

腫瘍発生頻度の解析および Azan 染色を施し間質と上皮成分を対比させた標本を用いて前立腺上皮病変の定量解析を行った。更に、 γ -トコフェロールによる細胞増殖抑制効果の機序を解明する目的で、腹葉前立腺組織を用いてアポトーシス関連因子および細胞増殖関連因子についてウエスタン解析を行った。また被検物質による性ホルモンに対する影響を確認するため、血清中テストステロンおよびエストラジオール(E2)濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験については名古屋市立大学動物実験委員会の許可を得、動物実験指針を遵守して行い、動物愛護に十分配慮して行った。

C. 研究結果

実験期間中における体重、摂餌量、屠殺時の最終体重および前立腺各葉、肝、腎、精巢の相対臓器重量、血清中テストステロンおよびエストラジオール(E2)濃度のいずれにおいても実験群と対照群の間に有意差は認められなかった。前立腺癌発生頻度は腹葉では全群で 100%、背葉では 70%以上と群間で明らかな差は認められなかった。しかし腺腔を含めた腺房面積に対する腺上皮の比率を算出する事により前立腺腫瘍性病変の進展度を定量した結果、腹葉および背葉において γ -トコフェロール投与により有意な用量相関性を示す前立腺癌増殖抑制効果が認められた。腹葉前立腺におけるアポトーシス関連因子および細胞増殖関連因子の発現量をウエスタン解析した結果、Caspase 3 および 7 の活性化が γ -トコフェロール投与群で用量依存的に観察されたが、

Cyclin D1 については明らかな変化は認められなかった。

D. 考察

α -トコフェロールの生物活性を 100 とした場合、 γ -トコフェロールの活性は 10 程度とされているが、今回の実験で同じ 50mg/kg diet でラットに投与した場合、前立腺癌進展に対する抑制効果は α -トコフェロール< γ -トコフェロールであり、従来から知られているトコフェロールの持つ抗酸化作用とは別な機序で前立腺癌抑制効果が発揮されたものと推察される。前立腺癌細胞株である LNCaP に対する増殖抑制実験では α -トコフェロールに比較して γ -トコフェロールでは約 1/1000 の濃度で効果を示すことが報告されており、今回の結果は過去の *in vitro* のデータとよく合致している。フィンランドで行われた ATBC study では α -トコフェロールを 50mg/day 服用することにより前立腺癌の発症率を 32%減少させているが、前立腺癌化学予防は γ -トコフェロールの方が効果的であることを本研究で明らかにしており、ヒト前立腺癌に対する化学予防剤として γ -トコフェロールが非常に有望であることを示している。

E. 結論

ビタミン E の一つである γ -トコフェロールは PB/SV40-Tg ラット前立腺癌の進展に対して明らかな抑制効果を示した。この結果は今までに報告されている疫学的データ、*in vitro* における前立腺癌細胞の増殖抑制効果を支持するデータであり、 γ -トコフェロールはヒト前立腺癌に対する化学予防剤とし

て有望であると考えられる。前立腺癌に対する増殖抑制メカニズムとして、Caspase 3 および 7 を介したアポトーシスの亢進が推察されたが、さらなる検討によって Caspases 3, 7 の上流に存在する γ -トコフェロールの標的分子を特定することにより、ヒト前立腺癌に対する分子標的治療薬の開発にも大きく寄与するものと期待される。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

B. 論文発表

Hokaiwado, N., Asamoto, M., Tsujimura, K., Hirota, T., Ichihara, T., Satoh, T. and Shirai, T. Rapid analysis of gene expression changes caused by liver carcinogens and chemopreventive agents using a newly developed three-dimensional microarray system. *Cancer Sci.*, 95: 123-130, (2004)

Hikosaka, A., Asamoto, M., Hokaiwado, N., Kato, K., Kuzutani, K., Kohri, K. and Shirai, T. Inhibitory effects of soy isoflavones on rat prostate carcinogenesis induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]-pyridine (PhIP). *Carcinogenesis*, 25: 381-387, (2004)

Inaguma, S., Takahashi, S., Imaida, K., Suzuki, S. and Shirai, T. p-Nonylphenol pretreatment during the late neonatal period has no effect on 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-induced prostate carcinogenesis in male F344 rats. *Cancer Lett.*,

212: 159-166, (2004)

Ohnishi, H., Asamoto, M., Tsujimura, K., Hokaiwado, N., Takahashi, S., Ogawa, K., Kuribayashi, M., Ogiso, T., Okuyama, H. and Shirai, T. Inhibition of cell proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma cells by nobiletin, a dietary phytochemical, associated with apoptosis and characteristic gene expression. *Cancer Sci.*, 95: 936-942, (2004)

Ito A., Asamoto M., Hokaiwado N., Takahashi S. and Shirai, T. Tbx3 expression is related to apoptosis and cell proliferation in rat bladder both hyperplastic epithelial cells and carcinoma cells. *Cancer Lett.* 219(1):105-12, (2005), in press.

C. 学会発表

高橋智、稲熊慎吾、鈴木周五、神鳥仁志、白井智之、ラット前立腺癌におけるアンドロゲンレセプター遺伝子プロモーターのメチル化解析、第 63 回日本癌学会学術総会、福岡、(2004 年 9 月)

杉浦諭、高橋智、小川久美子、朝元誠人、佐藤慎哉、白井智之、PB/SV40 T antigen transgenic rat 前立腺発癌に対する γ -トコフェロールの影響、第 63 回日本癌学会学術総会、福岡、(2004 年 9 月)

白井智之、彦坂敦也、外岩戸尚美、加藤浩司、小川久美子、朝元誠人、大豆イソフラボン抽出物の 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)誘発ラット前立腺癌に対する抑制効果、第 11 回日本がん予

防研究会・第 27 回日本がん疫学研究会、東京、（2004 年 7 月）

なし

杉浦諭、村崎敏也、高橋智、唐明希、朝元誠人、白井智之、 γ -トコフェロールの PB/SV40 T antigen transgenic rat 前立腺発がんに対する抑制効果、第 21 回日本毒性病理学会、浜松、（2005 年 1 月）

Azman Seeni、高橋智、唐明希、杉浦諭、白井智之、Effect of Doxazosin on Epithelial Hyperplasia in Ventral Prostate of Spontaneously Hypertensive Rats (SHR)、第 21 回日本毒性病理学会、浜松、（2005 年 1 月）

