
総 説

大腸癌転移における腫瘍宿主相互関係

奈良県立医科大学附属がんセンター 腫瘍病理学教室

國 安 弘 基

TUMOR-HOST RELATIONSHIP IN COLON CANCER METASTASIS

HIROKI KUNIYASU

Department of Oncological Pathology, Cancer Center, Nara Medical University

Received December 14, 2001

抄 録：癌とその周囲の宿主組織との微小環境における相互作用は癌の発生・進展さらには転移に大きな影響を与える因子であり、その解明は、癌の機構解明に重要であるのみならず、診断・治療への応用が期待される。

癌細胞が産生・分泌する多種多様な因子が腫瘍に接する正常組織に影響を与えるが、その点では、癌周囲の正常組織は癌の総合的な性質を測る一つの試験紙といえることができる。

マウスを用いた同所性移植大腸癌モデルは移植癌組織に対する宿主組織の純粋な反応性変化を評価するのに適した系であり、同実験系とヒト大腸癌組織に対して検討を行い、癌-宿主相互作用を通じた転移促進機序の解明を行った。

われわれは、ヌードマウス盲腸にヒト大腸癌細胞株を移植し癌周囲粘膜の変化を検討した。癌移植後癌周囲粘膜には過形成性形態変化が発生し proliferating cell nuclear antigen (PCNA)陽性核の増加を伴っている。この変化に伴い、過形成性粘膜からの vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF)といった血管新生因子の発現が亢進し、癌と粘膜との境界部に多数の新生血管が形成される。また、epigeneticな変化に起因する mutL homolog1 (MLH1), O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT), p16INK4A といった DNA 修復遺伝子・細胞周期抑制因子の発現低下が認められる。これらの変化の一因として、癌細胞から産生される interleukin (IL)-15が重視される。このような、動物モデルにより明らかとなった知見は、ヒト大腸癌手術材料でも確認され、癌周囲粘膜の過形成性変化は血管新生を通じて癌の進展・転移を促進するのみならず、転移能を反映するマーカーでもあることが示された。

この結果をもとに、ヒト大腸癌術前内視鏡的生検材料を用いて癌周囲粘膜上皮における Ki-67 labeling index を指標として切除後の転移の有無を prospective に予測検討した。この結果、転移陽性症例では癌周囲粘膜の過形成性変化 Ki-67 labeling index は有意に非転移例よりも高く、80%の症例で転移の有無を正診し得た。

このように、癌周囲粘膜は癌の進展に重要であり、生検により転移マーカーとしても有用と考えられた。

Key words : colon cancer, mouse orthotopic cancer model, mucosal hyperplasia, metastasis, IL-15,

略 語 : PCNA, proliferating cell nuclear antigen ; VEGF, vascular endothelial growth factor ; bFGF, basic fibroblast growth factor ; MLH1, mutL homolog1 ; MGMT, O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase ; IL, interleukin ; IFN, interferon ; EGF, epidermal growth factor ; TGF, transforming growth factor ; CDK, cyclin-dependent kinase ; EGFR, EGF receptor

結 言

癌周囲粘膜の過形成性変化は大腸癌では90%以上の症例に種々の程度に見られ^{1,2)}, 増殖能の亢進^{3,4)}, 分化度の低下^{5,6)}, 産生粘液の変化^{7,8)}等の特徴を伴っている⁹⁾. また, 肺癌, 乳癌においても高頻度に癌周囲粘膜上皮に過形成性変化が認められるが^{10,11)}, いずれにおいてもこのような過形成性変化を癌に対する反応性変化と見るか, 前癌状態と考えるかで議論されてきた^{9,12-17)}. 最近では, 腸内病原性大腸菌の産生する intimin が大腸粘膜過形成に関与するとの報告も認められる¹⁸⁾.

しかし, 癌周囲過形成性組織の癌の進展に対する役割はこれまで解明されることはなかった. われわれは, 大腸癌の周囲に形成される過形成性粘膜に着目し, 癌とその周囲粘膜との相互作用を検討した¹⁹⁾.

マウス同所移植大腸癌モデルによる検討

1) マウス同所移植大腸癌モデル

検討には, まず, マウス同所移植大腸癌モデルを用いた^{20,21)}. 上皮細胞ばかりでなく間質細胞にも臓器特異性があり, 転移の形成にあつてはこの上皮細胞と間質細胞のマッチングが重要である²²⁾. このモデルでは, 上皮細胞と間質細胞の臓器特異性をマッチさせるため大腸癌細胞をマウス盲腸壁内に注入するシステムを用いている^{20,21)}. われわれは, この方法に従って, ノードマウス盲腸壁にヒト大腸癌細胞株 KM12SM (高転移株) とその親株 KM12C (低転移株)^{23,24)} を 1×10^6 個注入し同所性に大腸癌を形成させた. この系において形成される粘膜過形成は前癌病変ではなく, 腫瘍の移植に伴う反応性変化であることが明らかであることから, 癌と宿主との相互作用を純粹に検討することが可能である.

