

---



---

原 著

---



---

## 神経膠腫における PTTG1 (Pituitary Tumor Transforming Gene - 1) 発現の検討

源甲斐 信 行

新潟大学医歯学総合研究科分子細胞医学専攻

脳神経外科学分野

(主任：田中 隆一教授)

### Increased Expression of PTTG1 (Pituitary Tumor Transforming Gene - 1) Correlates with the Prognosis of Patients with Glioma

Nobuyuki GENKAI

*Division of Neurosurgery, Department of Molecular and Cellular Medicine,*

*Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

*(Chief: Prof. Ryuichi TANAKA)*

#### 要 旨

Pituitary Tumor Transforming Gene (PTTG) -1は proto-oncogene で、細胞周期の M 期中期から後期への進行を調節している転写制御因子であり、主に細胞の分化、増殖において重要な役割を担っている。PTTG はこれまでに 3 種類のファミリーが同定され、組織特異的な発現パターンが認められている。最近では乳癌、大腸癌、卵巣癌、甲状腺癌の悪性化と PTTG1 の高発現の関係が報告されている。著者らは、神経膠腫における PTTG1 の発現と組織学的悪性度や予後との関係を明らかにする目的で、神経膠腫摘出組織 (44 例：WHO grade II 9, III 9, IV 26) および 3 種類の神経膠腫細胞株を用いて検討した。その結果、(1) 免疫組織化学染色では、PTTG1 は多くの細胞核にその染色性が認められ、核の染色強度および免疫組織化学染色スコア (核の染色強度×陽性率) と組織学的悪性度の相関を評価した結果、組織学的悪性度の高いものほど濃染される傾向が認められた。また、悪性神経膠腫 (grade III および IV) については、免疫組織化学染色スコアの高い群と低い群を比較したところ、免疫組織化学染色スコアが高い群において生存期間が短い傾向が認められた。(2) PTTG1 は、悪性神経膠腫細胞株において mRNA レベルおよびタンパクレベルでの発現が確認された。PTTG1siRNA を用いた silencing により神経膠腫細胞株の PTTG1mRNA の発現は抑制され、細胞増殖能および細胞浸潤能は抑制された。

Reprint requests to: Nobuyuki GENKAI  
Department of Neurosurgery  
Brain Research Institute Niigata University  
1-757 Asahimachi-dori,  
Niigata 951-8585 Japan

別刷請求先： 〒951-8585 新潟市旭町通り 1-757  
新潟大学脳研究所脳神経外科学教室 源甲斐信行

PTTG1は、悪性度の高い神経膠腫において発現の亢進がみられ、神経膠腫の悪性化における寄与が示唆され、予後を予測するマーカーとしての有用性が示された。また細胞生物学的解析によりPTTG1は悪性神経膠腫細胞の増殖能、浸潤能への関与が示唆された。

キーワード：Glioma, PTTG-1, SiRNA, RT-PCR

## はじめに

神経膠芽腫は極めて予後不良な悪性脳腫瘍であり、近年の著しい診断、治療の技術的進歩にもかかわらず、その予後は殆ど改善されていない<sup>1)–3)</sup>。これは、悪性神経膠腫の早期発見の難しさと高い再発率のもとより、悪性神経膠腫に対する信頼性のある腫瘍マーカーや分子標的がいまだ存在しないことにも起因している。

Pituitary Tumor Transforming Gene (PTTG)はproto-oncogeneであり、正常組織の発達、細胞の増殖、分化において重要な役割をはたしている<sup>4)5)</sup>。PTTGは細胞周期のM期中期から後期に作用する転写制御因子であり、生体内では、早期の染色体分離を防止する為の細胞分裂阻害因子として機能している。PTTGは、ユビキチンリガーゼであるAnaphase Promoting Complex (APC)とCdc20の複合体によりユビキチン化されると、プロテアソームにより分解される。PTTGが分解を受けて姉妹染色体分離抑制が解除されると、M期中期から後期への進行が行なわれる<sup>6)</sup>。PTTGは、これまでに1–3の3種類のファミリーが同定されており<sup>7)</sup>、PTTG1は5番染色体長腕に存在し、203からなるアミノ酸をエンコードしている。正常成人では、精巣と胸腺を除いてPTTG1は低値もしくは測定出来ない。また、細胞周期依存性で、G1/S期に最も低値を示しS期に次第に増加、G2/M期にピークを迎える。PTTG1の発現は成長因子やホルモン、サイトカイン等の影響を受け、組織特異的な発現パターンが認められているが、その発現にかかる機序は明らかではない<sup>7)–10)</sup>。最近ではbasic fibroblast growth factor (bFGF)やvascular endothelial growth factor (VEGF)の発現誘導への関与が報告されている<sup>11)12)</sup>。bFGFやVEGFは脈管形成に関連した増殖因子であり、悪性神経膠腫における血管増生へ