神鳥仁志、鈴木周五、朝元誠人、村崎敏也、唐明希、小川久美子、白井智之、Probasin-SV40 Tag トランスジェニックラットのの前立腺癌発生に対するアトラジンの抑制作用とカロリー摂取量低下との関連、第 21 回日本毒性病理学会、浜松、（2005 年 1 月）

Sugiura, S., Takahashi, S., Murasaki, T., Said, M.M., Suzuki, S., Abe, M., Asamoto, M. and Shirai, T., Suppressive effect of gamma-tocopherol on prostate cancer development in PB/SV40 T antigen transgenic rats. 44th Annual meeting of the Society of Toxicology, New Orleans, U.S.A., (March 2005)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

口腔及び食道発がん抑制物質の検索
分担研究者 田中 卓二 金沢医科大学教授

研究要旨 COX 阻害剤を用いたより効果的な口腔発がん阻止方法を探るために、選択的 COX-1 阻害剤 mofezolac、選択的 COX-2 阻害剤 nimesulide および非ステロイド系抗炎症剤 piroxicam による口腔発がんへの影響を 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) 誘発ラット舌発がんモデルで比較、検討した。その結果、舌扁平上皮がんの抑制作用は piroxicam > nimesulide > mofezolac の順に強かった。なお、mofezolac の舌発がん抑制作用には用量相関をみなかった。

A. 研究目的

Cyclooxygenase (COX) 経路の活性化は大腸を含む諸臓器における発がんに関与しており、特にプロスタグランジン_{E2}(PGE₂)の過剰産生は、がんの発生や進展に深く関わっている。口腔がんにおいても同様に、腫瘍組織においてPGE₂の過剰産生が報告され、非ステロイド系抗炎症剤による口腔発がん抑制が知られている。近年、副作用の少ないCOX-2阻害剤による発がん阻止が多数報告されているが、大腸においてCOX-1の発がんへの関与が示唆された。そこで、本分担研究では、より効果的な口腔発がん阻止方法を探るために、選択的COX-1阻害剤 (mofezolac)、選択的COX-2阻害剤 (nimesulide) および非ステロイド系抗炎症剤 (piroxicam) による口腔発がんへの影響を4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) 誘発ラット舌発がんモデルで比較検討した。

B. 研究方法

4週齢の雄性F344ラット124匹を1週間の検疫の後、実験に供した。実験群は、4-NQOのみの群 (22匹)、4-NQO→600 ppm mofezolac 群 (19匹)、4-NQO→1200 ppm mofezolac 群 (20匹)、4-NQO→400 ppm nimesulide 群 (20匹)、4-NQO→150 ppm piroxicam 群 (19匹)、1200 ppm

mofezolac 群 (8匹)、400 ppm nimesulide 群 (8匹)、150 ppm piroxicam 群 (8匹)、無処置群 (8匹) の9群とした。4-NQOは20 ppmの濃度で、8週間飲水投与し、被験薬剤は、4-NQO投与終了1週間より17週間混餌投与した。実験期間は26週とし、実験終了時に舌および主要臓器 (肝、腎、肺、心) の病理組織学的解析を行った。

(倫理面への配慮) 動物実験にあたっては、金沢医科大学の動物実験指針に従い実験動物委員会の承認に基づき実験を実施した。また、動物への発がん物質の投与や屠殺時には苦痛を軽減し、動物愛護の精神を充分考慮した。

C. 研究結果

舌扁平上皮がんの発生頻度 (個数/舌) は、4-NQOのみの群:73% (1.14±0.89)、4-NQO→600 ppm mofezolac 群:36% (0.53±1.02)、4-NQO→1200 ppm mofezolac 群:55% (0.60±0.82)、4-NQO→400 ppm nimesulide 群:27% (0.20±0.41)、4-NQO→150 ppm piroxicam 群:22% (0.21±0.54) であり、発生頻度、発生個数とも被験薬剤の混餌投与により有意 (P<0.05) に低下した。また、被験薬剤の混餌投与により舌高度異形成病変の発生個数が有意 (P<0.05) に低下していた。一方、被験薬剤のみの投与群、無処置群に舌腫瘍の

発生はなく、被験薬剤のみの投与群に毒性を示唆する臨床徴候や腫瘍臓器における組織学的変化を認めなかった。

D. 考察

本研究において、選択的COX-1阻害剤(mofezolac)、選択的COX-2阻害剤(nimesulide)および非ステロイド系抗炎症剤(piroxicam)はいずれも4-NQO誘発ラット舌発がんを抑制することが判明した。被験薬剤の抑制効果は、piroxicam > nimesulide > mofezolac (600 ppm > 1200 ppm)とCOX-1及びCOX-2活性を阻害する非ステロイド系抗炎症剤piroxicamに強かった。また、乳腺や大腸における発がんと同様に、COX-1の舌発がんへの関与が示唆されたが、mofezolacの抑制作用に用量相関はなかった。現在、得られた腫瘍組織や前がん性病変dysplasia、背景舌上皮におけるCOX-2、iNOS、 β -catenin、GST-P、TGF- β の発現変化解析、cyclin D1陽性細胞測定による細胞増殖活性変化の解析、PGE₂量の測定などを行い抑制機構の解析を実施しているところである。また、今後、2-3薬剤によるcombination treatmentの影響を検討する予定であり、さらに、遺伝子導入ラットあるいはマウスを用いた検討を行う予定である。

E. 結論

被験薬剤はいずれも4-NQO誘発ラット舌発がんを抑制した。その抑制作用は、piroxicam>nimesulide>mofezolacの順に強かった。Mofezolacの抑制作用に用量相関を認めなかったが、COX-1の舌発がんへの関与が示唆された。

F. 健康危険情報

本研究を実施するに当たり、実験者の健康への影響はなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I.-

S., Tanaka, T. and Hirose, M. Potent chemopreventive agents against pancreatic cancer. *Current Cancer Drug Targets*, 4: 373-384 (2004)

2) Nishikawa, A., Mori, Y., Lee, I.-S., Tanaka, T. and Hirose, M. Cigarette smoking, metabolic activation and carcinogenesis. *Curr. Drug Metab.*, 5: 363-373 (2004)