2) 癌周囲粘膜の変化

高転移株 KM12SM をノードマウス盲腸壁に注入すると, 4日後には細胞の約60%は壊死するが, 1週後には壊死巣に線維芽細胞の増殖と周囲組織からの毛細血管の侵入が生じる. 3週以降には癌腫を覆う粘膜上皮に過形成性変化が観察される (Fig. 1). すなわち, 形態的に陰窩の延長を伴う粘膜の肥厚と粘膜上皮細胞における

PCNA 陽性細胞の増加が認められる. これに伴い過形成性となった粘膜上皮からは, 血管新生促進因子である VEGF, bFGF の産生が亢進しており, 逆に, 血管新生抑制因子である interferon (IFN)- β の産生低下が認められる. 血管新生に対し諸因子のバランスが新生促進に傾く結果, 粘膜と癌腫との間には多数の新生血管や血管腔の拡張が認められる (Fig. 2). このような増殖性変化や血管新生は高転移株 KM12SM に比較し低転移株 KM12C では程度が弱い. さらに, この系で癌細胞注入後5週での肝転移を検討すると, 高転移株 KM12SM では平均42病変/マウスに比較し低転移株 KM12C では平均2病変/マウスと有意差が見られ, 癌周囲粘膜の増殖性変化や血管新生が腫瘍の転移能に相関することが考えられる¹⁹⁾. なお, 上記のようなヌードマウスにヒト癌細胞を移植する異種移植系ではなく, マウス大腸癌細胞株 CT26 を同系のマウス盲腸に同所性移植する高転移性の大腸癌モデルでも癌周囲粘膜の著明な過形成と血管新生が認められている¹⁹⁾. また, このような上皮過形成に関連する血管新生については, 最近, UV-B による keratinocyte の障

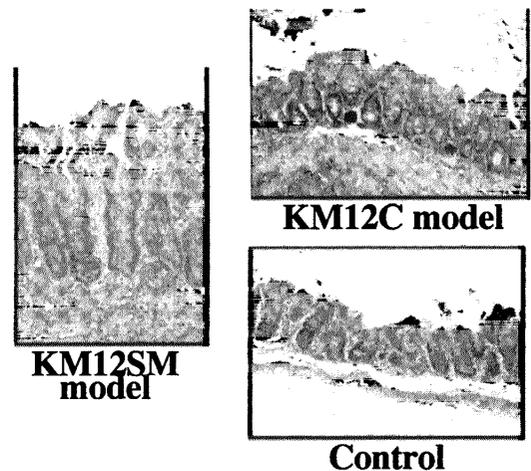


Fig. 1. Morphological alteration of the mucosa adjacent to colon cancer in nude mouse model. Hyperplastic change was observed in the mucosa adjacent to the high metastatic tumor of KM12SM human colon cancer cells. (H&E staining)