の関与が指摘されている。それゆえPTTG1のこれら増殖因子を介した悪性化への関与が想定される。他臓器の固形腫瘍においても、乳癌<sup>13)</sup>、卵巣癌<sup>14)</sup>、大腸癌<sup>15)</sup>、甲状腺癌<sup>16)17)</sup>においてPTTG1の発現亢進が報告されている。当研究では神経膠腫におけるPTTG1の発現を調べ、組織学的悪性度や予後との相関について検討した。

## 材料と方法

### 細胞培養

神経膠腫細胞株(U251, T98G, ON12)は10% heat inactivated fetal bovine serum 添加 Eagle's minimum essential medium (Nissui Pharmaceutical Inc., Tokyo, Japan)を用い、37℃、5% CO<sub>2</sub> インキュベーターで培養した。

### 検討対象と試料

新潟大学脳研究所脳神経外科にて手術摘出された神経膠腫44例(WHO grade II: 9例, III: 9例, IV: 26例, 平均年齢48歳)を対象とした(表1)。高悪性度のものは術後、放射線治療(腫瘍局所40Gy, 全脳照射20Gy)ならびにニトロソウレアを中心とした化学療法を施行した。生存期間は診断確定日より患者の死亡日、もしくは最終受診日とした。組織診断はWHO脳腫瘍組織分類<sup>18)</sup>に基づいて行った。当研究は新潟大学倫理委員会の規定に則り、全ての対象患者からインフォームドコンセントを得ている。

### タンパク抽出

細胞ペレットからのタンパク抽出は、これらを氷上にてRIPA buffer [50mM Tris-HCl (pH7.4), 1% Nonidet P-40, 0.25% desoxycholate, 150mM NaCl, 1mM EGTA, 0.2% sodium dodecyl sulfate (SDS), 1mM NaVO<sub>3</sub>, 1mM NaF, 1mM

表 1 対象症例

組織診断	症例数	性別	年齢
Astrocytoma	9例	男性7/女性2	40.7±16.2
Anaplastic astrocytoma	9例	男性4/女性5	39.6±15.3
Glioblastoma	26例	男性17/女性9	53.0±17.6
合計	44例	男性28/女性16	48.0±18.0

Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 10mM Okadaic acid, 1μg/ml benzamide, 1μg/ml aprotinin (All Sigma, Tokyo, Japan) 中にホモジナイズし, 15分間室温に静置した後, 4℃, 15000回転, 30分間遠心し上澄を採取, -80℃保存したものを使用した。

#### ウェスタンブロット解析

抽出したタンパク溶液に 2-mercaptoethanol を含む sample buffer を添加し, 5-20% SDS-PAGE を用いて電気泳動を行い, ニトロセルロースメンブレン (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) に転写した。これを 5% skim milk を加えた Tris-buffered saline でブロッキングした後, 一次抗体として抗 PTTG1 抗体 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) を反応させた。二次抗体に horseradish peroxidase 標識抗ヤギ IgG 抗体を用い, 検出は enhanced chemiluminescence (ECL) 法 (ECL plus, Amersham, Tokyo) によって行った。

#### 免疫組織化学染色

対象のホルマリン固定, パラフィン包埋組織について検討を行った。5ミクロン切片を作成し, 脱パラフィン化の後に 10mM sodium citrate (pH 6.0) 中にて 121℃, 10分間加温した。0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> にて内因性ペルオキシダーゼ活性の阻害を行った。10% goat serum にてブロッキング後, 抗 PTTG1 ヤギ polyclonal 抗体 (1:20; Santa Cruz Biotechnology) と 4℃ 12時間反応させた。洗浄後 Avidin-biotin-peroxidase system (Vectastain elite ABC kit, Vector Labs, Burlingame, CA) を反応させ, 0.01% 3, 3'-diaminobenzidine (DAB)

