
原 著

転写因子 Bcl11b は腸管の恒常性維持に働き、 Apc 変異下の腫瘍発育を抑制する

坂 牧 僚

新潟大学大学院医歯学総合研究科

分子細胞医学専攻 細胞機能講座 消化器内科学分野

(指導：青柳 豊教授)

Bcl11b Transcription Factor is Required for Intestinal Homeostasis and Suppresses Adenoma Development after Apc Mutation

Akira SAKAMAKI

Division of Cellular Function of Gastroenterology and Hepatology,

Department of Molecular Genetic, Niigata University School of Medicine

(Director: Prof. Yutaka AOYAGI)

要 旨

Bcl11b はヒト T 細胞性白血病やそのモデルであるマウス胸腺リンパ腫において、ハプロ不全ながん抑制遺伝子として発症に寄与することがわかっている。本論文では Bcl11b 機能低下モデルマウスおよびヒト大腸がん標本を利用し、Bcl11b が腸管腫瘍の発症に関与する可能性を検討した。Bcl11b の機能低下により、小腸陰窩サイズの増大と絨毛細胞の増殖が認められ、また放射線照射後の腸管細胞増殖抑制の減弱が観察された。腸管腫瘍発生には β -カテニンシグナルの関与が知られているが、機能低下マウスでは核内 β -カテニン発現細胞数が上昇する像、すなわち β -カテニンシグナルの亢進がみられた。培養細胞に Bcl11b を導入した実験から、Bcl11b の転写抑制の標的に β -カテニン遺伝子があることがわかった。一方、ヒト大腸がんの 74 検体の変異検索を行い、5 検体に変異と 15 検体に LOH を見いだした。これら 20 の DNA 変化では、LOH と変異の両方をもつ症例はなく、Bcl11b がハプロ不全ながん抑制遺伝子として働くことが示唆された。これらの結果から、Bcl11b タンパク質は Wnt/ β -カテニンシグナルを負に制御し、細胞増殖抑制に働く可能性が示唆された。また、ヒト大腸がんでは BCL11B はハプロ不全な

Reprint requests to: Akira SAKAMAKI
Division of Gastroenterology and Hepatology
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences
1 - 757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分野
坂 牧 僚

がん抑制遺伝子として働くことが示された。

キーワード：Bcl11b, 大腸がん, β -カテニン, γ 線照射, 遺伝子変異

はじめに

Bcl11b は放射線誘発マウス胸腺リンパ腫の解析から、がん抑制遺伝子として単離された遺伝子である¹⁾。Bcl11b は亜鉛フィンガードメインをもつ転写因子をコードし²⁾³⁾、T細胞や神経細胞などで発現している。Bcl11b ヘテロ型ノックアウトマウス (Bcl11b^{KO/+}マウス) に γ 線を照射すると、胸腺リンパ腫が発症するが、Bcl11b 野生型アレルを保持した状態で発がんに寄与する。すなわち、ハプロ不全ながん抑制遺伝子として発症に寄与することがわかっている⁴⁾⁵⁾。最近、ヒトT細胞性急性白血病 (T-ALL) の約 16% に BCL11B 変異が報告され、ヒトでもがん抑制遺伝子として働いていることがわかった⁶⁾。興味深いことに、T-ALL の遺伝子解析からも、BCL11B はハプロ不全ながん抑制遺伝子として働くことが示された。

ヒト大腸がんでは第 14 番染色体上の BCL11B 遺伝子を含む遺伝子座で高頻度に対立遺伝子欠損 (LOH) が観察される^{7)–9)}。またヒト大腸がんの全ゲノムシーケンス解析において BCL11B 変異の存在が報告されている¹⁰⁾。一方、Apc^{min/+}遺伝子型の大腸がんモデルマウスを用いた発がん実験では、Bcl11b ヘテロ遺伝子型を Apc^{min/+}マウス導入すると、腫瘍数が増加することがわかっている¹¹⁾。これらの結果は、BCL11B 遺伝子が大腸がんの発症に関与する可能性を示唆されている。そこで、本論文ではモデルマウス、ヒト大腸がん標本を利用し、この可能性を検討した。

方 法

1. Bcl11b^{S826G/KO} マウスの作製

Bcl11b^{KO/+}マウスは以前に新潟大学医学部生化学第一教室で作製されたマウスを用いた⁴⁾。Bcl11b^{S826G/+}点突然変異マウスは理研・権藤博士と共同で作製した。すなわち、DNA 変異誘発剤