3) Kagawa, M., Sano, T., Ishibashi, N., Hashimoto, M., Okuno, M., Moriwaki, H., Suzuki, R., Kohno, H. and Tanaka, T. An acyclic retinoid, NIK-333, inhibits *N*-diethylnitrosamine-induced rat hepatocarcinogenesis through suppression of TGF- α expression and cell proliferation. *Carcinogenesis*, 25: 979-985 (2004)

4) Murakami, A., Tanaka, T., Lee, J.Y., Surh, Y.J., Kim, H.W., Kawabata, K., Nakamura, Y., Jiwajinda, S., and Ohigashi, H. Zerumbone, a sesquiterpene in subtropical ginger, suppresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice. *Int. J. Cancer*, 110: 481-490 (2004)

5) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S., Sasaki, K., Yoshimura, T., Wada, K. and Tanaka, T. Preventive effects of extract of leaves of ginkgo (*Ginkgo biloba*) and its component biobalide on azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Cancer Lett.*, 210: 159-169 (2004)

6) Hirose, Y., Hata, K., Kuno, T., Yoshida, K., Sakata, K., Yamada, Y., Tanaka, T., Reddy, B.S. and Mori, H. Enhancement of development of azoxymethane-induced colonic premalignant lesions in C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Carcinogenesis*, 25: 821-825 (2004)

7) Sakata, K., Hara, A., Hirose, Y., Yamada, Y., Kuno, T., Katayama, M., Yoshida, K.,

- Zheng, Q., Murakami, A., Ohigashi, H., Ikemoto, K., Koshimizu, K., Tanaka, T. and Mori, H. Dietary supplementation of the citrus antioxidant auraptene inhibits N,N-diethylnitrosamine-induced rat hepatocarcinogenesis. *Oncology*, 66: 244-252 (2004)
- 8) Kohno, H., Yasui, Y., Suzuki, R., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T. Dietary seed oil rich in conjugated linolenic acid from bitter melon inhibits azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis through elevation of colonic PPAR γ expression and alteration of lipid composition. *Int. J. Cancer*, 110: 896-901 (2004)
- 9) Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Sci.*, 95: 481-486 (2004)
- 10) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S., Okada, T. and Tanaka, T. Preventive effects of powdered broccoli sprout on azoxymethane-induced rat colonic aberrant crypt foci. *J. Toxicol. Pathol.*, 17: 119-126 (2004)
- 11) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S. and Tanaka, T. Sequential observations on the occurrence of preneoplastic and neoplastic lesions in mouse colon treated with azoxymethane and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci.*, 95: 721-727 (2004)
- 12) Hosokawa, M., Kudo, M., Maeda, H., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K. Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPAR γ ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1675: 113-119 (2004)
- 13) Yoshida, M., Katashima, S., Ando, J., Tanaka, T., Uematsu, F., Nakae, D. and Maekawa, A. Dietary indole-3-carbinol promotes endometrial adenocarcinoma development in rats initiated with N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, with induction of cytochrome P450s in the liver and consequent modulation of estrogen metabolism. *Carcinogenesis*, 25: 2257-2264 (2004)
- 14) Tanaka, T., Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S., Takahashi, M. and Wakabayashi, K. Colonic adenocarcinomas rapidly induced by the combined treatment with 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine and dextran sodium sulfate in male ICR mice possess β -catenin gene mutations and increases immunoreactivity for β -catenin, cyclooxygenase-2, and inducible nitric oxide synthase. *Carcinogenesis*, 26: 229-238 (2005)
- 15) Suzuki, R., Kohno, H., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., Yano, M., Tokuda, H., Nishino, H. and Tanaka, T. Citrus nobiletin inhibits azoxymethane-induced large bowel carcinogenesis in rats. *BioFactors*, 20:111-114 (2005)
- 16) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S. and Tanaka, T. Dose-dependent promoting effect of dextran sodium sulfate on mouse colon carcinogenesis initiated with azoxymethane. *Histol. Histopathol.*, 20:483-492 (2005)
- 17) Kohno, H., Suzuki, R., Sugie, S. and Tanaka, T. β -Catenin mutations in a mouse model of inflammation-related colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci.*, 96: 69-76 (2005)
- 18) Sugie, S., Ohnishi, M., Ushida, J., Yamamoto, T., Hara, A., Koide, A., Mori, Y., Kohno, H., Suzuki, R., Tanaka, T.

- Wakabayashi, K. and Mori, H. Effect of α -naphthyl isothiocyanate on 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)-induced mammary carcinogenesis in rats. *Int. J. Cancer*, 110: in press (2005)
- 19) Yoshida, K., Tanaka, T., Hirose, Y., Yamaguchi, F., Kohno, H., Toida, M., Hara, A., Sugie, S., Shibata, T. and Mori, H. Dietary garcinol inhibits 4-nitroquinoline 1-oxide-induced tongue carcinogenesis in rats. *Cancer Lett.*, 215: in press (2005)
2. 学会発表
- 1) Tanaka, T., Kohno, H., Suzuki, R. and Sugie, S., A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. 6th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, Hawaii, (January 2004)
- 2) Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., Sugie, S. and Tanaka, T., Seed oil of bitter melon rich in conjugated linolenic acid inhibits azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis. 6th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, Hawaii, (January 2004)
- 3) Kohno, H., Suzuki, R., Sugie, S. and Tanaka, T., Lack of modifying effects of 4-*tert*-octylphenol and benzyl butyl phthalate on 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-induced prostate carcinogenesis in rats. Joint International Meeting of The Japanese Society of Toxicologic Pathology & The International Federation of Societies of Toxicologic Pathology, Kobe, (February 2004)
- 4) Tanaka, T., Kohno, H., Suzuki, R. and Sugie, S., No modifying effects of an estrogenic compound atrazine on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced ovarian carcinogenesis in rats. Joint International Meeting of The Japanese Society of Toxicologic Pathology & The International Federation of Societies of Toxicologic Pathology, Kobe, (February 2004)
- 5) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S. and Tanaka, T., Dietary protocatechuic acid inhibits progression of chemically induced rat tongue carcinogenesis. Joint International Meeting of The Japanese Society of Toxicologic Pathology & The International Federation of Societies of Toxicologic Pathology, Kobe, (February 2004)
- 6) Hirose, Y., Zheng, Q., Murakami, A., Ohigashi, H., Tanaka, T. and Mori, H., Growth inhibition of colon cancer cells by auraptene is not correlated with the modulation of beta-catenin TCF signaling. 95th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Orlando, FL, (March 2004)
- 7) Tanaka, T., Kohno, H., Suzuki, R. and Sugie, S., Rapid induction of colonic neoplasms in ICR mice treated with azoxymethane followed by dextran sodium sulfate. 95th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Orlando, FL, (March 2004)
- 8) Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., Sugie, S. and Tanaka, T., Dietary pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid increases PPAR γ expression and decreases malignancy induced by azoxymethane in rats. 95th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Orlando, FL, (March 2004)