(Sigma) と PBS 0.01% hydrogen peroxide にて発色させた。

#### RNA silencing による RNA 分離と定量 PCR

ヒト PTTG1 に対する特異的な siRNA は Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA) より購入した。Non-silencing control を含めたこれらトランスフェクションには RNAi Human/Mouse Control Kit (Qiagen, Tokyo) を用い, プロトコールに従って実験を行った。細胞株を 6 ウェルプレートに培養し 80% コンフルートに達した時点で培地を交換し, siRNA 100nM/100μl を混和, トランスフェクションさせた。24時間の培養後, RNA は Isogen (Nippongene, Toyama, Japan) を用いて抽出した。First strand cDNA は試料から得られた mRNA から, oligo (dT) プライマー, reverse transcriptase (Super Script II RNase H, Life Technologies, Grand Island, NY) を用いて作成した。定量 PCR は Light Cycler (Idaho Technology, Salt Lake City, UT) による real-time PCR で行った。PCR 試薬の組成は 1× LightCycler DNA Master SYBR Green I (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany), 各プライマー 0.5μM, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 2μl cDNA template にて行った。PCR は 95℃ 10分間で denature 後, 95℃ 15秒, 55℃ 5秒, 72℃ 10秒の各サイクルを 40サイクル行った。352bp の反応産物は post-PCR melting cycle を経て各サイクルで蛍光強度を測定した。標準化曲線は人肝細胞 cDNA (Clontech, Mountain View, CA) から得られた PTTG1 cDNA の一連の段階的 3倍希釈溶液により作成した。PCR 増幅の為にプライマーの塩基配

列は以下の通りである. PTTG1 sense, 5'-AGTTTCAACACCACGTTTTGGC-3'; PTTG1 anti-sense, 5'-GCTTTTCAAGCTCTCTCCTCG-3'. また, ヒト PTTG に対する siRNA の塩基配列は以下の通りである. PTTG1.1 sense, 5'-GAUCUCAAGUUUCAACACctt-3'; PTTG1.1 antisense, 5'-GGUGUUGAAACUUGAGAUCtc-3'; PTTG1.2 sense, 5'-GUCUGUAAAGACCAAGG Gatt-3'; PTTG1.2 antisense, 5'-UCCCUUGGUCUUACAGACtt-3'<sup>19)</sup>.

### RNA silencing による細胞増殖アッセイ

細胞株を 96 ウェルプレート (100  $\mu$ l/well) に培養し 80% コンプレントに達した時点で培地を交換 (75  $\mu$ l/well) し, siRNA 100nM/25  $\mu$ l を混和, トランスフェクションさせた. 48 時間の培養後, Tetra color one (Seikagaku CO., Tokyo) を用いて発色し, MTT アッセイにより viability を評価した. これらの値は non-silencing siRNA による negative control と比較検討した. 全て増殖試験は 3 回以上行い, 結果は平均土標準偏差で表現した.

### マトリゲルによる細胞浸潤アッセイ

細胞浸潤アッセイには Matrigel (Becton-Dickinson, Tokyo) を購入し, プロトコールに従って実験を行った. 神経膠腫細胞株 (U251) は前述のごとくコントロールを含めて siRNA トランスフェクションを行い 24 時間後, cell dissociation solution (Sigma) に浮遊させ, 洗浄後使用した. MEM10% FBS を満たした well (24well プレート) にマトリゲルチャンバー (底面がマトリゲルで被膜された 8  $\mu$ m 多孔膜よりなる) を静置して充分水和させた後, チャンバーに細胞を播き, 24 時間培養した. マトリゲルチャンバー内の細胞を拭き除去し, 浸潤して多孔膜裏面に浸潤付着した細胞を Gimsa 染色液にて染色し, 顕微鏡 200 倍で 10 視野の細胞数を評価した. 結果は control との比率で表し, 平均土標準偏差で表現した.

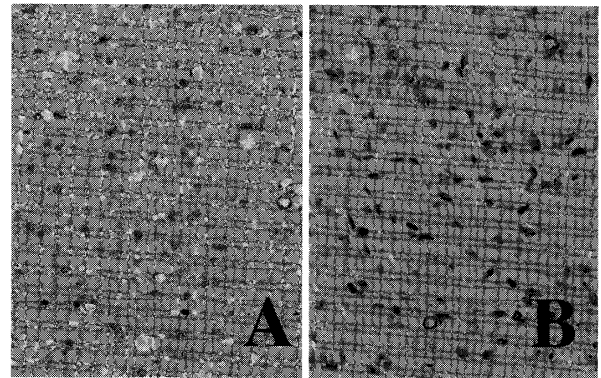


図1 PTTG1 の免疫組織化学染色

Astrocytoma (A) 及び glioblastoma (B). PTTG1 タンパクは細胞核内にその染色性が認められ, 組織学的悪性度の高いものほど強染色される傾向を示した. 拡大率は  $\times 200$ .