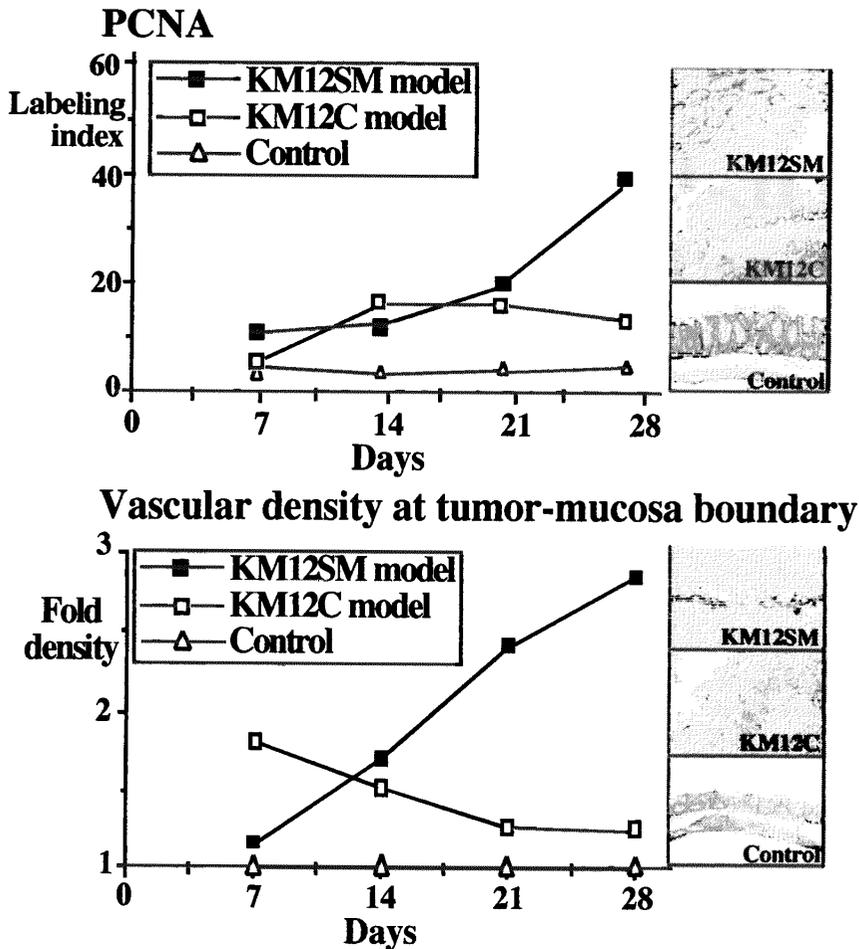


Fig. 2. Chronological alteration of PCNA labeling index of the mucosa adjacent to colon cancer and microvessel density in the tumor-mucosa boundary. In the high metastatic KM12SM model, higher PCNA labeling index of the mucosa adjacent to colon cancer and more dense microvessels in the tumor-mucosa boundary were found than those in the low metastatic KM12C model.

害により上皮の過形成と真皮内の血管増殖がもたらされることが報告されている²⁵⁾。

3) 癌周囲粘膜に影響を与える因子

このような変化をもたらす因子の一つとして、以前から epidermal growth factor (EGF) や transforming growth factor (TGF)- α が知られており、KM12SM でも発現が認められているが、われわれは新たに IL-15 に着目した。IL-15 は、特に natural killer cell の増殖・生存に関与するサイトカインとして発見され^{26, 27)}、腸管粘膜免疫にも重要な役割を担っている²⁸⁾。これまではむしろ IL-15 の宿主免疫を介した抗腫瘍効果が注目されて来た。

IL-15 は血液系細胞に作用するのみならず、炎症性腸疾患において TGF- α 、TGF- β 、IL-1、IL-2、IL-4 等と共に腸上皮細胞の生存因子・増殖因子として作用し、粘膜再生に重要な役割を担うと考えられている^{29, 30)}。

この IL-15 を介した腫瘍-宿主相互作用を検討するにあたって、われわれは、まず、大腸癌における腫瘍細胞への IL-15 の作用を検討した。IL-15 は高頻度に大腸癌培養細胞株、ヒト大腸癌組織に発現しており、autocrine 的に、癌細胞の浸潤能・生存能を亢進させ転移を促進することが明らかとなった。また、IL-15 のヒト大腸癌における発現は転移と相関が認められた³¹⁾。

次に、先のマウス大腸粘膜過形成モデルにおいて、

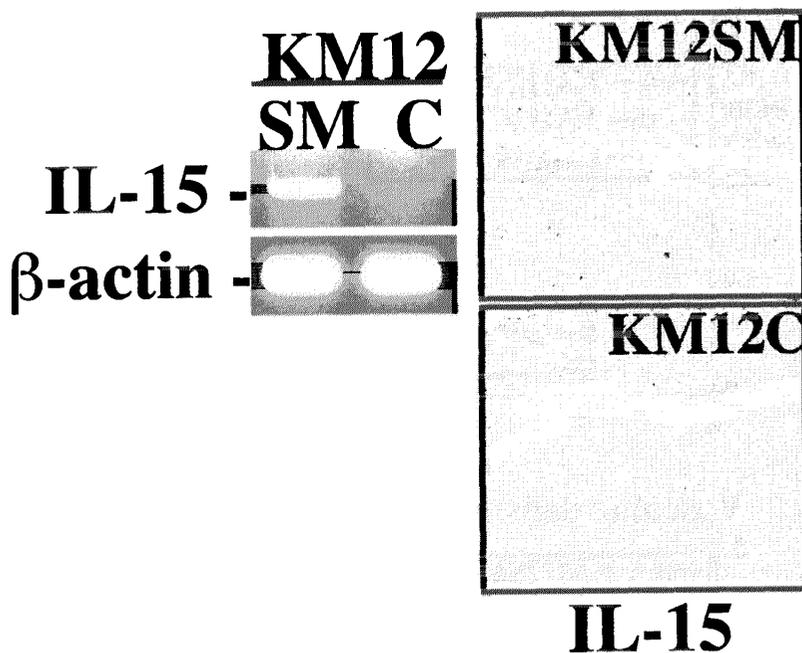


Fig. 3. IL-15 expression in KM12SM and KM12C human colon cancer cell lines. Expression of IL-15 mRNA and protein were detected in RT-PCR using KM12SM cell extracts (left) and KM12SM tumor in the nude mouse cecum (right), respectively. In contrast, IL-15 expression was not detected in KM12C cells.

