

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

がん化学予防剤の開発に関する基礎及び臨床研究

平成 18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 若林 敬二

平成 19 (2007) 年 4 月

目次

I. 総括研究報告	
がん化学予防剤の開発に関する基礎及び 臨床研究 若林敬二	1
II. 分担研究報告	
1. 大腸および膵臓発がん抑制物質の検索 若林敬二	12
2. γ -トコフェノールのラット前立腺発がんに対する抑制作用に関する研究 白井智之	15
3. 薬剤による炎症関連発がんの修飾 田中卓二	19
4. 胃発がん抑制物質の検索 塚本徹哉	23
5. 大腸ACFを用いた大腸がん予防薬の評価 高山哲治	27
6. 家族性大腸腺腫症患者の発がん予防 石川秀樹	29
7. 家族性大腸腺腫症の予防に関する研究 徳留信寛	35
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
IV. 研究成果の刊行物・別刷	別冊にて

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究）
総括研究報告書

がん化学予防剤の開発に関する基礎及び臨床研究

主任研究者 若林 敬二 国立がんセンター研究所副所長

研究要旨 本研究は、がんのハイリスクグループの発がん要因を把握するとともに、食品素材及び医薬品を対象としたがん予防剤、がん予防方法を開発し、臨床への応用を目指すことを目的としている。本年度の研究成果としては、高脂血症状態を呈する *Apc* 遺伝子欠損マウス (*Min* マウス) において高脂血症状態にともない plasminogen activator inhibitor-1 (*Pai-1*) が高発現していることを見出した。その阻害剤を *Min* マウスに投与すると腸ポリープ生成が抑制されることを見出した。脂溶性 HMG-CoA 還元酵素阻害剤、ピタバスタチンの AOM/DSS 誘発炎症関連マウス大腸発がんへの影響を検討した結果、1 ppm および 10 ppm ピタバスタチン混餌投与により大腸腺がんの発生が有意に抑制され、その作用は血清中性脂肪値の低下と相関していた。ポリフェノールの1つであるレスベラトロールにより TRAP ラットにおける前立腺がん増殖抑制効果が明らかとなり、その作用機序としてアンドロゲン受容体発現低下を介するアポトーシスの亢進が考えられた。食品中の酸化ラジカルスカベンジャー canolol の投与によって *H. pylori* 感染による胃炎と胃発がんの有意な改善が見られた。NSAIDs の投与により、ヒトの ACF は数ヶ月間でアポトーシスを起こして消失した。家族性大腸腺腫症に対する2つの多施設二重盲検無作為割付試験が企画実施中である。一つは緑茶抽出物による試験であり、介入は完遂し、分析中である。もう一つは、低用量アスピリン腸溶錠 (100mg) による試験であり現在、エントリー中である。

分担研究者

若林敬二 国立がんセンター研究所副所長
白井智之 名古屋市立大学大学院 教授
田中卓二 金沢医科大学 教授
塚本徹哉 愛知県がんセンター研究所 室長
高山哲治 札幌医科大学 助教授
石川秀樹 大阪中央病院消化器科 部長
徳留信寛 名古屋市立大学大学院 教授

A. 研究目的

がんは、1981年以來、我が国において死亡原因の第1位を占め、今後ともさらに増え続けるものと予測される。このようながんの増加を抑制することは極めて重要である。本研究においては食品素材及び医薬品を対象として新規がん予防剤を検索、開発する基礎研究を行うとともに、発がんの高危険度群と考えられる人々を対象とした臨床研究を行うことにより、安全性の高い有効ながん予防方法を確立することを目的とする。

B. 研究方法

(1) 大腸及び膵臓発がん抑制物質の検索

アディポサイトカインの1つである Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 に注目し、その阻害剤 SK-216 及び SK-116 の家族性大腸腺腫症のモデルである *Min* マウスの腸管ポリープ生成数に与える影響を検討した。*Pai-1* 阻害剤である SK-216 を *Min* マウス (オス、6週齢、各群10匹) に0, 25,