### 統計学的解析

神経膠腫の各グループ間における PTTG1 の発現は Mann-Whitney U test にて評価し,  $p < 0.05$  を統計学的に有意と判定した. 生存曲線は Kaplan-Meier 法にて表現し, 2 群間の検定には Log-rank test で評価した.

### 結 果

#### グリオーマ組織における PTTG1 発現の免疫組織化学的検討

組織における PTTG1 の局在を調べる為に免疫組織化学染色を行った. 図 1 に示すように PTTG1 は多くの細胞核で症例によって様々な程度に染色された. 染色強度に基づいて分類 (0: none, 1: weak, 2: moderate, 3: strong) して組織学的悪性度との相関を検討した. その結果, 組織学的悪性度の高いものほど濃染される傾向が認められた (表 2). また, 染色強度および染色陽性核の比率に基づいてスコア化 [染色強度 (0: none, 1: weak, 2: moderate, 3: strong)  $\times$  染色陽性核の比率 (%)] して組織学的悪性度との相関を検討した所, 組織学的悪性度の高いものほど免疫組織化学染色スコアが高い傾向が認められた (表 3). 更に, 悪性神経膠腫 (WHO grade III および grade

表 2 免疫組織化学染色による核の染色強度と病理学的悪性度との相関

	0:none	1:weak	2:moderate	3:strong
Astrocytoma	0	5	4	0
Anaplastic astrocytoma	1	3	5	0
Glioblastoma	0	8	16	2

\*  $P < 0.05$ 

表 3 免疫組織化学染色による染色スコアと病理学的悪性度との相関

	0~1	1~2	2~3	平均±標準偏差
Astrocytoma	6	3	0	0.65±0.56
Anaplastic astrocytoma	5	4	0	0.81±0.66
Glioblastoma	11	14	1	1.17±0.64

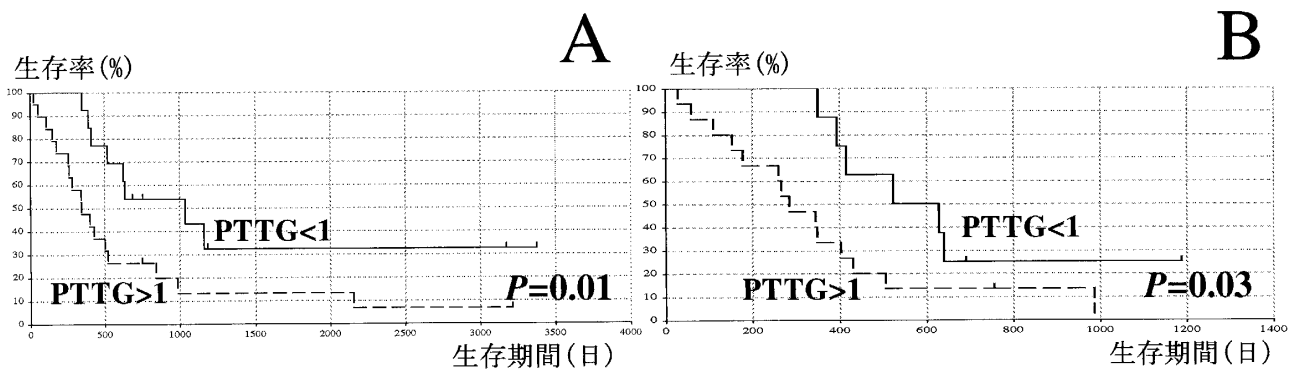
\*\*  $P < 0.05$ 

図 2 悪性神経膠腫症例における PTTG1 免疫組織化学染色スコアと生存期間の相関

grade III + grade IV (A) および grade IV (B) において、PTTG1 の免疫組織化学染色スコアの低い群 (免疫組織化学染色スコア < 1) と高い群 (免疫組織化学染色スコア > 1) に分類して生存率との相関を検討した。(A), (B) いずれにおいても、免疫組織化学染色スコアの低い群で生存率が短い傾向が認められた。(A:  $p = 0.01$ , B:  $p = 0.03$ , Logrank test).