- 2004)
- 9) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T., Dietary pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid inhibits azoxymethane-induced carcinogenesis in rats. 95th AOCs Annual Meeting & Expo, AOCs/JOCS Joint Symposium on Biosciences, Cincinnati, OH, (May 2004)
 - 10) Yasui, Y., Suzuki, R., Hosokawa, M., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K., Chemopreventive effect of bitter melon seed oil rich in conjugated linolenic acid. 95th AOCs Annual Meeting & Expo, AOCs/JOCS Joint Symposium on Biosciences, Cincinnati, OH, (May 2004)
 - 11) 甲野裕之、杉江茂幸、田中卓二、フタル酸ブチルベンジルおよび 4-tert-オクチルフェノールのラット前立腺発がんに対する修飾効果、第 93 回日本病理学会総会、札幌、(2004 年 6 月)
 - 12) 杉江茂幸、甲野裕之、田中卓二、トリアジン系除草剤 atrazine のラット卵巣発がんに対する修飾効果、第 93 回日本病理学会総会、札幌、(2004 年 6 月)
 - 13) 田中卓二、甲野裕之、杉江茂幸、炎症関連マウス大腸発がんモデルの作出と誘発大腸腺がんにおける β -catenin 変異、第 93 回日本病理学会総会、札幌、(2004 年 6 月)
 - 14) 甲野裕之、鈴木里加子、杉江茂幸、田中卓二、Silymarin によるラット前立腺発がんに対する修飾効果、第 11 回日本がん予防研究会、東京、(2004 年 7 月)
 - 15) 杉江茂幸、甲野裕之、鈴木里加子、田中卓二、加藤恵三、吉田浩二郎、北折奈美、盛 弘強、坂田圭子、久野寿也、片山雅貴、森 秀樹、嶋田昇二、パン酵母、亜鉛、亜鉛強化パン酵母の 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) 誘発舌発がんにおける抑制効果、第 11 回日本がん予防研究会、東京、(2004 年 7 月)
 - 16) 鈴木里加子、甲野裕之、杉江茂幸、田中卓二、安井由美子、細川雅史、宮下和夫、ザクロ種子油 (PGO) による azoxymethane (AOM) 誘発ラット大腸発がん抑制効果、第 11 回日本がん予防研究会、東京、(2004 年 7 月)
 - 17) 甲野裕之、鈴木里加子、安井由美子、細川雅史、杉江茂幸、宮下和夫、田中卓二、ザクロ種子油による azoxymethane 誘発ラット大腸発がんの抑制、第 15 回日本消化器癌発生学会総会、札幌、(2004 年 8 月)
 - 18) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S., Murakami, A., Yano, M., Ohigashi, H. and Tanaka, T., Citrus nobiletin inhibits azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis. 228th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, (August 2004)
 - 19) 甲野裕之、鈴木里加子、杉江茂幸、田中卓二、Heterocyclic amines/dextran sodium sulfate 誘発マウス大腸発がん β -catenin 変異変異の解析、第 19 回発癌病理研究会、諏訪、(2004 年 8 月)
 - 20) 田中卓二、特別講演 II 「食べ物と病気」、日本尿路結石症学会第 14 回学術集会、金沢、(2004 年 8 月)
 - 21) 北折奈美、杉江茂幸、加藤恵三、吉田浩二郎、嶋田昇二、盛 弘強、坂田佳子、久野壽也、片山雅貴、甲野裕之、鈴木里加子、田中卓二、森 秀樹、パン酵母、亜鉛、亜鉛強化パン酵母の 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) 誘発舌発がんにおける抑制効果、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
 - 22) 牧田浩樹、吉田浩二郎、柴田敏之、田中卓二、武藤倫弘、若林敬二、EPI アンタゴニスト (ONO-8711) による 4-NQO 誘発ラット舌発がん抑制、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
 - 23) 原 明、坂田佳子、Zhi Huilan, Sheng Hong Qiang、北折奈美、久野寿也、山田泰広、

- 広瀬善信、森 秀樹、田中卓二、柑橘類由来 Auraptene による DEN 誘発肝ガン β -catenin 遺伝子変異の抑制、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 24) 盛 弘強、鄭 僑、廣瀬善信、坂田佳子、村上 明、大東 肇、田中卓二、原 明、森 秀樹、Auraptene による大腸がんにおける細胞増殖抑制への β -catenin-TCF シグナルの関与、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 25) 鈴木里加子、高橋真美、甲野裕之、杉江茂幸、若林敬二、田中卓二、ワークショップ 1-4 発がん過程 (1) Heterocyclic amines (HCAs)/dextran sodium sulfate (DSS) 誘発マウス大腸発がん、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 26) 山口かずえ、甲野裕之、鈴木里加子、杉江茂幸、田中卓二、DMH および DSS を用いた炎症関連マウス大腸発がんモデルの作製、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 27) 甲野裕之、鈴木里加子、杉江茂幸、田中卓二、Azoxymethane (AOM)/dextran sodium sulfate (DSS) 誘発マウス大腸発がんにおける DSS 用量の影響と経時的変化、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 28) 杉江茂幸、甲野裕之、鈴木里加子、田中卓二、森 秀樹、若林敬二、MeIQx の高脂肪食混餌投与によるラットにおける発癌性の検討、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 29) 田中卓二、シンポジウム 3-1 がん予防と治療の最前線 天然化合物を活用したがん化学予防、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 30) 津田洋幸、飯郷正明、高須賀信夫、松田栄治、関根一則、大久保重俊、大島 浩、深町勝巳、田中卓二、福島昭治、シンポジウム 1-5 発がん機構に基づいたがん予防戦略 多機能生理活性物質によるがん予防 ラクトフェリンからのメッセージ、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)
- 31) 田中卓二、シンポジウム 3 「補完代替医療のエビデンスーその科学的検証 (食品によるがん予防)ー」、第 7 回日本補完代替医療学会学術集会、金沢、(2004 年 10 月)
- 32) 杉江茂幸、山田泰広、釘 僑、森下由起夫、田中卓二、森 秀樹、DL-Alanine の慢性毒性、第 21 回日本毒性病理学会、浜松、(2005 年 1 月)
- 33) 鈴木里加子、高橋真美、甲野裕之、杉江茂幸、若林敬二、田中卓二、2-Amino-1-methyl-6-imidazo[4,5-b]-pyridine (PhIP) あるいは 1,2-dimethylhydrazine (DMH) を用いた炎症関連マウス大腸発がん、第 21 回日本毒性病理学会、浜松、(2005 年 1 月)
- 34) 田中卓二、オーラプテン：ヒトへの応用を目指して、文部科科学省特定領域「発がんと防御シンポジウム-動物発がんヒト発がんの架け橋-」、東京、(2005 年 2 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実案新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