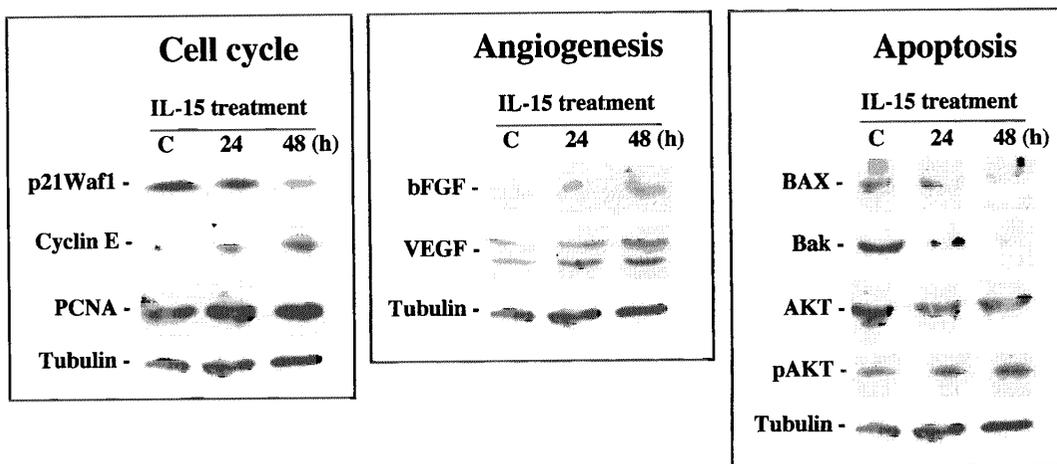


Fig. 4. Effects of IL-15 treatment on protein production by a rat intestinal epithelial cell line, IEC6. IL-15 (10 ng/ml) treatment provided alterations of protein production of cell cycle-, angiogenesis-, and apoptosis-related factors in IEC6 cells.

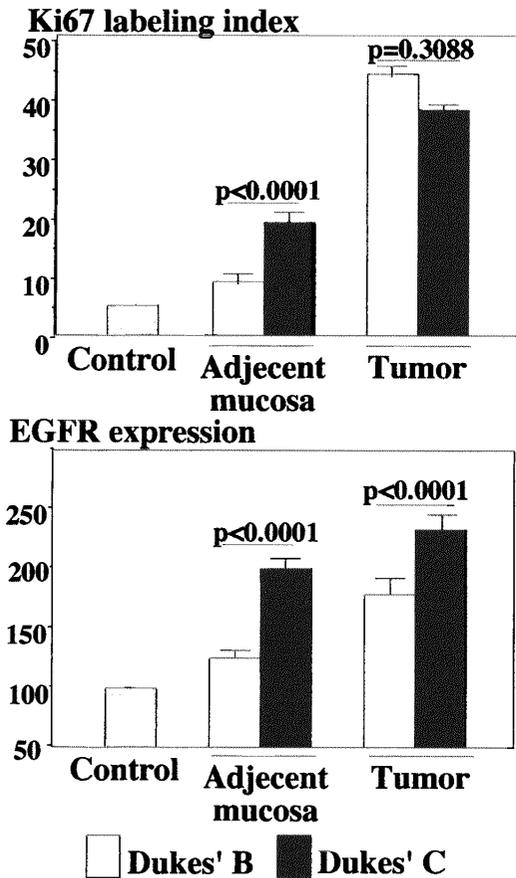


Fig. 5. Ki67 labeling index and expression of EGF receptor (EGFR) in human colon cancer and the adjacent mucosa. Higher Ki67 labeling index and EGFR expression were detected in Dukes' C colon cancer cases than those in Dukes' B cases.

IL-15の供給源となる癌細胞KM12SM及びKM12CでのIL-15発現を検討すると、高転移株KM12SMでは明瞭な発現が見られるが、KM12Cでは発現レベルは低く両者に差異が認められた(Fig. 3)。さらに、IL-15によりラット腸上皮細胞株IEC6を処理すると、細胞周期調節因子であるp21Waf1発現低下とcyclin E発現亢進による増殖促進作用、血管新生因子であるbFGF・VEGFの発現亢進による血管増殖促進作用、さらに、アポトーシス促進因子であるBax・Bak発現低下、及び、抗アポトーシス作用を有するAKTリン酸化レベルの亢進によるアポトーシス抑制作用が認められた(Fig.4)³²⁾。事実、IL-15により無血清培養や抗癌剤処理によるIEC6に対するアポトーシス誘導は抑制される。このように、癌周囲粘膜

の過形成や血管新生に癌細胞が産生するIL-15が関与することが明らかとなった³²⁾。また、ヒト大腸癌におけるIL-15の発現は、癌周囲粘膜過形成と相関しており、特に、転移症例において強く認められ、IL-15が癌細胞への直接作用と癌周囲粘膜過形成の誘導の両面から大腸癌の転移を促進している可能性が示された³²⁾。