IV) の症例については、免疫組織化学染色スコアと生存率の関係を検討したところ、免疫組織化学染色スコアの低いものほど生存期間が短かった (図 2A, B).

(図 3).

#### PTTGsiRNA による神経膠腫細胞株 (U251) の PTTGmRNA 発現抑制

PTTG1 蛋白の過剰発現はこれまでの検討から神経膠腫の生物学的悪性度を反映していたと考えられる。そこで、PTTG1 に特異的な siRNA を導入することにより、内因性の PTTG1 を mRNA レベルで抑制することができるかを検討するため、リアルタイム PCR を用いて定量した。PTTG1 に

#### 培養細胞株における PTTG1 タンパクの発現

悪性神経膠腫細胞株 (U251, T98G, ON12) における PTTG1 タンパクの発現をウェスタンブロット法にて検討を行った。U251, T98G, ON12 において 28kDa の PTTG1 蛋白の発現が認められた

特異的な siRNA を導入し, mRNA を down regulate することで PTTG1 mRNA の発現は 70 % 程度の抑制効果が認められた ( $p = 0.0238$ , Mann-Whitney U test) (図 4A).

### PTTG1 siRNA による神経膠腫細胞株 (U251) の増殖能と浸潤能の抑制

前述の結果より, PTTG1 に特異的な siRNA を導入することで, PTTG1 mRNA の発現は著明な抑制を受けた. 今度は, 内因性の PTTG1 を mRNA

レベルで抑制することにより神経膠腫細胞株の増殖能や浸潤能を抑制することができるかどうかを検討した. PTTG1 siRNA 導入により, 神経膠腫細胞株の細胞増殖試験では, 40 % 程度の増殖抑制効果が見られた ( $p = 0.0238$ , Mann-Whitney U test) (図 4B). また同様に, マトリゲルマトリックスに対する細胞浸潤能を検討した所, control siRNA では全く影響がなかったが, PTTG1 siRNA 導入では 70 % 程度の著しい浸潤抑制効果が認められた ( $p = 0.018$ , Mann-Whitney U test) (図 4C).

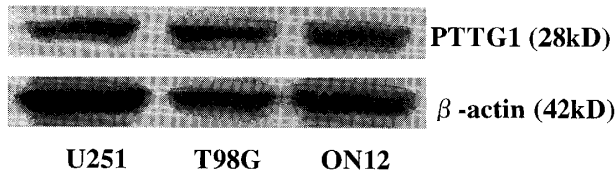


図 3 神経膠腫細胞株における抗 PTTG1 抗体を用いたウェスタンブロット法  
U251, T98G, ON12 において PTTG タンパク (28kDa) の発現が認められた.

## 考 察

神経膠腫は原発性脳腫瘍の中で最も頻度の高い腫瘍であり, また悪性神経膠腫は最も予後不良な悪性腫瘍の一つである. 最も悪性度の高い神経膠芽腫では生存期間中央値は 9 ~ 14.6 ヶ月にすぎない<sup>1) - 3)</sup>. 近年の腫瘍生物学や手術, 放射線化学療法の進歩にも拘わらず, 生存期間の延長は殆

