサブテロメア異常であったが、このうち16例は2つの染色体にサブテロメア異常を認め、両親の一方に均衡型転座があることが示唆された。

### 1次スクリーニング陽性：56例の結果

単一染色体のサブテロメア領域	25例
二染色体のサブテロメア領域	16例
既知の疾患または遺伝子領域	13例
環状染色体うたがひ	1例
X染色体モザイク (XX/XXX)	1例
合計	56例

### 2次スクリーニング: pathogenic CNV 52例

既知の微細欠失症候群	5例	del(1)(q41q42) 1例
		del(1)(q43q44) 1例
		del(10)(p11.2) 3例
疾患関連遺伝子の指摘	3例	BMP4, CASK, YWHAE
疾患関連遺伝子候補の指摘	7例	MBO2, RELN etc.
新規症候群の可能性	2例	del(10)(q24q25)
男児のX染色体微細欠失	1例	Xp11.3
その他	34例	

更に、GDアレイ陰性症例のうち303例を対象に、これまでにMCG Whole Genome Array-4500 (WGA-4500)による二次解析を終了し、52例(17%)に病態と関連すると考えられる微細コピー数変化 (Pathogenic CNV, pCNV) を検出した。二次解析の症例数の増加により pCNV 候補の検出率は大きく変わらないことから、GD陰性例全例での解析を行うべく検討を継続し pCNV の検出に務めている。

### CGHアレイ検索症例臨床情報データベース

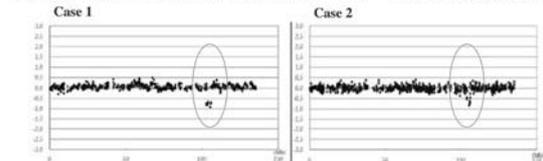


各症例の表現型・ゲノム異常情報に関して、羽田支援班、連携研究者の協力により構築したCGHアレイ検索症例臨床情報データベースへの情報登録、更新を進めて、また、アレイ解析で得られるコピー数多型情報をデータベース化した。

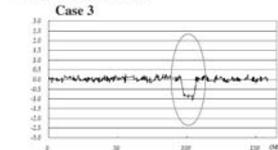
ゲノム構造・機能異常を指標に異常領域および領域内遺伝子の詳

### Whole Genome Array-4500

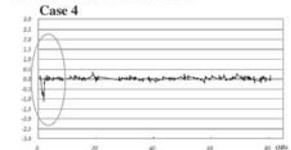
### ●血縁のない2例のMCA/MRIに検出する同一領域の微細欠失異常



### ●新規欠失異常



### ●新規微細欠失異常



細な解析を進め、新規の疾患原因/関連遺伝子や調節領域異常の同定を行い、得られた成果は順次報告した(成果公表リスト)。特に、収集した症例中、複数例で重複する箇所に異常が認められる症例や臨床病型が類似する症例については、コンソーシアム内での情報共有により追加症例の収集を行って、新規症候群の確立、genotype-phenotype correlation の検討などを行っている。

2008年に報告した小脳脳幹形成不全による小頭症を伴うMCA/MR 女児症例の原因遺伝子CASKは、その後臨床所見から全11例で詳細な解析を行い、ヘテロ欠失3例、点突然変異5例、エクソン内2塩基欠失1例、重複2例を検出し、全例にハプロ不全を生じる異常トランスクリプト発現または発現低下をきたすことを見出しており、女児に比較的多い特徴的な表現型を持つMCA/MR 症候群であることを確認した。CASK 異常症例における表現型は欠失範囲(巻き込まれる他の遺伝子の数)などによるバリエーションがなく、CASK 異常が表現型の決定に強い影響を持つことが確認された。