さらに、KM12SMを用いた粘膜過形成モデルでは、癌周囲過形成性粘膜でのDNA修復因子であるMGMT, MLH1やcyclin-dependent kinase (CDK) inhibitorであるp16INK4Aの発現低下が認められる。この原因として、これらの遺伝子のepigeneticな変化を検討したところ、promoter領域のCpG islandにメチル化が生じていることが明らかになった³²⁾。この癌周囲粘膜に見られるメチル化誘導への癌-宿主関係の関与を解明するため、IL-15による35日間の長期処理をラット腸上皮細胞IEC6に対して行ったところ、MGMT, MLH1、及び、p16INK4Aの発現の低下が認められた³²⁾。このように、癌から産生されるサイトカインや増殖因子により、癌周囲粘膜にepigeneticな変化が惹起されている可能性が示された。CDK inhibitorで細胞周期抑制作用を持つp16INK4Aの発現低下は細胞増殖をもたらすと考えられ、粘膜過形成の一因となっている可能性が考えられる。また、DNA修復因子であるMGMT, MLH1発現低下は、癌周囲粘膜に認められる遺伝子変異を2次的にもたらしている可能性がある。これは、癌周囲粘膜における遺伝子変異が必ずしも癌における変異と同一でないことの原因である可能性もあり、今後の検討が必要である。

2. ヒト大腸癌切除症例を用いた検討

では、このような癌-宿主相互関係はヒト大腸癌にも認められるのであろうか。そこで、漿膜下層(外膜下層)浸潤を示すヒト大腸癌切除症例74例を検討した。癌細胞の増殖活性をKi-67 labeling indexにより検討すると、リンパ節転移陽性例(Dukes' C) 34例と、リンパ節転移陰性例(Dukes' B) 40例との間に有意差は認められないが、癌周囲粘膜の形態学的過形成はDukes' C32例(94%)、Dukes' B16例(40%)と転移例で有意に高頻度であり、癌周囲粘膜のKi-67 labeling indexによる増殖活性はDukes' C平均19%に対しDukes' B平均9%と転移例で有意に高値であった(Fig. 5)。次に、癌周囲粘膜での血管増殖因子VEGF, bFGF, IL-8の産生及び腫瘍-腫瘍周囲粘膜間の血管密度を免疫組織化学により検討すると、各血管増殖因子の発現、血管密度ともDukes' C症例では腫瘍部と同等のレベルにまで上昇していたが、Dukes' B症例ではこれらの因子の増加は著明ではなく

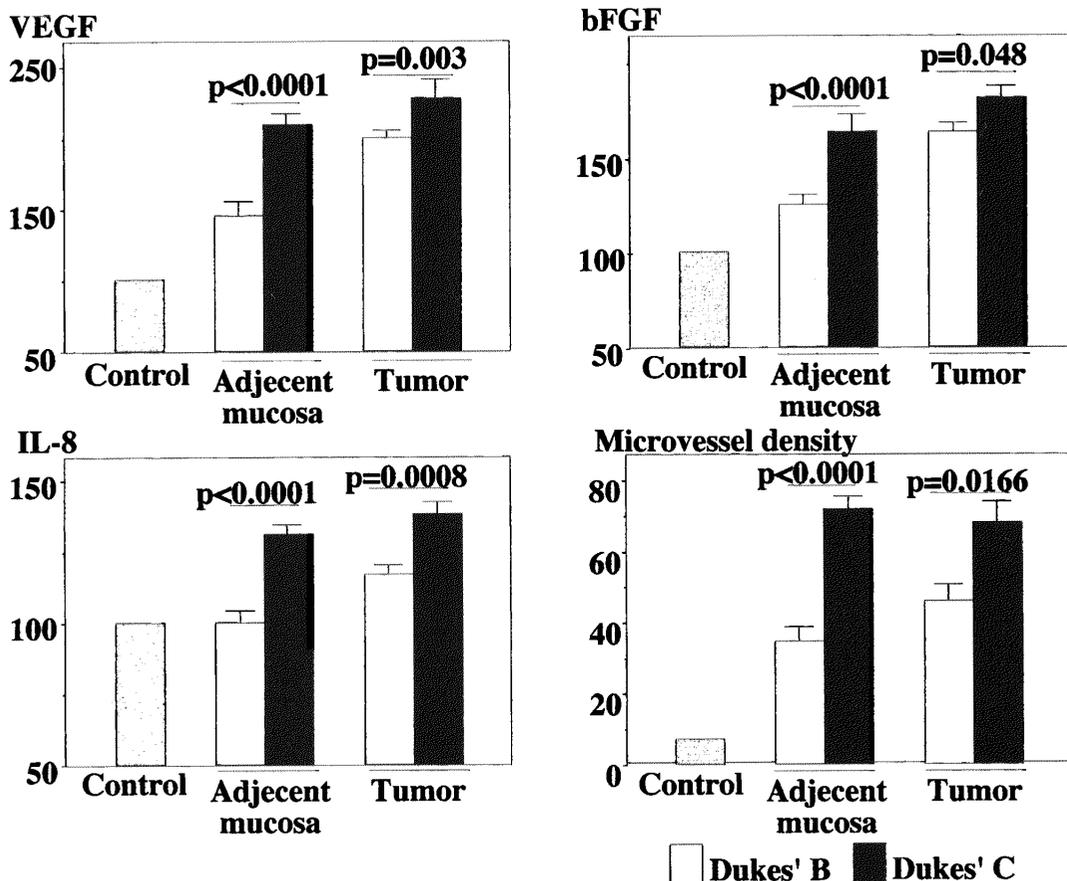


Fig. 6. Expressions of angiogenic factors and microvessel density in human colon cancer and the adjacent mucosa. Expressions of VEGF, bFGF, and IL-8, and microvessel density were significantly higher in Dukes' C colon cancer cases than those in Dukes' B cases.