(エチルニトロソ尿素：ENU) 投与により、突然変異をもつマウスライブラリー¹²⁾ から、Bcl11b に変異をもつマウスをスクリーニングし、その中の一つに、826 番のセリン残基がグリシンに置換した変異体 (Bcl11b-S826G 点突然変異マウス) を検出した。この点突然変異アレルと KO アレルをもつ Bcl11b 高度機能低下マウス (Bcl11b^{S826G/KO}マウス) を作製し、腸管の表現型を解析した。

マウスは自然交配、または体外受精胚移植法 (IVF・ET) を用いて得た。この IVF・ET 操作は新潟大学脳研究所動物実験施設に委託して行った。遺伝子型の決定にはそれぞれ適当なプライマーセットを用いて PCR 法を行った。

2. γ 線照射

放射線照射条件では、生後 7 週目に 12Gy の γ 線照射を行った。照射には新潟大学アイソトープ総合センターの Cs-137 線源内部照射型照射装置 (PS-3000SB；ポニー工業) を使用した。

3. マウスの免疫化学組織染色

マウス小腸の免疫化学組織染色による解析は通常の方法を用いた。組織固定には 4% パラホルムアルデヒドを用い、市販の Bcl11b モノクローナル抗体 (抗 Ctip2 抗体)、抗 BrdU 抗体、抗 β -カテニン抗体を用いた。

4. TOP/GAL マウスの解析

TOP/GAL マウスは遺伝学研究所の嵯峨教授より分与された。腸管の凍結切片を X-gal で染色し解析した。

5. トランスフェクション

トランスフェクションに用いた Bcl11b の変異 DNA は Takara Prime STAR mutagenesis kit を用いて作製した。トランスフェクションは Fugene 6

reagent (Roche) を使用し、プロトコールに従って使用した。

6. ヒト大腸がんでの BCL11B のダイレクトシーケンスと LOH 解析

ヒト BCL11B 遺伝子は4つのエクソンからなり、エクソン1, 2, 3は短くそれぞれ一組のプライマーセットでPCR反応を行った。一方、エクソン4は長いため、三組のプライマーセットを用いた。ヒト大腸がんDNAは国立がんセンター、中釜博士から分与された(共同研究)。

ダイレクトシーケンスの結果は野生型と変異型が混在する結果だったので、変異を確認する目的で、それぞれのPCR断片をTベクターに組み込み、プラスミドDNAレベルで塩基配列を決定した。LOH解析にはBCL11B遺伝子領域にある4種類の一塩基多形(SNPs)を利用し、PCR産物に対する制限酵素による切断の有無で判定した。

結 果

1. Bcl11b^{S826G/KO} マウスの解析

図1Aは、野生型マウスの小腸のHE染色とBcl11b, β -カテニンおよびBrdUに対する免疫組織化学染色の結果を示す。陰窩下部の細胞は腸管の幹細胞と考えられており、陰窩上部の細胞は分裂や分化を行うTA (transit amplifying) 細胞と考えられている¹³⁾¹⁴⁾。Bcl11bタンパク質は陰窩下部の細胞に発現しており、BrdU取り込み細胞と一致する。また、ヒトの大腸でも同様に陰窩下部の細胞に発現が見られる(図1B)。そこで、Bcl11bの機能低下による、腸管の表現型、細胞増殖能への影響を検討した。

図1C-Eは、Bcl11b機能低下マウスであるBcl11b^{S826G/KO}マウスの結果を示す。機能消失をもたらすBcl11bホモ型ノックアウトマウス(Bcl11b^{KO/KO}マウス)は出生後致死となるため、この高度に機能が低下したBcl11b^{S826G/KO}マウスを利用した。Bcl11b^{S826G/KO}マウスは同腹の野生型マウスに比べ体重が10%程度少ないが、生存可能であった。小腸上皮細胞の表現型を解析した

ところ、絨毛に比べ陰窩のサイズが大きくなっていった(図1C)。また、一部の絨毛細胞ではBrdUの取り込みが観察され(図1D)、細胞増殖のマーカーであるKi-67の陽性染色像もみられた。また陰窩下部の細胞において核内に β -カテニンの発現を認めた(図1E)。これらの結果から、Bcl11bの機能低下は陰窩細胞の増殖を亢進することが示唆され、腸管腫瘍発症への関与の可能性が高まった。