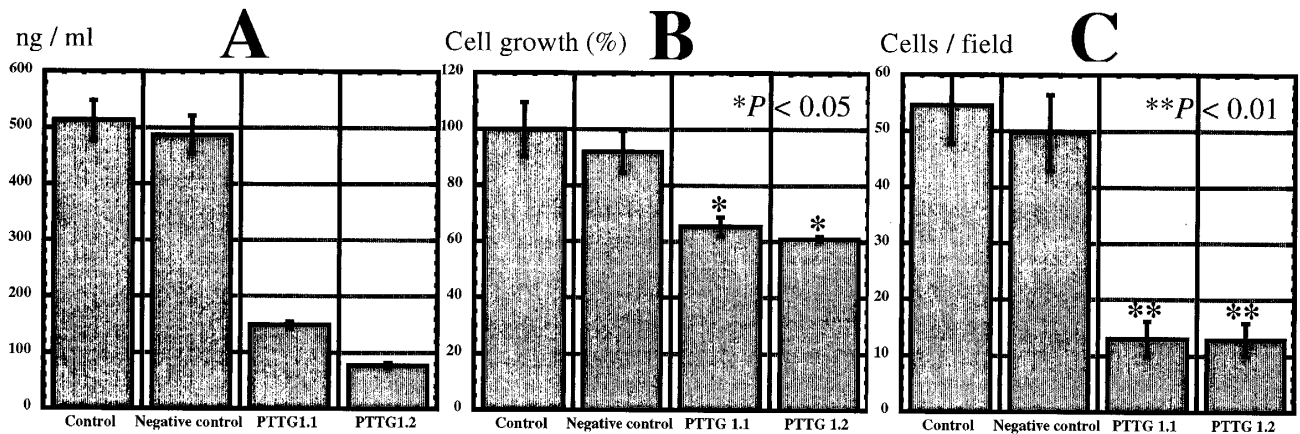


図 4

(A) RT-PCR による PTTG1 mRNA 発現抑制の定量

神経膠腫細胞株において, PTTG1 に特異的な siRNA を導入し, mRNA を down regulate することで PTTG1 mRNA の発現は 70 % 程度の抑制効果が見られた ( $p = 0.0238$ , Mann-Whitney U test).

(B) PTTG1 gene silencing 下における細胞増殖試験

Non-silencing siRNA (negative control) 群と比べて PTTG1 siRNA を transfection させた群で 40 % 程度の細胞増殖能の低下傾向がみられた ( $p = 0.0238$ , Mann-Whitney U test).

(C) PTTG1 gene silencing 下におけるマトリゲルマトリックスに対する細胞浸潤能試験

Non-silencing siRNA (negative control) 群と比べて PTTG1 siRNA を transfection させた群で 70 % 程度の細胞浸潤能の低下が認められた ( $p = 0.018$ , Mann-Whitney U test).

ど認められない<sup>20)</sup>。それゆえ新たな診断、治療法に結びつくような新しい分子標的の発見等、腫瘍生物学的な解析が必要である。

PTTG1の発現亢進は、多くの cell line や悪性腫瘍で認められ、大腸癌ではリンパ節転移<sup>12)15)</sup>、乳癌では腫瘍再発のマーカーとしての有用性が報告されている<sup>13)</sup>。PTTG1が細胞トランスフォーメーションや腫瘍形成に影響を及ぼす機序は明らかではないが、腫瘍増殖における PTTG1 の役割を説明する報告がある。

神経膠腫細胞のサイトカイン、増殖因子産生は炎症反応や血管増生など悪性神経膠腫の臨床像に関与していると考えられており<sup>21)</sup>、悪性神経膠腫においては basic fibroblast growth factors (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) 等の増殖因子が産生される。これらは、PTTG1によって誘導されている事が知られているが<sup>11)12)</sup>、bFGF や VEGF は血管形成性増殖因子であり、悪性神経膠腫における病期の進行に寄与する血管増生の原因の一つではないかと言うものである<sup>11)12)</sup>。

また、*c-myc* が PTTG1 の作用する下流のターゲットではないかという報告がある。PTTG1 は、*c-myc* の promoter 領域の近傍に存在する transcription initiation site に結合して、*c-myc* を活性化する<sup>22)</sup>。*c-myc* の過剰発現により、結果的に細胞増殖が高まるということは、細胞増殖の調節における PTTG1 の役割を支持する所見である。当研究において PTTG1 の発現と腫瘍細胞の増殖能、及び浸潤能との関連が示され、神経膠腫の悪性化への関与が示唆された。PTTG1 は、タンパクや mRNA の発現亢進によって腫瘍発生に寄与している可能性があると考えられる。

当研究の結果より神経膠腫の増殖と浸潤において PTTG1 が潜在的に関与している可能性が示された。PTTG1 は新しい分子標的として、又、予後を予測するマーカーとしての有用性が考えられた。

#### 謝 辞

稿を終えるにあたり、御校閲をいただきました新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞医学専攻脳神経外

科学分野 田中隆一教授、ならびに研究全般にわたりご指導いただきました新潟大学脳研究所脳神経外科 山中龍也先生に御深謝致します。また、本研究に多くのご協力をいただきました木山信子技官、樋口文恵技官をはじめ教室の皆様にご礼申し上げます。