対照粘膜との間に有意差は見られなかった(Fig. 6). このように、癌周囲粘膜の増殖性変化及び血管新生はマウス大腸癌モデルと同様に癌の持つ転移能をよく反映することが確認された。また、Dukes' B, Cいずれの症例においても、癌周囲粘膜における血管新生因子の発現及び血管密度は腫瘍内部のそれとほぼ相関しており、ヒト大腸癌においても癌周囲粘膜が癌の性質を反映した変化を示すことが明らかとなった¹⁹⁾。

3. 癌周囲粘膜過形成性変化の術前転移能マーカーへの応用

これまでの結果から、大腸癌周囲粘膜の性状は癌の転移能を反映することが明らかとなったが、大腸癌周囲粘膜の持つもう一つの臨床的意義は、癌周囲粘膜が内視鏡的に採取可能であり、これを利用して転移能を術前に予

測することが可能な点である。これまでの多くの報告では、癌悪性度は癌の浸潤先進部における各種マーカーと相関するものの癌表層部では必ずしも先進部と同様の結果を得られない傾向が見られた。切除してはじめて解析可能な癌先進部に対し、内視鏡的に採取可能な癌周囲粘膜はより臨床現場に应用可能であると予想された。これを小規模な prospective study により検討した³³⁾。まず、先の74例の大腸癌症例の検討から、各種マーカーとリンパ節転移の有無との相関を多変量解析にて検討すると、検討した癌における各種因子の発現に比較し癌周囲粘膜におけるKi-67 labeling index がリンパ節転移の有無(Dukes' B vs Dukes' C)に対する最も鋭敏なマーカーであるという結果が得られた。次に転移の有無を判定する cutoff 値を決定したが、先の74例の癌周囲粘膜におけるKi-67 labeling index から、cutoff 値により分割される

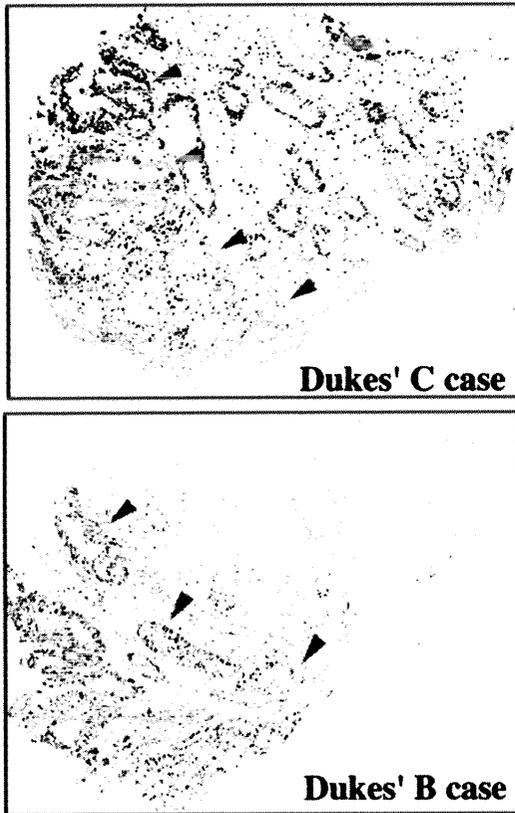


Fig. 7. Ki67 labeling index in the mucosa adjacent to colon cancer in endoscopic biopsy specimens. Ki67 labeling index in the mucosa adjacent to colon cancer (left side of the arrows) was higher in Dukes' C case than that in Dukes' B case.

Dukes' B, C 症例における偽陽性, 偽陰性の頻度が最も低くなるように値を設定したところ, 15%となった. この結果をもとに大腸癌生検標本の癌周囲粘膜における Ki-67 labeling index から転移の有無を術前判定し, 切除標本によりその真偽を確認するという検討を行った (Fig. 7). 術前転移判定を行い得た31例では, Dukes' A-B 症例 16 例中 13 例で, Dukes' C-D 症例 15 例中 12 例で転移の有無を正しく予知し得た (正診率 81%) (表 1). この結果から, 癌周囲粘膜における Ki-67 labeling index を指標とする転移能診断は臨床応用可能であると考えられた³³⁾.

おわりに

今回の内容を図 4 にまとめた. 癌は種々の因子を介して宿主に対し自己に都合のよい変化をもたらし, 自己の存続・進展のため利用していると考えられる. われわれの検討では, IL-15 を中心とする癌-宿主相互関係を通じて, その一端を明らかにすることができたが, この他にも, RAGE/amphoterin 系の関与も注目される^{34, 35)}.