### CASK異常が疑われる症例の解析

背景: Xp11.4に座位するCASKの異常は、女児における小頭・小脳脳幹部低形成を伴う発達遅滞に關与する報告がなされている

対象: 発達遅滞・小頭・小脳脳幹部低形成を伴う女児11例



### 解析結果のまとめ

No.	結果	異常の箇所	転写産物への影響
1	ナンセンス変異	exon 2	終止コドンを生じる
2	ナンセンス変異	exon 4	終止コドンを生じる
3	ナンセンス変異	exon 27	終止コドンを生じる
4	2bpの欠失	exon 3	終止コドンを生じる
5	スプライシング領域の変異	intron 4	終止コドンを生じる
6	スプライシング領域の変異	intron 21	終止コドンを生じる
7	ヘテロ欠失		
8	ヘテロ欠失		
9	ヘテロ欠失		
10	中間部重複	exon 3-7	終止コドンを生じる
11	中間部重複		腕内逆位による

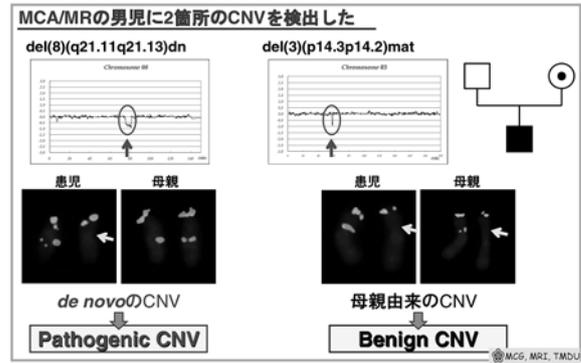
pCNVは、病態と無関係なCNV (benign CNV)を区別されることが、診断的にも病態関連遺伝子の同定のためにも重要である。現在、構造異常のデータベース(Database of Genomic Variants)や異常領域の大きさなど等を参考にするとともに、両親解析を行い異常がde novoで生じたものであるかどうかの確認を進めている。謙譲な両親から受け継がれbenign CNVと考えられるものは、データベース未登録のものも多く、日本人特異的あるいは比較的特異的なCNVが多く存在している可能性を示唆しており、CNVの発見と登録をトリオ解析とともに今後も行っていく必要がある。

### 2次スクリーニング: benign CNV 8例

del/dup	locus	サイズ (Mb)	異常クローン	遺伝子	データベースの登録
dup	3p26.3	0.17	RP11-6301	CNTN4	あり
dup	3p14.3p14.2	0.60	RP11-80H18, RP11-79J19	11 genes	部分的にあり
dup	5p14.3	0.17	RP11-91A5	CDH18	部分的にあり
dup	8p23.2	0.17	RP11-79I19, 45M12, 140K14	CSMD1	あり
dup	9q33.1	0.16	RP11-150L1	TLR4	なし
dup	10q22.3	0.16	RP11-79M9	C10orf11	なし
del	22q11.21	0.42	RP11-155F20, 590C5, 54C2	16 genes	部分的にあり
del	Xp11.23	0.19	RP11-876B24	ZNF630	あり

これまで報告されていなかったCNV

### Pathogenic CNVとbenign CNV



### (3) ゲノムアレイを用いた応用法の確立

BACアレイを基盤にコピー数異常の検出以外に解析を行う方法として、これまで(MCA)法と組み合わせたプロモーター領域のメチル化異常の解析法(BAC-array-based MCA, BAMCA法)を開発してきた。本方法は、BACアレイを用いるため分解能は低いものの、全ゲノムにおける俯瞰的なメチル化状態の評価が簡便に行えるなど利点も多く、各種癌の病態や進展に伴うDNAメチル化の変化や悪性度の予測などが行えることも明らかになっている(成果公表リスト)。また、癌におけるメチル化標的となる癌抑制遺伝子候補(NR1H2, PTGER2, CRABP1; 成果公表リスト)の同定とその機能解析にも有用であることが示された。