2. γ 線照射後の細胞増殖への影響

図1の結果から、Bcl11bの機能低下が陰窩細胞の増殖亢進をもたらすことが示唆されたが、非照射のBcl11b^{KO/+}マウスでは、このような表現型の異常はみられなかった。そこで、マウスに12Gy, 1回の全身照射を行い、放射線照射の影響を解析した。照射後16時間では、損傷が形態学的に観察される前の時期であり、野生型マウスとBcl11b^{KO/+}マウスで、形態学的に大きな違いはなかった。また、 β -カテニンは野生型マウスとBcl11b^{KO/+}マウスいずれも核内で検出できなかった。

次に、増殖マーカーである抗Ki-67抗体染色を行った。その結果、Bcl11b^{KO/+}マウスの腸管幹細胞領域およびTA細胞領域でより多く、抗Ki-67陽性細胞が観察された(図2A)。図2Bはその結果をまとめている。BrdU取り込み実験でも同様の傾向が認められ、その結果を図2Cにまとめた。野生型マウスでは照射後陽性細胞は減少するが、Bcl11b^{KO/+}マウスでは減少の程度が少ないことがわかる。また、BrdU取り込み細胞は、陰窩下部の腸管幹細胞領域に限局していた。

3. TOP/GAL マウスを用いた β -カテニン活性化への照射の影響

腸管上皮細胞の増殖は主にWnt/ β -カテニン経路により調節される¹⁶⁾¹⁷⁾。そこで、 β -カテニン経路活性化への放射線照射影響をTOP/GALマウスを用いて調べた。このTOP/GALマウスは、活性化された β -カテニン転写複合体が核内で結合するTOP配列をもち、 β -カテニン経路の下流にある遺伝子の転写活性をモニターすることがで

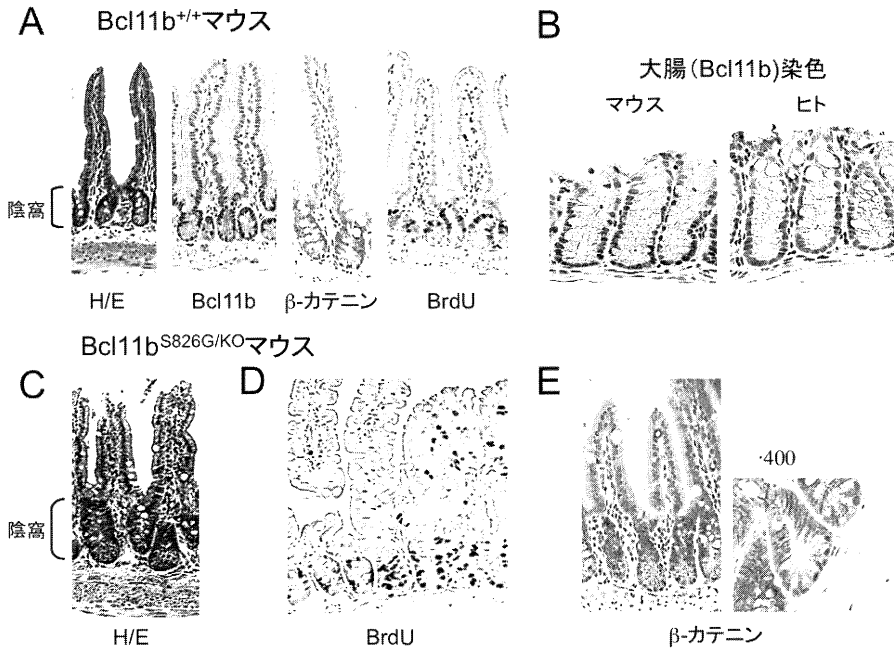


図 1 Bcl11b^{S826G/KO} マウスの解析

- A : 野生型 (Bcl11b^{+/+}) マウス小腸の HE 染色, Bcl11b 染色, β -カテニン染色, BrdU 投与 1 時間後の抗 BrdU 染色 ($\times 100$). 陰窩の腸管幹細胞から TA 細胞にかけて Bcl11b の発現を認める.
- B : 野生型マウスの大腸およびヒト正常大腸の Bcl11b 染色 ($\times 100$). 大腸でも小腸と同様に Bcl11b の発現を認める.
- C : Bcl11b^{S826G/KO} マウス小腸の HE 染色 ($\times 100$) では図 1A に示される野生型マウスに比べ, 陰窩の TA 細胞の増加を認める.
- D : Bcl11b^{S826G/KO} マウス小腸の BrdU 投与 1 時間後の抗 BrdU 染色 ($\times 100$) では図 1A に示される野生型マウスで認められなかった絨毛での BrdU の取込みが見られる.
- E : Bcl11b^{S826G/KO} マウス小腸の抗 β -カテニン染色 ($\times 100, \times 400$) では陰窩下部での β -カテニン陽性細胞が明瞭に認められる.