このような検討の結果, 術前転移能診断の可能性が示唆された. また, 癌周囲粘膜が "hyperplasia-derived angiogenesis" とも呼び得る血管新生を通じて癌の進展・転移を促進していると考えられる. 今後は, さらに癌と宿主の微小環境を焦点とした転移促進機構の解明とともに, 癌周囲粘膜あるいは癌-粘膜相互作用を標的とした治療の開発も視野に入れた研究を行いたい.

文 献

- 1) Greaves, P., Filipe, M. I. and Branfoot, A. C. :

Table 1. Summary of the prospective study

	n	False cases	Mean Ki-67 LI		Difference True vs False
			True	False	
Dukes' A	10	1	5.6±3.0	21	-
Dukes' B	6	2	6.3±1.7	41.0±5.7	p=0.1333*
Dukes' C	12	3	25.6±6.8	11.0±4.4	p=0.0091*
Dukes' D	3	0	43.0±2.0	-	-
Total	31	6 (19%)			
Difference Dukes' A-D		p=0.5170**	p=0.0002*		

*Statistical difference was calculated by unpaired Mann-Whitney U test

**Statistical difference was calculated by chi-square test

*Statistical difference was calculated by unpaired Kruskal-Wallis test

- Transitional mucosa and survival in human colorectal cancer. *Cancer* **46** : 764-770, 1980.
- 2) **Schneider, V. A. and Machnik, G.** : Mucosal hyperplasia of the rectum: further diagnostic classification needed. *Zentralbl. Allg. Pathol. Anat.* **131** : 243-247, 1986.
 - 3) **Dawson, P. A. and Filipe, M. I.** : Uptake of ³H-threonine in human colonic mucosa associated with carcinoma: an autoradiographic analysis at the ultrastructural level. *Histochem. J.* **14** : 385-401, 1982.
 - 4) **Filipe, M. I. and Cooke, K. B.** Changes in epithelial mucosubstances in mucosa immediately adjacent to carcinoma of the large intestine, a histochemical, autoradiographic and biochemical study. *In* : Fourth World Congress of Gastroenterology, Copenhagen, 1970.
 - 5) **Balazs, M. and Kovacs, A.** : The 'transitional' mucosa adjacent to large bowel carcinoma—electron microscopic features and myofibroblast reaction. *Histopathology* **6** : 617-629, 1982.
 - 6) **Dawson, P. A. and Filipe, M. I.** : An ultrastructural and histochemical study of the mucus membrane adjacent to and remote from carcinoma of colon. *Cancer* **37** : 2388, 1976.
 - 7) **Filipe, M. I. and Branfoot, A. C.** : Abnormal patterns of mucus secretion in apparently normal mucosa of large intestine with carcinoma. *Cancer* **34** : 282, 1974.
 - 8) **Filipe, M. I. and Cooke, K. B.**: Changes in composition of mucin in the mucosa adjacent to carcinoma of the colon as compared with the normal: a biochemical investigation. *J. Clin. Path.* **27** : 315, 1974.
 - 9) **Shamsuddin, A. K., Weiss, L., Phelps, P. C. and Trump, B. F.** : Colon epithelium. IV. Human colon carcinogenesis. Changes in human colon mucosa adjacent to and remote from carcinomas of the colon. *J. Natl. Cancer Inst.* **66** : 413-419, 1981.
 - 10) **Mommers, E. C., van Diest, P. J., Leonhart, A. M., Meijer, C. J. and Baak, J. P.** : Expression of proliferation and apoptosis-related proteins in usual ductal hyperplasia of the breast. *Hum. Pathol.* **29** : 1539-1545, 1998.
 - 11) **Kuniyasu, H., Abbruzzese, J. L., Cleary, K. R. and Fidler, I. J.** : Induction of ductal and stromal hyperplasia by basic fibroblast growth factor produced by human pancreatic carcinoma. *Int. J. Oncol.* **19** : 681-685, 2001.
 - 12) **Guan, R. J., Fu, Y., Holt, P. R. and Pardee, A. B.** : Association of K-ras mutations with p16 methylation in human colon cancer. *Gastroenterology* **116** : 1063-1071, 1999.
 - 13) **Sawady, J., Friedman, M. I., Katzin, W. E. and Mendelsohn, G.** : Role of the transitional mucosa of the colon in differentiating primary adenocarcinoma from carcinomas metastatic to the colon. An immunohistochemical study. *Am. J. Surg. Pathol.* **15** : 136-144, 1991.
 - 14) **Filipe, M. I.** : Mucous secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. A morphological and histochemical study. *Br. J. Cancer* **32** : 60-77, 1975.
 - 15) **Franzin, G., Grigioni, W. F., Dina, R., Scarpa, A. and Zamboni, G.** : Mucin secretion and morphological changes of the mucosa in non-neoplastic diseases of the colon. *Histopathology* **7** : 707-718, 1983.
 - 16) **Isaacson, P. and Attwood, P. R.** : Failure to demonstrate specificity of the morphological and histochemical changes in mucosa adjacent to colonic carcinoma (transitional mucosa). *J. Clin. Pathol.* **32** : 214-218, 1979.
 - 17) **Lanza, G. J., Altavilla, G., Cavazzini, L. and Negrini, R.** : Colonic mucosa adjacent to adenomas and hyperplastic polyps—a morphological and histochemical study. *Histopathology* **9** : 857-873, 1985.
 - 18) **Higgins, L. M., Frankel, G., Connerton, I., Goncalves, N. S., Dougan, G. and MacDonald, T. T.** : Role of bacterial intimin in colonic hyperplasia and inflammation. *Science* **285** : 588-591, 1999.
 - 19) **Kuniyasu, H., Yasui, W., Shinohara, H., Yano, S., Ellis, L. M., Wilson, M. R., Bucana, C. D., Rikita, T., Tahara, E. and Fidler, I. J.** : Induction of angiogenesis by hyperplastic colonic mucosa adjacent to colon cancer. *Am. J. Pathol.* **157**: 1523-1535, 2000.
 - 20) **Fidler, I. J.** : Rationale and methods for the use of nude mice to study the biology and therapy