### <国内外での成果の位置づけ>

(1) BACを用いたゲノムアレイは、染色体解析を補完する診断法として臨床応用が期待される技術であり、病態に關与する異常を特異的に検出できる信頼性の高いクローン選択と信頼性・応用性の高い解析技術の自動化は、重要な技術的課題である。既に、本課題で確立した技術を基盤に、商用アレイとこれを用いた検査が国内で実用化されたことで、今後発展が期待される。ゲノム研究の面でも、BACアレイは大きいサイズのCNVの検出など、SNPアレイやオリゴアレイを補完する情報を得るツールとして重要である。



(2) 海外でも微細コピー数異常に起因する新規のMCA/MRを呈する症候群同定は多数報告されてきている。我々が検出している異常領域から同定した遺伝子異常は新規症候群として海外からも報告され、本課題でのアプローチが有効であることは実証されている。今後症例数の増加に加えて各症例の表現型を指標に、さらに新規症候群ならびに疾患遺伝子同定が見込まれる。

### <達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

期間内に、バイオリソースと臨床情報の収集と解析の遂行など予定の研究計画を達成し、目標としていた新規症候群の同定につながる異常も検出されている。

一方で、MCA/MR 症例では、両親の検体収集が、協力は得られやすいものの外来受診スケジュールなどの関係で遅れる傾向があり、de novoの確証が、CNV 検出症例の約半数にとどまったため、今後も収集の遂行が必要である。

### <今後の課題、展望>

臨床遺伝コンソーシアムならびにCGHアレイ検索症例臨床情報データベースは、微細染色体異常からの新規症候群同定への活用が期待されることから、症例数の拡大を図るべく参加施設のさらなる拡充を行いMCA/MR 症例の収集を進め、全例でより微細

なゲノムコピー数異常検出の推進ならびに異常検出症例の表現型の抽出による類似症例の収集を行う。共通の微細ゲノムコピー数異常が認められた症例について、疾患原因・関連遺伝子の同定を目指して、さらに詳細にコピー数、シーケンス、エピゲノム異常解析を進める。CNVの罹病性との関連についても考慮して、両親・同胞についての解析もさらに充実させる。