分担研究報告書

肺及び膵臓発がん抑制物質の検索

研究者 堤 雅弘 奈良県立医科大学

研究要旨 ハムスター膵癌発生系において、サメ軟骨から抽出したプロテオグリカンに膵発癌抑制作用があることをみいだし、この抑制作用は内因性のMMPs阻害物質の誘導によることが示唆された。

A. 研究目的

ハムスター膵癌発生系を用いて、発癌抑制物質の検索を行い、サメ軟骨水抽出エタノール沈殿物（SCE）に膵発がん抑制作用があることをみいだした。今回は、SCEに含まれる膵発がん抑制物質の同定と抑制機序を明らかにする目的で検索を行った。

B. 研究方法

サメ軟骨を粉碎し水を加えて抽出した物質を等電点電気泳動し、酸性画分と中性・塩基性画分（SCE-NB）に分け、さらに酸性画分にエタノールを加え沈殿物（SCE-AEP）と上清（SCE-AES）に分け披験物質として用いた。動物実験は雌シリアンハムスターを用い、短期膵癌発生系に従い BOP 投与50日後より披験物質を0.4%濃度で基礎飼料に混じ50日間投与し、膵発癌抑制作用について検

索した。

（倫理面への配慮）

動物実験は奈良医大動物実験施設において同施設の倫理規定を遵守して行った。

C. 研究結果

膵癌の発生頻度は。動物1匹あたりの膵癌発生個数は。膵癌発生は SCE 投与群と SCE-AEP 投与群で対照群に比較し有意に減少していた。

血清の MMP-9 阻害活性の上昇が SCE および SCE-AEP 投与群でみられた。

D. 考察

SCE-AEP の主成分はプロテオグリカンであることから、この物質が膵発癌抑制作用に重要であることが示唆された。

E. 結論

サメ軟骨由来のプロテオグリカンに膵発癌抑制作用があることをみいだ

した。

F. 健康危険情報

動物実験では今回用いたいずれのサメ軟骨抽出物にも明らかな毒性はみられなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tsujiuchi T, Mori T, Amanuma T, Tanaka N, Tsutsumi M. Establishment and characterization of a rat lung adenocarcinoma cell lines with low malignant potential. Cancer Lett. 217: 97-103 (2005)

2. 学会発表

北橋宗、佐藤健司、堤雅弘、岡保夫、辻内俊文、中村考志、大槻 耕三、ハムスター腭がん発生系の鮫軟骨抽出物摂取による血清のマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) -2, 9 阻害活性増加作用、第 63 回日本癌学会総会、福岡、(2004 年 9 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

軟骨魚類から単離されたプロテオグリカンおよびその製造方法

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

分担研究報告書

胃発がん抑制物質の検索

分担研究者 塚本 徹哉 愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部室長

研究要旨

腸上皮化生は胃の前がん病変として多くの研究がなされてきたが、その分子メカニズムは明らかにされていない。一方で、胃がんもその進行とともに胃型から腸型へ推移することが知られている。胃幽門腺分離腺管をAlcian blueおよびparadoxical concanavalin Aの染色性から、胃型（G type）、胃腸混合型（GI-mixed type）および腸型（I type）に分類し、胃・腸で発現する分化マーカーおよび転写因子の発現を検討した。腸上皮化生腺管では、GI-mixed type～I typeへと化生が進行するに従ってMUC5ACやMUC6の発現量が低下し、Sox2発現の段階的低下とよく相関した。逆に化生の出現と共に腸型のマーカーであるMUC2やvillinの発現量が上昇し、Cdxの発現に比例することが明らかとなった。一方、胃がんにおいても、Sox2やCdxの転写因子の制御により、その形質が決定されていることが示唆された。転写因子発現の修復による再生医療と胃がんの予防、あるいは胃がんの個性を重視した治療に貢献する可能性が示唆された。

A. 研究目的

Helicobacter pylori 感染は、慢性萎縮性胃炎、腸上皮化生、胃がん、悪性リンパ腫等様々な疾患と深い関係があることが、疫学的にも実験的にも証明されている。中でも、腸上皮化生は胃の前がん病変として多くの研究がなされてきたが、その分子メカニズムは明らかにされていない。

胃固有の細胞分化を規定する転写因子と細胞の腸への分化を進行させる因子の発現とその制御を理解することは、慢性萎縮性胃炎や腸上皮化生に陥った粘膜上皮を再び胃固有の粘膜形質に修復する可能性にもつながる。一方で、胃がんもその進行とともに胃型から腸型へ推移することが知られているが、その詳細は明らか

ではない。胃型の胃がんと腸型の胃がんを比較し、予後の相違や抗がん剤感受性の違いがあることが明らかになってきており、そのような観点から、胃型、腸型の形質発現制御とその修復を目指す化学予防剤を開発する上での基礎データを得ることを本研究の目的とする。

B. 研究方法

Informed consent を得た胃がん手術症例より、がん部、およびがん部より十分離れ病理組織学的診断の妨げにならない幽門腺粘膜を採取した。非がん部を 30 mM ethylene diamine tetraacetic acid 加 Hanks' balanced solution にて処理後、幽門腺を分離した。胃幽門腺分離腺管を Alcian blue および paradoxical concanavalin A の染色性から、胃型 (G type)、胃腸混合型 (GI-mixed type) および腸型 (I type) に分類した。胃・腸で発現する分化マーカーである MUC5AC および MUC6、MUC2 および villin、胃で発現する high mobility group box 型転写因子 Sox2 および 腸のホメオボックス 遺伝子の Cdx1、2 の mRNA の発現量を acidic ribosomal phosphoprotein PO (ARP) を内部標準とし、相対的定量的 RT-PCR 法により検討した。さらに、抗 MUC5AC