- of human cancer metastasis. *Cancer Meta. Rev.* **5** : 29-49, 1986.
- 21) **Fidler, I. J.** : Orthotopic implantation of human colon carcinomas into nude mice provides a valuable model for the biology and therapy of metastasis. *Cancer Meta. Rev.* **10** : 229-243, 1991.
- 22) **Fidler, I. J.** : Critical factors in the biology of human cancer metastasis: Twenty-eighth G. H. A. Clowes memorial award lecture. *Cancer Res.* **50**: 6130-6138, 1990.
- 23) **Morikawa, K., Walker, S. M., Jessup, M. and Fidler, I. J.** : *In vitro* selection of highly metastatic cells from surgical specimens of different primary human colon carcinomas implanted into nude mice. *Cancer Res.* **48** : 1943-1948, 1988.
- 24) **Morikawa, K., Walker, S. M., Nakajima, M., Pathak, S., Jessup, J. M. and Fidler, I. J.** : Influence of organ environment on the growth, selection, and metastasis of human colon carcinoma cells in nude mice. *Cancer Res.* **48** : 6863-6871, 1988.
- 25) **Bielenberg, D. R., Bucana, C. D., Sanchez, R., Donawho, C. K., Kripke, M. L. and Fidler, I. J.** : Molecular regulation of UVB-induced cutaneous angiogenesis. *J. Invest. Dermatol.* **111** : 864-872, 1998.
- 26) **Carson, W. E., Giri, J. G., Lindemann, M. J., Linnett, M. L., Ahdieh, M., Paxton, R., Anderson, D., Eisenmann, J., Grabstein, K. and Caligiuri, M. A.** : Interleukin (IL)-15 is a novel cytokine that activates human natural killer cells via components of the IL-2 receptor. *J. Exp. Med.* **180** : 1395-1403, 1994.
- 27) **Carson, W. E., Fehniger, T. A., Haldar, S., Eckhert, K., Lindemann, M. J., Lai, C. F., Croce, C. M., Baumann, H. and Caligiuri, M. A.** : A potential role for interleukin-15 in the regulation of human natural killer cell survival. *J. Clin. Invest.* **99** : 937-943, 1997.
- 28) **Inagaki-Ohara, K., Nishimura, H., Mitani, A. and Yoshikai, Y.** : Interleukin-15 preferentially promotes the growth of intestinal intraepithelial lymphocytes bearing gamma delta T cell receptor in mice. *Eur. J. Immunol.* **27** : 2885-2891, 1997.
- 29) **Podolsky, D. K.** : Healing the epithelium: solving the problem from two sides. *J. Gastroenterol.* **32** : 122-126, 1997.
- 30) **Gusella, J. F. and Podolsky, D. K.** : Inflammatory bowel disease: is it in the genes? *Gastroenterology* **115** : 1286-1289, 1998.
- 31) **Kuniyasu, H., Oue, N., Nakae, D., Tsutsumi, M., Denda, A., Tsujiuchi, T., Yokozaki, H. and Yasui, W.** : Interleukin-15 expression is associated with malignant potential in colon cancer cells. *Pathobiol.* **69** : 86-95, 2001.
- 32) **Kuniyasu, H.** : submitted data.
- 33) **Kuniyasu, H., Oue, N., Shigeishi, H., Kato, Y., Yokozaki, H. and Yasui, W.** : Prospective study of Ki-67 labeling index in the mucosa adjacent to cancer as a marker for colorectal cancer metastasi. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **20** : 543-548, 2001.
- 34) **Kuniyasu, H., Oue, N., Wakikawa, A., Shigeishi, H., Matsutani, N., Kuraoka, K., Ito, R., Yokozaki, H. and Yasui, W.** : Expression of receptors for advanced glycation end products (RAGE) is closely associated with invasive and metastatic activity of gastric cancer. *J. Pathol.* **196** : 163-170, 2002.
- 35) **Kuniyasu, H.** : submitted data.