#### 参 考 文 献

- 1) Karpch MS, Kelsen DP and Tepper JE: Cancer of the Stomach. In: Cancer, principles & practice of oncology. 6th ed. Devita VT Jr (ed) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp1092 - 1121, 2001.
- 2) Stewart LA: Chemotherapy in adult high - grade glioma: a systematic review and meta - analysis of individual patient data from 12 randomized trials. *Lancet* 359: 1011 - 1018, 2002.
- 3) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E and Mirimanoff RO: European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352: 987 - 996, 2005.
- 4) Zou H, McGarry TJ, Bernal T and Kirschner MW: Identification of a vertebrate sister - chromatid separation inhibitor involved in transformation and tumorigenesis. *Science* 285: 418, 1999.
- 5) Jallepalli PV, Waizenegger IC, Bunz F, Langer S, Speicher MR, Peters JM, Kinzler KW, Vogelstein B and Lengauer C: Securin is required for chromosomal stability in human cells. *Cell* 105: 445, 2001.
- 6) Wasch R and Engelbert D: Anaphase - promoting complex - dependent proteolysis of cell cycle regulators and genomic instability of cancer cells. *Oncogene* 24: 1 - 10, 2005. Review.
- 7) Chen L, Puri R, Lefkowitz EJ and Kakar SS: Identification of the human pituitary tumor

- transforming gene (hPTTG) family: molecular structure, expression and chromosomal location. *Gene* 248: 41 - 50, 2000.
- 8) Zhang X, Horwitz GA, Heaney AP, Nakashima M, Prezant TR and Bronstein MD: Melmed S Structure, expression, and function of human pituitary tumor-transforming gene (PTTG). *Mol Endocrinol* 13: 156 - 166, 1999.
  - 9) Prezant TP, Kadioglu P and Melmed S: An intronless homolog of human proto-oncogene hPTTG is expressed in pituitary tumors: evidence for hPTTG family. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 1149 - 1152, 2000.
  - 10) Yu R, Ren SG, Horwitz GA, Wang Z and Melmed S: Pituitary tumor transforming gene (PTTG) regulates placental JEG-3 cell division and survival: evidence from live cell imaging. *Mol Endocrinol* 14, 1137 - 1146, 2000.
  - 11) Ishikawa H, Heaney AP, Yu R, Horwitz GA and Melmed S: Human pituitary tumor transforming gene induces angiogenesis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86: 867 - 874, 2001.
  - 12) Takahashi Y, Kitadi Y, Bucana CD, Cleary KR and Ellis LM: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res* 55: 3964 - 3968, 1995.
  - 13) Solbach C, Roller M, Fellbaum C, Nicoletti M and Kaufmann M: PTTG mRNA expression in primary breast cancer: a prognostic marker for lymph node invasion and tumor recurrence. *Breast* 13: 80 - 81, 2004.
  - 14) Puri R, Tousson A, Chen L and Kakar SS: Molecular cloning of pituitary tumor transforming gene 1 from ovarian tumors and its expression in tumors. *Cancer Lett* 163: 131 - 139, 2001.
  - 15) Heaney AP, Singson R, McCabe CJ, Nelson V, Nakashima M and Melmed S: Expression of pituitary-tumour transforming gene in colorectal tumours. *Lancet* 355: 716 - 719, 2000.
  - 16) Heaney AP, Nelson V, Fernando M and Horwitz G: Transforming events in thyroid tumorigenesis and their association with follicular lesions. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5025 - 5032, 2001.
  - 17) Boelaert K, McCabe CJ, Tannahill LA, Gittos NJ, Holder RL, Watkinson JC, Bradwell AR, Sheppard MC and Franklyn JA: Pituitary tumor transforming gene and fibroblast growth factor-2 expression: potential prognostic indication in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 2341 - 2347, 2003.
  - 18) Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC and Cavenee WK: The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 61: 215 - 225, 2002.
  - 19) Tfelt-Hansen J, Yano S, Bandyopadhyay S, Carroll R, Brown EM and Chattopadhyay N: Expression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) and its binding protein in human astrocytes and astrocytoma cells: function and regulation of PTTG in U87 astrocytoma cells. *Endocrinol* 145: 4222 - 4231, 2004.
  - 20) Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, Rowitch DH, Louis DN, Cavenee WK and DePinho RA: Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. *Genes Dev* 15: 1311 - 1333, 2001.
  - 21) Yamanaka R, Tanaka R, Saitoh T and Okoshi S: Cytokine gene expression on glioma cell lines and specimens. *J Neurooncol* 21: 243 - 247, 1994.
  - 22) Pei L: Identification of c-myc as a Down-stream Target for Pituitary Tumor-transforming Gene. *J Biol Chem* 276: 8484 - 8491, 2001.

(平成17年12月20日受付)