抗体、抗 MUC6 抗体、抗 MUC2 抗体、抗 villin 抗体、抗 Sox2 抗体、抗 Cdx2 抗体を用いて、免疫染色を行いタンパクレベルでの発現部位と量を判定した。同様に、胃がん 50 例についても、胃・腸型マーカーの発現により、G, GI-mixed, I type に分類し、いずれの発現も見られないものを N type とし、定量的 RT-PCR により解析した。胃がん細胞株より、total RNA を採取し、ARP を内部標準として、MUC5AC と Sox2 の発現について比較検討した。

C. 研究結果

正常胃粘膜の MUC5AC, MUC6 mRNA の発現量、腸の MUC2, villin-1 mRNA の発現量をそれぞれ 100% とすると、G type の腺管のそれぞれの相対的発現量は、99.8% (61.1% [Ave-SE]-162.9% [Ave+SE]), 129.9% (94.2-179.1%), 0.0222% (0.0125-0.0396%), 6.67% (3.11-14.3%) であった。GI-mixed type では、16.3% (10.4-25.8%), 51.8% (40.3-66.7%), 16.0% (12.0-21.5%), 74.0% (60.6-90.4%)、I type では、1.33% (0.723-2.44%), 2.31% (1.48-3.61%), 73.2% (55.8-95.9%), 133.1% (109.7-161.5%) であった。一方、Sox2, Cdx1, Cdx2 の転写因子群の発現は、G type の腺管で、

125.9% (93.5%-169.5%), 0.425% (0.245-0.736%), 1.34% (0.873-2.04%)であったが、GI-mixed type では、48.9% (39.3-60.8%), 46.4% (37.0-58.1%), 12.5% (10.5-15.0%)、I type では、9.72% (5.00-18.9%), 51.9% (39.3-68.5%), 19.4% (16.0-23.5%)であった。Sox2 は、G から GI ($P<0.01$)、GI から I ($P<0.005$)と有意に段階的に低下した。逆に、Cdx1 は、GI で発現上昇し($P<0.0001$)、Cdx2 は、GI ($P<0.0001$)、I ($P<0.05$)へと段階的に上昇した。免疫組織化学的検討の結果、Sox2 は、MUC5AC 陽性の腺窩上皮細胞の核に存在し、MUC2 や villin 陽性の腸上皮化生粘膜上皮細胞の核では発現の低下が見られた。逆に Cdx2 は、胃腺窩上皮細胞には存在しなかったが、腸上皮化生を伴った上皮細胞の核に異所性の発現が見られた。

胃がん 50 例の免疫組織化学的検討の結果、G 型 11 例、GI 型 10 例、I 型 12 例、N 型 17 例に分類された。転写レベルの検討では、G, GI-mixed, I, N type の胃がんで Sox2 はそれぞれ 100.0% [62.8%-159%], 100.6% [62.2%-163%], 14.4% [8.09%-25.6%], 13.5% [7.1%-25.7%]であった。MUC5AC は、100.0 [44.6%-225%], 73.0% [21.3%-250%], 1.17% [0.33%-4.1%], 1.57% [0.41%-6.1%],

また、MUC6 は、100.0% [30.2%-331%], 83.7% [27.1%-258%], 2.13% [0.84%-5.41%], 2.51% [0.78%-8.1%]であった。Sox2 転写量は I や N type のがんで G や GI に比較して有意に低下していた($P<0.05$)。逆に腸型のマーカーは、Cdx1 は、1.88% [0.67%-5.3%], 5.3% [1.7%-16.3%], 100.0% [50.7%-197%], 1.5% [0.70%-3.1%]、Cdx2 は、11.2% [5.7%-21.9%], 51.7% [27.5%-97.4%], 100.0% [52.9%-188.7%], 23.4% [14.7%-37.2%]。MUC2 は、6.3% [2.0%-20.1%], 76.8% [20.7%-285.1%], 100.0% [37.7%-266.5%], 2.5% [1.1%-5.5%]。villin-1 は、45.0% [31.3%-64.7%], 45.3% [23.8%-86.3%], 100.0% [69.6%-145%], 15.4% [8.5%-27.8%]であった。Cdx1 は I type で、Cdx2 は、GI-mixed と I type で上昇した。腸上皮化生と同様に、胃がんにおいても、胃腸混合型から腸型へと進行するに従って MUC5AC や MUC6 の発現量が低下し、Sox2 発現の低下とよく相関した。逆に腸型化と共に腸型のマーカーである MUC2 や villin の発現量が上昇し、Cdx の発現に相関することが明らかとなった。

胃がん細胞株を用いて、MUC5AC と Sox2 の発現について比較検討したところ、KATOIII は、その両者の

発現が見られたが、AGS では、Sox2 の発現のみ観察された。また、MKN45 は、少量の Sox2 を発現し、HSC57 および MKN28 は、いずれも発現していなかった。

D. 考察

腸上皮化生腺管では、GI-mixed type から I type へと化生が進行するに従って MUC5AC や MUC6 の発現量が低下し、Sox2 発現の段階的低下とよく相関した。逆に化生の出現と共に腸型のマーカーである MUC2 や villin の発現量が上昇し、Cdx1, 2 の異所性発現に比例することが明らかとなった。G type の腸上皮化生の認められなかった幽門腺管で villin の発現亢進が観察されたが、goblet cell の出現以前に villin や alkaline phosphatase 等の発現を伴った腸上皮化生である可能性が示唆された。

胃癌においても、上述の非がん部分離腺管の結果と同様に胃・腸型マーカーを用いた免疫組織学的分類と Sox2, Cdx1, Cdx2 の転写因子の発現がよく相関した。胃癌細胞株の結果から、Sox2 は、MUC5AC の発現に必要であるが、さらに他の因子と協調的に働いて胃粘膜の分化に関与している可能性が示唆された。