きる¹⁸⁾. 図 2D はその結果の 1 例を示す. 12Gy 照射 24 時間後の影響をみると, 野生型マウスではクリプト内 GAL 染色陽性細胞数は照射により低下するが, Bcl11b^{KO/+}マウスでは野生型マウスに比べ GAL 陽性細胞が増加していた (図 2E). この結果は, 増殖細胞の照射による減少が, Bcl11b^{KO/+}マウスでは減弱していること (図 2B, 2C 参照) と一致する.

4. Bcl11b の転写抑制活性

Bcl11b は転写を抑制する転写因子であるが,

β -カテニン遺伝子発現との関連性を検討した. まず, β -カテニン遺伝子のプロモーターの下流にルシフェラーゼレポーターを結合したプラスミドを作製し, Bcl11b 発現ベクタープラスミドと共に, ヒト大腸がん由来細胞株 (HCT116 細胞) にコトランスフェクションした. 48 時間後に細胞を回収して, デュアル・ルシフェラーゼアッセイ法によりレポーター活性の測定を行った. その結果, Bcl11b の導入により β -カテニン遺伝子の転写活性が低下することが分かった (図 3A).

次に, β -カテニン経路の下流にある遺伝子の

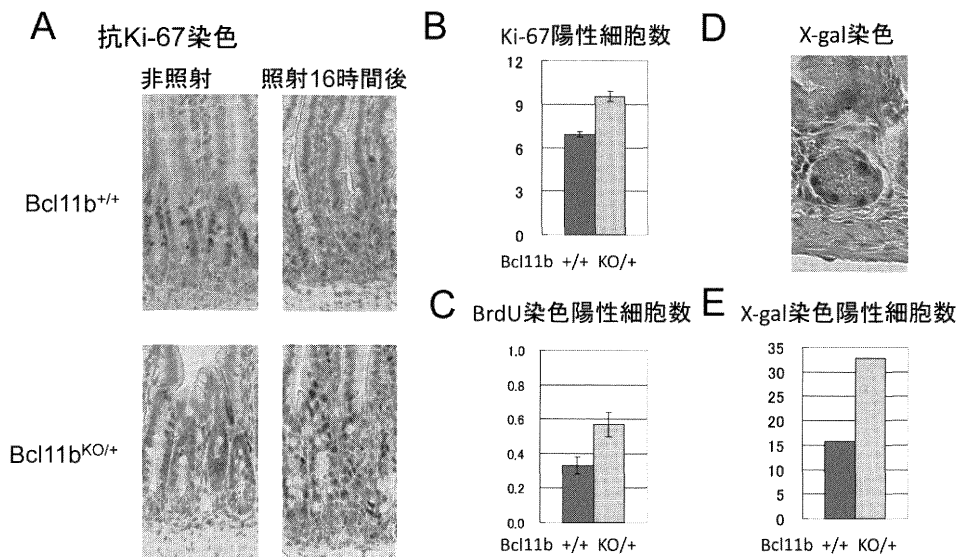


図2 マウスの免疫化学組織染色および TOP-GAL 染色による解析

- A : 生後7週齢のマウスに12Gyの1回照射を行い16時間後に腸管を取出した群と、非照射の群とでKi-67染色による比較を行った($\times 100$)。全て同腹のマウスを用いた。非照射では遺伝子型による違いは認められないが、照射16時間後では野生型マウスで増殖細胞(Ki-67陽性細胞)の減少を認め、Bcl11b^{KO/+}マウスでは殆ど減少していなかった。
- B : 照射16時間後にKi-67陽性細胞の数をカウントし、腸管細胞列あたりのKi-67陽性細胞数を比較すると、有意にBcl11b^{KO/+}マウスで多く認められた($p < 0.0001$)。
- C : 同様にBrdU投与1時間後の腸管細胞列あたりのBrdU陽性細胞数を比較すると、特に腸管幹細胞において有意にBcl11b^{KO/+}マウスで多く認められた($p = 0.007$)。
- D : 一部の陰窩細胞で核内にX-gal染色陽性細胞を認める($\times 100$)。1例を示す。
- E : 照射24時間後のX-gal染色陽性細胞数を比較すると、野生型マウスでは陰窩内のX-gal染色陽性細胞数は照射により低下するが、Bcl11b^{KO/+}マウスでは逆にX-gal染色陽性細胞が増加していた。