#### <研究期間の全成果公表リスト>

##### 論文/プロシーディング

1. 0910221703  
Komatsu S, Imoto I, Tsuda H, Kozaki KI, Muramatsu T, Shimada Y, Aiko S, Yoshizumi Y, Ichikawa D, Otsuji E, Inazawa J. Overexpression of SMYD2 relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of esophageal squamous-cell carcinoma. *Carcinogenesis* 30: 1139-46, 2009.
2. 0910221551  
Inoue J, Misawa A, Tanaka Y, Ichinose S, Sugino Y, Hosoi H, Sugimoto T, Imoto I, Inazawa J. Lysosomal-associated protein multispansing transmembrane 5 gene (LAPTM5) is associated with spontaneous regression of neuroblastomas. *PLoS One* 4: e7099, 2009.
3. 0910221739  
Arai E, Ushijima S, Gotoh M, Ojima H, Kosuge T, Hosoda F, Shibata T, Kondo T, Yokoi S, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Kanai Y. Genome-wide DNA methylation profiles in liver tissue at the precancerous stage and in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 125:2854-62, 2009.
4. 0910221711
5. 0910221652
6. 0910221644  
Begum A, Imoto I, Kozaki KI, Tsuda H, Suzuki E, Amagasa T, Inazawa J. Identification of PAK4 as a putative target gene for amplification within 19q13.12-q13.2 in oral squamous-cell carcinoma. *Cancer Sci* 100: 1908-16, 2009.
7. 0910221629
8. 0910221621  
Nishiyama N, Arai E, Chihara Y, Fujimoto H, Hosoda F, Shibata T, Kondo T, Tsukamoto T, Yokoi S, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Kanai Y. Genome-wide DNA methylation profiles in urothelial carcinomas and urothelia at the precancerous stage. *Cancer Sci* (in press)
9. 0910221612
10. 0903011553
11. 0903011545
12. 0903011539
13. 0901111352  
Arai E, Ushijima S, Fujimoto H, Hosoda F, Shibata T, Kondo T, Yokoi S, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Kanai Y. Genome-wide DNA methylation profiles in both precancerous conditions and clear cell renal cell carcinomas are correlated with malignant potential and patient outcome. *Carcinogenesis* 30: 214-21, 2009.
14. 0811102136
15. 0811102132
16. 0811102127
17. 0811102045  
Hayashi S, Okamoto N, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J. Heterozygous deletion at 14q22.1-q22.3 including the BMP4 gene in a patient with psychomotor retardation, congenital corneal opacity and feet polydactyly. *Am J Med Genet A* 146A: 2905-10, 2008
18. 0806061803  
Nakamura E, Kozaki KI, Tsuda H, Suzuki E, Pimkhaokham A, Yamamoto G, Irie T, Tachikawa T, Amagasa T, Inazawa J, Imoto I. Frequent silencing of a putative tumor suppressor gene melatonin receptor 1 A (MTNR1A) in oral squamous-cell carcinoma. *Cancer Sci* 99: 1390-400, 2008.
19. 0806061756  
Kikuchi R, Tsuda H, Kozaki K, Kanai Y, Kasamatsu T, Sengoku K, Hirohashi S, Inazawa J, Imoto I. Frequent inactivation of a putative tumor suppressor, angiopoietin-like protein 2, in ovarian cancer. *Cancer Res* 68: 5067-75, 2008
20. 0806061748  
Hayashi S, Mizuno S, Migita O, Okuyama T, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J. The CASK gene harbored in a deletion detected by array-CGH as a potential candidate for a gene causative of X-linked dominant mental retardation. *Am J Med Genet A* 146A: 2145-51, 2008.
21. 0806061744
22. 0806061737  
Arai E, Ushijima S, Tsuda H, Fujimoto H, Hosoda F, Shibata T, Kondo T, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Kanai Y. Genetic clustering of clear cell renal cell carcinoma based on array-CGH: Its association with DNA methylation alteration and patient outcome. *Clin Cancer Res* 14: 5531-9, 2008.
23. 0806061730  
Ishihara T, Tsuda H, Hotta A, Kozaki K, Yoshida A, Noh-Yoshimura J, Ito K, Imoto I, Inazawa J. ITCH is a putative target for a novel 20q11.22 amplification detected in anaplastic thyroid carcinoma cells by array-based comparative genomic hybridization. *Cancer Sci* 99: 1940-9, 2008.
24. 0801181247  
Suzuki A, Shibata T, Shimada Y, Murakami Y, Horii A, Shiratori K, Hirohashi S, Inazawa J, Imoto I. Identification of SMURF1 as a possible target for 7q21.3-22.1 amplification detected in a pancreatic cancer cell line by in-house array-based comparative genomic hybridization. *Cancer Sci* 99: 986-94, 2008.
25. 0801161842  
Udaka T, Imoto I, Aizu Y, Torii C, Izumi K, Kosaki R, Takahashi T, Hayashi S, Inazawa J, Kosaki K. Multiplex PCR/Liquid Chromatography Assay for Screening of Subtelomeric Rearrangements. *Genet Test* 11: 241-8, 2007.
26. 0801161836  
Katoh H, Ojima H, Kokubu A, Saito S, Kondo T, Kosuge T, Hosoda F, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Shibata T. Genetically distinct and clinically relevant classification of hepatocellular carcinoma: putative therapeutic targets *Gastroenterology* 133: 1475-86, 2007.
27. 0801161827  
Okamoto N, Kubota T, Nakamura Y, Murakami R, Nishikubo T, Tanaka I, Takahashi Y, Hayashi S, Imoto I, Inazawa J, Hosokai N, Kohsaka S, Uchino S. 22q13 microduplication in two patients with common clinical manifestations: A recognizable syndrome? *Am J Med Genet A* 143A: 2804-9, 2007.
28. 0710071500  
Kawanishi H, Takahashi T, Ito M, Matsui Y, Watanabe J, Ito N, Kamoto T, Kadowaki T, Tsujimoto G, Imoto I, Inazawa J, Nishiyama H, Ogawa O. Genetic analysis of multifocal superficial urothelial cancers by array-based comparative genomic hybridisation. *Br J Cancer* 97: 260-6, 2007.
29. 0710071448  
Zhao C, Inoue J, Imoto I, Otsuki T, Iida S, Ueda R, Inazawa J. POU2AF1, an amplification target at 11q23, promotes growth of multiple myeloma cells by directly regulating expression of a B-cell maturation factor, TNFRSF17. *Oncogene* 27: 63-75, 2008.
30. 0710071439  
Suzuki E, Imoto I, Pimkhaokham A, Nakagawa T, Kamata N,