E. 結論

これらの胃・腸特異的転写因子の遺伝子発現量のバランスの変化が、胃粘膜上皮の粘液や構造の変化を来し、形態学的に認識されるような腸上皮化生発生に至ると考えられた。今後、胃・腸の形質を制御する転写因子の発現をコントロールする要因を同定することにより、腸上皮化生に陥った慢性萎縮性胃炎の修復を目指した再生医療への基礎データとし、胃癌の予防に貢献することができると考えられた。また、胃癌においても、Sox2 や Cdx の転写因子の制御により、その形質が決定されていることが示唆され、抗がん剤感受性との比較検討によりがんの個性を理解した治療に貢献する事が今後の課題と考えられた。

F. 健康危険情報

Helicobacter pylori 感染による慢性萎縮性胃炎粘膜では、Sox2 の低下と Cdx1, 2 の異所性発現が見られており、胃癌リスクとの関係についてさらに詳細な検討が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tsukamoto, T., Inada, K., Tanaka, H., Mizoshita, T., Mihara, M., Ushijima, T., Yamamura, Y., Nakamura, S., and Tatematsu, M. Down regulation of a gastric transcription factor, Sox2, and

- ectopic expression of intestinal homeobox genes, Cdx1 and Cdx2: Inverse correlation during progression from gastric/intestinal-mixed to complete intestinal metaplasia. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 130: 135-145 (2004)
- 2) Mizoshita, T., Inada, K., Tsukamoto, T., Nozaki, K., Joh, T., Itoh, M., Yamamura, Y., Ushijima, T., Nakamura, S., and Tatematsu, M. Expression of the intestine-specific transcription factors, Cdx1 and Cdx2, correlates shift to an intestinal phenotype in gastric cancer cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 130: 29-36 (2004)
- 3) Cao, X., Tsukamoto, T., Nozaki, K., Mizoshita, T., Ogasawara, N., Tanaka, H., Takenaka, Y., Kaminishi, M., and Tatematsu, M. Beta-catenin gene alteration in glandular stomach adenocarcinomas in N-methyl-N-nitrosourea-treated and Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils. *Cancer Sci.*, 95: 487-490 (2004)
- 4) Mizoshita, T., Tsukamoto, T., Inada, K., Ogasawara, N., Hirata, A., Kato, S., Joh, T., Itoh, M., Yamamura, Y., and Tatematsu, M. Immunohistochemically detectable Cdx2 is present in intestinal phenotypic elements in early gastric cancers of both differentiated and undifferentiated types, with no correlation to non-neoplastic surrounding mucosa. *Pathol. Int.*, 54: 392-400 (2004)
- 5) Cao, X., Tsukamoto, T., Nozaki, K., Shimizu, N., Mizoshita, T., Kumagai, T., Kaminishi, M., and Tatematsu, M. Eradication of Helicobacter pylori induces apoptosis and inhibits proliferation of heterotopic proliferative glands in infected Mongolian gerbils. *Cancer Sci*, 95: 872-877 (2004)
- 6) Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Mihara, M., Tanaka, H., Takenaka, Y., Yamamura, Y., Nakamura, S., Ushijima, T., and Tatematsu, M. Sox2 expression in human stomach adenocarcinomas with gastric and gastric-and-intestinal-mixed phenotypes. *Histopathology*, in press (2005)
- 7) Otsuka, T., Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Inada, K., Takenaka, Y., Kato, S., Yamamura, Y., Miki, K., and Tatematsu, M. Coexistence of gastric and intestinal type neuroendocrine cells in gastric-and-intestinal mixed

intestinal metaplasia of the human
stomach. *Pathol. Int.*, in press (2005)

2. 学会発表

- 1) 塚本徹哉、田中晴就、立松正衛、
稲田健一、宇都宮洋才、ウメエキ
スを用いた *Helicobacter pylori*
感染 MNU 誘発スナネズミ腺胃が
ん抑制効果、第 11 回がん予防研究
会、東京、(2004 年 7 月)
- 2) 塚本徹哉、溝下 勤、田中晴就、
稲田健一、立松正衛、胃・腸特異
的転写因子群の発現と胃癌の形質
変化、第 63 回日本癌学会総会、福
岡、(2004 年 9 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予
定を含む。）

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

ラクトフェリンのC型慢性肝炎に対する効果

分担研究者 奥坂 拓志 国立がんセンター中央病院 医長

研究要旨：ラクトフェリン(LF)がC型慢性肝炎患者のC型肝炎ウイルス(HCV)のRNA量を減少させるかを調べるため、ランダム化二重マスク化プラセボコントロール試験を計画した。C型慢性肝炎患者をLF群(1.8g/日)とplacebo群に無作為化割り付けする。主要評価項目はLF摂取12週後の時点でのウイルス学的効果(HCV RNA量の50%以上の減少)である。2001年5月より患者登録を開始し、2004年3月31日までに199例が登録された。現在最終解析を行っている。

A. 研究目的

分子量約80,000の糖蛋白質であるラクトフェリン(LF)は、C型肝炎ウイルス(HCV)のエンベロープと結合し、HCVを中和することで、培養細胞へのHCVの感染を防御する。本研究の目的はLFがC型慢性肝炎患者のHCV RNA量を減少させるかを調べることである。

B. 研究方法

C型慢性肝炎患者をLF群(1.8g/日)とplacebo群に無作為化割り付けする。LF群ではLF摂取12週後の時点で、HCV RNA量またはGPT値の50%以上の減少が認められた場合、LFをさらに1年間摂取する。主要評価項目はLF摂取12週後の時点でのウイルス学的効果(HCV RNA量の50%以上の減少)である。本試験は11施設からなる多施設共

同研究である。

患者に本試験の理解を求め同意を得る際には、担当医師は患者本人に、試験ではLFあるいはplaceboのいずれかに無作為に割り付けられること、試験への参加は自由で、参加しなくても不利益を受けないことなどを詳しく説明する。患者本人が試験への参加に同意した場合は、説明同意書に自著による署名を得る。

C. 研究結果

2001年5月より患者登録を開始し、2004年3月31日までに、199例が登録された。その時点で最初の125例のCRFに基づいた中間解析が行われ、内容がモニタリング委員会で検討された結果、「さらに症例を増加させても新たな結論が得られる可能性は低く、2004年3月31日をもって登録を終了とし、