転写活性をモニターするTOP/FOPflashプロモーターにレポーター結合したプラスミドを用いた。この系はWnt/ β -カテニンシグナルの活性測定に広く利用されている¹⁹⁾²⁰⁾。TOP/FOPflashレポータープラスミドとBcl11b発現ベクタープラスミドを共に、ヒト大腸がん由来細胞株(SW480, CaCo2細胞)にコトランスフェクションし、48時間後に細胞を回収してデュアル・ルシフェラーゼアッセイ法によりレポーター活性の測定を行った。その結果、Bcl11bの導入によりTOPflashプロモーターの転写活性が低下することが分かった(図3B)。これらの結果は、Bcl11bがWnt/ β -カ

テニンシグナルを抑制すること、その機構として β -カテニン遺伝子の転写活性を抑制する可能性を示唆する。

5. ヒト大腸がんでのBCL11B遺伝子変異とLOH解析

BCL11Bがヒトがん抑制遺伝子として腸管腫瘍発症に関与する可能性を、変異解析を行うことにより試みた。ヒト大腸がんのPCR産物、74検体をダイレクトシーケンシングした。その結果、5検体(6.8%)に異なる変異を見いだした。図4Aは解析の1例を示す。以下に、5つの変異の部位

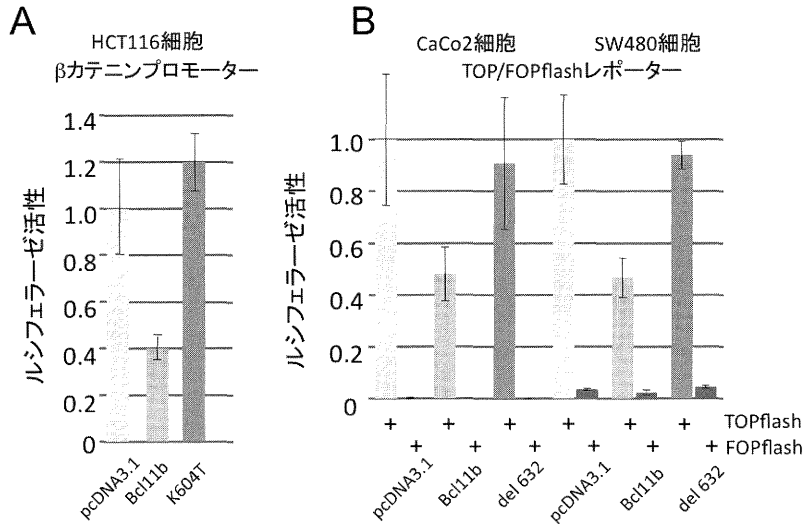


図3 Bcl11bの転写抑制活性の解析

- A : β -カテニン遺伝子のプロモーターの下流にルシフェラーゼレポーターを結合したプラスミドと Bcl11b 発現ベクタープラスミドを HCT116 細胞にコトランスフェクションし、48 時間後に細胞を回収してデュアル・ルシフェラーゼアッセイ法によりレポーター活性の測定を行った。pcDNA3.1 は negative control として使用した。Bcl11b の導入により β -カテニン遺伝子の転写活性が低下したが、Bcl11b の亜鉛フィンガードメインに点突然変異を有する変異体 (K604T) では β -カテニン遺伝子の転写活性の低下は見られなかった。
- B : TOP/FOPflash レポータープラスミドと Bcl11b 発現ベクタープラスミドを共に、ヒト大腸がん由来細胞株 (SW480 細胞, CaCo2 細胞) にコトランスフェクションし、48 時間後に細胞を回収してデュアル・ルシフェラーゼアッセイ法によりレポーター活性の測定を行った。pcDNA3.1 は negative control として使用した。SW480, CaCo2 いずれも Bcl11b の導入により TOPflash ベクターの転写活性が低下したが、Bcl11b 遺伝子の C 末端の一部が欠損した変異体 (del 632) では TOPflash ベクターの転写活性の低下は見られなかった。

と変異が与える結果を示す。

検体 1 : 1623 ~ 1625 GAG 脱落 (535-543 の E 連続配列の 1 つの E 脱落)

検体 2 : 1620 ~ 1625 GAGGAG 脱落 (535-543 の E 連続配列の 2 つの E 脱落)。

検体 3 : 1967G 脱落 (656 からのフレームシフト変異)

検体 4 : 1138G → A 置換 (V380M)

検体 5 : 1706G → A 置換 (G569D)