- Kozaki KI, Amagasa T, Inazawa J. PRTFDC1, a possible tumor-suppressor gene, is frequently silenced in oral squamous-cell carcinomas by aberrant promoter hypermethylation. *Oncogene* 26: 7921-32, 2007.
31. 0710071433  
Kikuchi R, Tsuda H, Kanai Y, Kasamatsu T, Sengoku K, Hirohashi S, Inazawa J, Imoto I. Promoter hypermethylation contributes to frequent inactivation of a putative conditional tumor-suppressor gene connective tissue growth factor in ovarian cancer. *Cancer Res* 67: 7095-105, 2007.
32. 0704281532  
Tanaka K, Imoto I, Inoue J, Kozaki K, Tsuda H, Shimada Y, Aiko S, Yoshizumi Y, Iwai T, Kawano T, Inazawa J. Frequent methylation-associated silencing of a candidate tumor-suppressor, CRABP1, in esophageal squamous-cell carcinoma. *Oncogene* 26: 6456-68, 2007.
33. 0704281521  
Shinoda Y, Kozaki KI, Imoto I, Obara W, Tsuda H, Mizutani Y, Shuin T, Fujioka T, Miki T, Inazawa J. Association of KLK5 overexpression with invasiveness of urinary bladder carcinoma cells. *Cancer Sci* 98: 1078-86, 2007.
34. 0704281513  
Kawasaki T, Yokoi S, Tsuda H, Izumi H, Kozaki KI, Aida S, Ozeki Y, Yoshizawa Y, Imoto I, Inazawa J. BCL2L2 is a probable target for novel 14q11.2 amplification detected in a non-small cell lung cancer cell line. *Cancer Sci* 98: 1070-7, 2007.
35. 0704281503  
Sugino Y, Misawa A, Inoue J, Kitagawa M, Hosoi H, Sugimoto T, Imoto I, Inazawa J. Epigenetic silencing of prostaglandin E receptor 2 (PTGER2) is associated with progression of neuroblastomas. *Oncogene* 26: 7401-13, 2007.
36. 0702031619  
Hayashi S, Honda S, Minaguchi M, Makita Y, Okamoto N, Kosaki R, Okuyama T, Imoto I, Mizutani S, Inazawa J. Construction of a high-density and high-resolution human chromosome X array for comparative genomic hybridization analysis. *J Hum Genet* 52: 397-405, 2007.
37. 0702031610  
Hayashi S, Ono M, Makita Y, Imoto I, Mizutani S, Inazawa J. Fortuitous Detection of a Submicroscopic Deletion at 1q25 in a girl with Cornelia-de Lange syndrome carrying t(5;13)(p13.1;q12.1) by array-based comparative genomic hybridization. *Am J Med Genet* 143A: 1191-7, 2007.
38. 0702031554  
Yu W, Imoto I, Inoue J, Onda M, Emi M, Inazawa J. A novel amplification target, DUSP26, promotes anaplastic thyroid cancer cell growth by inhibiting p38 MAPK activity. *Oncogene* 26: 1178-87, 2007.
39. 0702031544  
Saigusa K, Imoto I, Tanikawa C, Aoyagi M, Ohno K, Nakamura Y, Inazawa J. RGC32, a novel p53-inducible gene, is located on centrosomes during mitosis and results in G2/M arrest. *Oncogene* 26: 1110-21, 2007.
40. 0702031537  
Honda S, Hayashi S, Kato M, Niida I, Okuyama T, Imoto I, Mizutani S, Inazawa J. Clinical and molecular cytogenetic characterization of two patients with non-mutational aberrations of the FMR2 gene. *Am J Med Genet* 143A: 687-93, 2007.