それまでに登録された 199 例を対象として最終解析をするのが妥当である」と判断された。

2005 年 3 月現在 198 例の CRF の回収が完了しており、現在最終解析を行っている。

D. 考察

HCV の持続感染は慢性肝炎など慢性肝疾患の主たる原因であり、我が国では慢性肝疾患の 70%以上が抗 HCV 抗体陽性である。また慢性肝疾患は経過観察中に高率に肝細胞がんを合併するため、HCV に対する有効な抗ウイルス剤の開発は慢性肝疾患の原因療法として、さらには肝細胞がんの予防法として切望されている。

これまでに行った C 型慢性肝炎患者を対象とした用量反応試験では、GPT 値と LF 摂取量との間に用量反応関係は認めなかったが、LF(1.8-7.2g/日)の摂取により、HCV RNA 量は 45 例中 9 例(20%)、GPT 値は 6 例(13%)で 50% 以上の減少がみられた。以上の成績に基づき、LF が C 型慢性肝炎患者の HCV RNA 量を減少させるかを調べるため、ランダム化二重マスク化プラセボコントロール試験を行っている。

2004 年 3 月 31 日の登録終了までに 199 例が登録され、現在までに 198 例の CRF が回収された。現在これらの CRF をもとに最終解析を行っている。

E. 結論

LF が C 型慢性肝炎患者の HCV RNA 量を減少させるかを調べるため、199 症例を対象にランダム化二重マスク化プラセボコントロール

試験を行った。本試験の最終解析の結果、LF の効果が明らかにされると考える。

F. 健康危険情報

C 型慢性肝炎患者を対象とした用量反応試験(45 例)では、LF の摂取によると考えられる有害事象はほとんどみられなかった。

G. 研究発表

1.論文発表

外国語論文

1)Okusaka, T., Okada, S., Nakanishi, T., Fujiyama, S., and Kudo, Y. Phase II trial of intra-arterial chemotherapy using a novel lipophilic platinum derivative (SM-11355) in patients with hepatocellular carcinoma. Invest New Drug 22:169-176,2004.

2)Okusaka, T., and Kosuge, T. Systemic chemotherapy for pancreatic cancer. Pancreas, 28:301-304,2004.

3)Okusaka, T., Matsumura, Y., and Aoki, K. New approach for pancreatic cancer in Japan. Cancer Chemother Pharmacol, 54:S78-S82,2004.

4)Okusaka, T., Ito, Y., Ueno, H., Ikeda, M., Takezako, Y., Morizane, C., and Ikeda, H. Phase II study of radiotherapy combined with gemcitabine for locally advanced pancreatic cancer. Br J Cancer 91:673-677, 2004.

5)Matsumura, Y., Hamaguchi, T., Ura, T., Muro, K., Shimada, Y., Okusaka, T., Ueno, H., Ikeda, M., and Watanabe N. Phase I clinical trial and pharmacokinetic evaluation of NK911, a micelle-encapsulated doxorubicin. Br J Cancer 91:1775-

1781,2004.

6)Ueno, H., Okusaka, T., Ikeda, M., Tokuyue, K. Phase I study of hyperfractionated radiation therapy with protracted 5-fluorouracil infusion in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Oncology*, 67:215-221,2004.

7)Ueno, H., Okusaka, T., Ikeda, M., Takezako, Y. Morizane, C. A phase II study of S-1 in patients with advanced biliary tract cancer. *Br J Cancer*,91:1769-1774, 2004.

8)Ueno, H., Okusaka, T., Ikeda, M., Takezako, Y., Morizane, C. An early phase II study of S-1 in patients with metastatic pancreatic cancer. *Oncology*,2004(in press).

9)Ikeda, M., Okusaka, T., Ueno, H., Takezako, Y., and Morizane, C. A phase II trial of continuous infusion of 5-fluorouracil, mitoxantrone and cisplatin for metastatic hepatocellular carcinoma. *Cancer*,103:756-762, 2004.

10)Morizane, C., Okusaka, T., Ito, Y., Ueno, H., Ikeda, M., Takezako, Y., Kagami, Y., and Ikeda, H. Chemotherapy for locally advanced pancreatic carcinoma in elderly patients. *Oncology*, 2004(in press).

11)Yonemori, K., Ueno, H., Okusaka, T., Tamamoto, N., Ikeda, M., Saijo, N., Yoshida, T., Ishii, H., Furuse, J., Sugiyama, E., Kim, SR., Kikura-Hanajiri, R., Hasegawa, R., Saito, Y., Ozawa, S., Kaniwa, N., Sawada, J. Severe drug toxicity associated with a single-nucleotide polymorphis of the cytidine deaminase gene in a Japanese cancer patient treated with gemcitabine puls cisplatin. *Clin Cancer Res*, 2005(in press)

12)Saisho, T., Okusaka, T., Ueno, H., Morizane, C., Okada, S. Prognostic factors in patients with advanced biliary tract cancer receiving chemotherapy. *Hepato-Gastroenterol*, 2005(in press)

13)Takezako, Y., Okusaka, T., Ueno,H., IKeda, M., Morizane, C., Najima, M. Phase II study of cisplatin, epirubicin and continuous infusion of 5-fluorouracil in patients with advanced intrahepatic cholangiocellular carcinoma. *Hepato-Gastroenterol*, 2005(in press)

日本語論文

1)奥坂拓志、伊藤芳紀. 膵がんに対する放射線化学療法の現状と展望. *癌の臨床* 50:119-123,2004.

2)奥坂拓志.スマンクスの臨床評価. 特集 がん治療と DDS. *Drug Delivery System* 19:420-428,2004.

3)奥坂拓志、上野秀樹、池田公史. 化学療法. 肝細胞性肝癌の治療の進歩. *癌と化学療法*, 31:2122-2128,2004.

4)上野秀樹、奥坂拓志、池田公史. 膵癌に対する新しい化学療法. 特集 膵疾患をめぐる最近の話題 - 21 世紀の膵疾患治療. *CURRENT THERAPY* 22:79-83,2004.

5)上野秀樹、奥坂拓志. 切除不能膵癌に対する化学療法、放射線療法. *Medical Practice* 22:305-310,2005.

6)池田公史、奥坂拓志、上野秀樹. 膵臓癌、胆道癌. 消化器がん治療の最近の動向と緩和医療の接点. *緩和医療学* 6:26-30,2004.

7)池田公史、奥坂拓志、上野秀樹. 局所治療