特徴をまとめると、アミノ酸の置換または脱落をもたらす変異が 4 腫瘍であり、フレームシフト変異が 1 腫瘍であった。置換または脱落するアミ

ノ酸は進化的に高度に保存されたアミノ酸配列であった。

一方、LOH 解析はヒト大腸がん 74 検体のうち 53 検体が解析可能であった。LOH 解析の結果、15 検体 (28%) に LOH が確認された。図 4B は解析の 1 例を示す。この 15 症例には変異が無く、LOH と変異の両方をもつ症例はなかった (図 4C)。

考 察

1. Bcl11b 蛋白質は腸管の恒常性維持に関与する Bcl11b タンパク質はマウスの小腸、大腸組織お

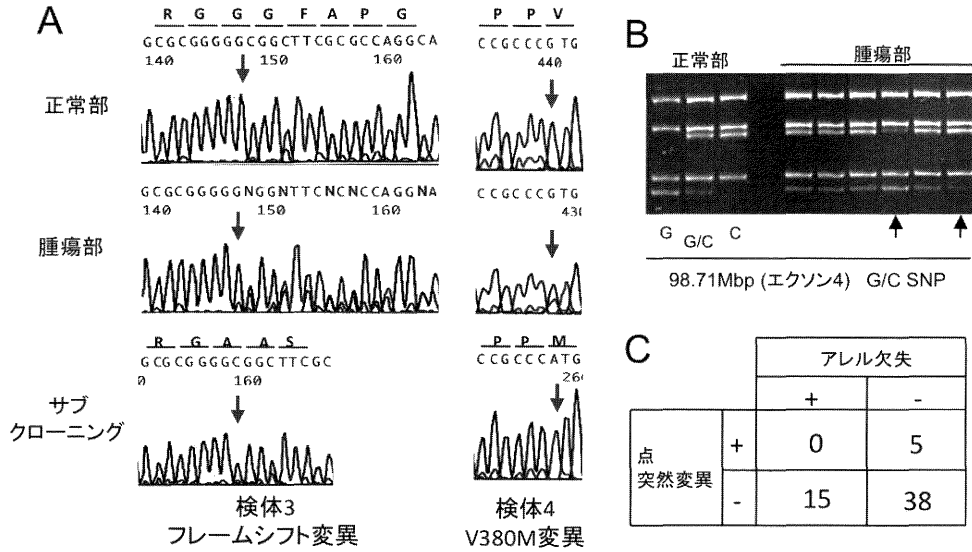


図4 ヒト大腸がんでのBCL11B遺伝子変異とLOH解析

- A: ヒト大腸がん検体のBCL11B領域のシーケンスで変異のあった5検体のうち、1例として検体3と検体4のシーケンスを示す。
- B: BCL11Bエクソン4内に存在するSNPを用いたLOH解析を示す。6検体のうち2検体でLOHが確認される。
- C: シーケンスとLOH解析結果を表で示す。点突然変異とLOHの両方を有する検体はなくBCL11Bがハプロ不全な大腸がん修飾遺伝子として機能することを示唆するものである。

よびヒトの大腸組織で発現しているが、陰窩下部の細胞核、いわゆる腸管幹細胞の核内にもよく発現していることがわかった。Bcl11b機能が高度に低下したBcl11b^{S826G/KO}マウスを解析し、小腸で陰窩サイズの増大を認め、絨毛でBrdUの取込みを認めた。これは陰窩細胞および絨毛細胞の両方で通常よりも強い増殖傾向があることが示唆される。

β -カテニン遺伝子発現は腸管の恒常性維持に必要であり¹⁶⁾¹⁸⁾、観察された細胞増殖傾向は、Apc^{min/+}マウスに観察されるもの¹⁵⁾と類似していた。Bcl11b^{S826G/KO}マウスでは核内 β -カテニン発現細胞数が上昇する像がみられており、Bcl11bは転写因子として β -カテニン発現を抑制的に作用することが示唆された。その結果として、Bcl11bが腸管組織の恒常性の維持に関与すると考えられる。

2. Bcl11b^{KO/+}遺伝子型は照射による細胞増殖に影響を与える

Bcl11b^{KO/+}マウスに12Gy、1回の全身照射を行い、16時間後の腸管上皮細胞を観察した。BrdU取り込み実験やKi-67の染色で、照射後の腸管細胞にみられる増殖抑制の減弱が観察された。BrdU取り込み実験で増殖抑制が顕著に見られた細胞は、いわゆるTA細胞であり、幹細胞領域にある細胞は増殖を維持していた。

幹細胞の増殖は主にWnt/ β -カテニン経路により調節される。そこで、TOP/GALマウスを用い、照射後の影響をみると、Bcl11b^{KO/+}マウスではGAL陽性細胞がより多いことがわかった。すなわち、幹細胞は照射により増殖能をより維持していることがわかった。これらの結果より、Bcl11bタンパク質はWnt/ β -カテニン経路の調節に関与し、放射線照射などの損傷による細胞増