41. 0701161931  
Takada H, Imoto I, Tsuda H, Nakanishi Y, Sakakura C, Mitsufuji S, Hirohashi S, Inazawa J. Genomic loss and epigenetic silencing of very-low-density lipoprotein receptor involved in gastric carcinogenesis. *Oncogene*. 25: 6554-62,2006
42. 0701161922
43. 0701161911
44. 0607301619  
Nishioka K, Hayashi S, Farrer MJ, Singleton AB, Yoshino H, Imai H, Kitami T, Sato K, Kuroda R, Tomiyama H, Mizoguchi K, Murata M, Toda T, Imoto I, Inazawa J, Mizuno Y, Hattori N. Clinical heterogeneity of alpha-synuclein gene duplication in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 59: 298-309, 2006.
45. 0607301602  
Imoto I, Izumi H, Yokoi S, Hosoda H, Shibata T, Hosoda F, Hirohashi S, Inazawa J. Frequent silencing of the candidate tumor-suppressor PCDH20 by epigenetic mechanism in non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 66: 4617-26, 2006.
46. 0601232334  
Takada H, Imoto I, Tsuda H, Nakanishi Y, Ichikura T, Mochizuki H, Mitsufuji S, Hosoda F, Hirohashi S, Ohki M, Inazawa J. ADAM23, a possible tumor suppressor gene, is frequently silenced in gastric cancers by homozygous deletion or aberrant promoter hypermethylation. *Oncogene* 24: 8051-60, 2005.
47. 0601232330  
Tanami H, Tsuda H, Okabe S, Iwai T, Sugihara K, Imoto I, Inazawa J. Involvement of cyclin D3 in liver metastasis of colorectal cancer, revealed by genome-wide copy-number analysis. *Lab Invest* 85: 1118-29, 2005.
48. 0601232323
49. 0601232318  
Misawa A, Inoue J, Sugino Y, Hosoi H, Sugimoto T, Hosoda F, Ohki M, Imoto I, Inazawa J. Methylation-associated silencing of the nuclear receptor 1I2 gene (NR1I2) in advanced-type neuroblastomas, identified by bacterial artificial chromosome array-based methylated CpG island amplification. *Cancer Res* 65: 10233-42, 2005.
50. 0601232312  
Hayashi S, Kurosawa K, Imoto I, Mizutani S, Inazawa J. Detection of cryptic chromosome aberrations in a patient with a balanced t(1;9)(p34.2;p24) by array-based comparative genomic hybridization. *Am J Med Genet* 139A: 32-6, 2005.
51. 0601222324  
Takada H, Imoto I, Tsuda H, Nakanishi Y, Ichikura T, Mochizuki H, Mitsufuji S, Hosoda F, Hirohashi S, Ohki M, Inazawa J. ADAM23, a possible tumor suppressor gene, is frequently silenced in gastric cancers by homozygous deletion or aberrant promoter hypermethylation. *Oncogene* 24: 8051-60, 2005.
52. 0601222319  
Izumi H, Inoue J, Yokoi S, Hosoda H, Shibata T, Sunamori M, Hirohashi S, Inazawa J, Imoto I. Frequent silencing of DBC1 is by genetic or epigenetic mechanisms in non-small cell lung cancers. *Hum Mol Genet* 14: 1-11, 2005.

データベース／ソフトウェア

1. アレイ CGH に関する情報

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子細胞遺伝 CGH データベース (<http://www.cgthmd.jp/cghdatabase/index.html>)