殖抑制に働く可能性が示唆された。

結 論

3. Bcl11b は β -カテニン遺伝子の転写を抑制する

すでに我々の報告を含めいくつかの報告で、Bcl11b は転写の抑制に関与するとされている。Bcl11b は細胞核内で転写抑制複合体である NuRD complex の一員として転写に関与し、その標的遺伝子として p21, p27, p57 (細胞周期抑制因子) が報告されている²⁾³⁾。今回の培養細胞系を用いた実験から、 β -カテニン遺伝子も Bcl11b の転写抑制の標的となることがわかった。したがって、Bcl11b の機能低下は β -カテニンを介して細胞の増殖促進に働き、それが発がんに寄与すると考えられる。

4. BCL11B 遺伝子変異はヒト大腸がんに関与する

ヒト大腸がんの 74 検体を検査したところ、5 検体に変異と 15 検体に LOH を見いだした。5 つの変異はフレームシフトが 1, 置換が 2, 脱落が 2 であった。これら 20 の DNA 変化では、LOH と変異の両方をもつ症例はなかった。これにより BCL11B がハプロ不全ながん抑制遺伝子としての働きをもつことが示唆された。マウスの小腸腫瘍では Apc^{min/+} 単独では Bcl11b の LOH は高頻度に観察されるが、Apc^{min/+}; Bcl11b^{KO/+} マウスの腫瘍では野生型の Bcl11b アレルの消失は全く見られないことは以前報告している¹⁾。この結果は、Bcl11b がハプロ不全ながん抑制遺伝子または修飾遺伝子であることを示唆していたが、本論文で得られた結果とよく一致する。したがって、BCL11B はハプロ不全な大腸がん修飾遺伝子として機能している可能性が高い。

総合すると、約 27% (20/74) のヒト大腸がんでは BCL11B の変化が観察され、ヒト大腸がんへの関与が示された。すなわち、ヒトの大腸がん発症のリスク因子、診断、治療、予後を考える上で重要な点となるはずと考えられる。

Bcl11b^{KO/+} マウスにおける Bcl11b 活性の低下は、放射線照射による腸管障害時にみられる増殖抑制の減弱をもたらし、更に Bcl11b 機能が低下した Bcl11b^{S826G/KO} マウスでは腸管の恒常的な組織維持においても障害がみられる。これらの表現型は腸管の恒常性維持に必須である Wnt/ β -カテニン経路を活性化することにより出現していることが推測された。

これらの結果は、ヒト大腸がんの BCL11B 変異の結果と合わせて、BCL11B アレルの欠損が少なくとも一部のヒト大腸がん発症に関与することを強く示唆するものである。

謝 辞

本研究においてご指導賜りました青柳豊教授、木南凌教授 (分子細胞医学専攻遺伝子制御講座) に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Wakabayashi Y, Inoue J, Takahashi Y, Matsuki A, Kosugi - Okano H, Shinbo T, Mishima Y, Niwa O and Kominami R: Homozygous deletions and point mutations of the Rit1/Bcl11b gene in γ ray induced mouse thymic lymphomas. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 301: 598 - 603, 2003.
- 2) Cismasiu VB, Adamo K, Gecewicz J, Duque J, Lin Q and Avram D: BCL11B functionally associates with the NuRD complex in T lymphocytes to repress targeted promoter. *Oncogene* 24: 6753 - 6764, 2005.
- 3) Cherrier T, Suzanne S, Redel L, Calao M, Marban C, Samah B, Mukerjee R, Schwartz C, Gras G, Sawaya BE, Zeichner SL, Aunis D, Van Lint C and Rohr O: p21 (WAF1) gene promoter is epigenetically silenced by CTIP2 and SUV39H1. *Oncogene* 28: 3380 - 3389, 2009.
- 4) Wakabayashi Y, Watanabe H, Inoue J, Takeda N, Sakata J, Mishima Y, Hitomi J, Yamamoto T, Utsuyama M, Niwa O, Aizawa S and Kominami R:

- Bcl11b is required for differentiation and survival of $\alpha\beta$ T lymphocytes. *Nat Immunol* 4: 533 - 539, 2003.
- 5) Kaminura K, Ohi K, Okazuka K, Yoshikai Y, Wakabayashi Y, Aoyagi Y, Mishima Y and Kominami R: Haploinsufficiency of Bcl11b for suppression of lymphomagenesis and thymocyte development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355: 538 - 542, 2007.
 - 6) De Keersmaecker K, Real PJ, Gatta GD, Palomero T, Sulis ML, Tosello V, Van Vlierberghe P, Barnes K, Castillo M, Sole X, Hadler M, Lenz J, Aplan PD, Kelliher M, Kee BL, Pandolfi PP, Kappes D, Gounari F, Petrie H, Van der Meulen J, Speleman F, Paietta E, Racevskis J, Wiernik PH, Rowe JM, Soulier J, Avran D, Cavé H, Dastugue N, Raimondi S, Meijerink JP, Cordon - Cardo C, Califano A and Ferrando AA: The TLX1 oncogene drives aneuploidy in T cell transformation. *Nat. Med.* 11: 1321 - 1327, 2010.
 - 7) Young J, Leggett B, Ward M, Thomas L, Buttenshaw R, Searle J and Chenevix - Trench G: Frequent loss of heterozygosity on chromosome 14 occurs in advanced colorectal carcinomas. *Oncogene* 8: 671 - 675, 1993.
 - 8) Weber TK, Conroy J, Keitz B, Rodriguez - Bigas M and Petrelli NJ: Genome - wide allelotyping indicates increased loss of heterozygosity on 9p and 14q in early age of onset colorectal cancer. *Cytogenet. Cell Genet.* 86: 142 - 147, 1999.
 - 9) Mao X, Hamoudi RA, Talbot IC and Baudis M: Allele - specific loss of heterozygosity in multiple colorectal adenomas: toward an integrated molecular cytogenetic map II. *Cancer Genet. Cytogenet.* 167: 1 - 14, 2006.
 - 10) Wood LD, Parsons DW, Jones S, Lin J, Sjoblom T, Leary RJ, Shen D, Boca SM, Barber T, Ptak J, Silliman N, Szabo S, Dezso Z, Ustyanksky V, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Karchin R, Wilson PA, Kaminker JS, Zhang Z, Croshaw R, Willis J, Dawson D, Shipitsin M, Wilson JK, Sukumar S, Polyak K, Park BH, Pethiyagoda CL, Pant PV, Ballinger DG, Sparks AB, Hartigan J, Smith DR, Suh E, Papadopoulos N, Buckhaults P, Markowitz SD, Parmigiani G, Kinzler KW, Velculescu VE and Vogelstein B: The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 318: 1108 - 1113, 2007.
 - 11) 岩崎友洋: Bcl11bはMinマウスの腸管腫瘍の発症を促進させるハプロ不全型癌抑制遺伝子である. *新潟医学会雑誌* 125: 353 - 362, 2011.
 - 12) Gondo Y: Trends in large - scale mouse mutagenesis: from genetics to functional genomics. *Nat Rev Genet.* 10: 803 - 810, 2008.
 - 13) Potten CS, Gandara R, Mahida YR, Loeffler M and Wright NA: The stem cells of small intestinal crypts: where are they?. *Cell Prolif.* 42: 731 - 750, 2009.
 - 14) Barker N, van Es JH, Kuipers J, Kujala P, van denBorn M, Cozijnsen M, Haegebarth A, Korving J, Begthel H, Peters PJ and Clevers H: Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 449: 1003 - 1007, 2007.
 - 15) Jass JR, Whitehall VL, Young J and Leggett BA: Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 123: 862 - 876, 2002.
 - 16) Clevers H: Wnt/beta - catenin signaling in development and disease. *Cell* 127: 469 - 480, 2006.
 - 17) Polakis P: Wnt signaling and cancer. *Genes Dev.* 14: 1837 - 1851, 2000.
 - 18) Moriyama A, Kii I, Sunabori T, Kurihara S, Takayama I, Shimazaki M, Tanabe H, Oginuma M, Fukayama M, Matsuzaki Y, Saga Y and Kudo A: GFP transgenic mice reveal active canonical Wnt signal in neonatal brain and in adult liver and spleen. *Genesis* 45: 90 - 100, 2007.
 - 19) Mahmoudi T, Li VS, Ng SS, Taouatas N, Vries RG, Mohammed S, Heck AJ and Clevers H: The kinase TNIK is an essential activator of Wnt target genes. *EMBO J.* 28: 3329 - 3340, 2009.
 - 20) Filali M, Cheng N, Abbott D, Leontiev V and Engelhardt JF: Wnt - 3A/ β - catenin signaling induces transcription from the LEF - 1 promoter. *J. Biol. Chem.* 277: 3398 - 3410, 2002.

(平成24年1月10日受付)