50, 100 ppm の濃度で9週間混餌投与し、各々のマウスにおける小腸及び大腸ポリープの発生状況(腸の腺腫数及び大きさ)、血清トリグリセリド及び総コレステロール量を測定し、*Pai-1* 阻害剤の効果を野生型マウスと比較検討した。更に野生型と両 *Apc* 遺伝子欠損マウスの肝臓における *Pai-1* の発現解析を Real-time PCR 法で行った。血清 *Pai-1* 値を ELISA 法にて測定し、小腸における *Pai-1* 蛋白発現分布を免疫染色法にて検討した。また、他の *Pai-1* 阻害剤である SK-116 を *Min* マウス (オス、6週齢、各群10匹) に50 ppm の濃度で9週間混餌投与し、このマウスにおける小腸及び大腸ポリープの発生状況(腸の腺腫数及び大きさ)を検討した。

(2) 前立腺発がん抑制物質の検索

レスベラトロールは赤ブドウの皮に主として存在するポリフェノールである。前立腺発がんモデル動物である Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) を用いて、レスベラトロールの前立腺発がんに対する化学予防効果を検討した。3週齢の TRAP 雄ラットにレスベラトロール (50, 100, 200 mg/ml) を飲料水投与した。又、レスベラトロールを投与しない比較対照群を設けた。実験期間7週間で全動物を屠殺剖検し前立腺を中心に病理組織学的検索を行った。レスベラト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。

(3) 口腔及び食道発がん抑制物質の検索

炎症性腸疾患や高脂血症患者は大腸がん発生のリスクが高く、その効果的な大腸発がん予防が望まれ

る。そこで、血中コレステロール低下作用、抗炎症などを有する脂溶性スタチン製剤、ピタバスタチンの炎症関連マウス大腸発がんへの影響を検討した。

雄性 ICR マウス (6 週齢) を、AOM+2% DSS 群、AOM+2% DSS+1 ppm ピタバスタチン群、AOM+2% DSS+10 ppm ピタバスタチン群、10 ppm ピタバスタチン群、AOM 群、2% DSS 群、無処置群の 7 群に別けた。大腸腫瘍は、AOM (10 mg/kg 体重) を腹腔内投与後、DSS を 1 週間飲水投与して誘発した。ピタバスタチンは、DSS 投与終了後から 17 週間混餌投与した。実験は 20 週で終了した。

(4)胃発がん抑制物質の検索

5 週齢スナネズミに、*H. pylori* (ATCC43504 株) を強制胃内投与し、実験第 2 週より、10 ppm MNU を飲水投与した。第 8 週より、AIN93G を基礎食に 0.1% Canolol を混餌投与し、実験 52 週に屠殺した。腺胃組織像、COX-2、iNOS、BrdU 免疫染色、血清 8OH-dG 値、血清抗 *H. pylori* 抗体価を測定した。また、胃粘膜における炎症関連因子の mRNA の発現量を定量的に検討した。

(5)大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

1. 対象: 大腸ポリープ切除術後の ACF を有する者 18 人を対象に、スリダクあるいはエトドラクを投与し、ACF に対する抑制効果を検討した。
2. ヒト ACF の観察: ACF の観察は既報に従い行った。すなわち、拡大内視鏡を用いて total colonoscopy を施行したのち、下部直腸領域に 0.2% メチレンブルーを散布し、良く洗浄して ACF を観察した。
3. アポトーシスの検出: 生検して採取した ACF 組織のパラフィン包埋ホルマリン固定標本を作製し、TUNEL 法によりアポトーシスの有無を検出した。

(6)家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

1. 緑茶抽出物による発がん予防介入試験
家族性大腸腺腫症患者を対象として、緑茶抽出物 (GTE 錠: 1 日に緑茶抽出物約 1 g)、乳糖錠 (NF 錠) による二重盲検無作為割付試験を行った。介入期間は 2 年間、主エンドポイントは直腸腫瘍の増減、目標数は 80 人とした。
2. アスピリンによる発がん予防介入試験
対象、条件、食事指導、運動指導、主エンドポイントは、緑茶抽出物による試験に準じた。低用量アスピリン (100mg) 腸溶錠を投与する群と偽薬を投与する群に分け、6 カ月間投与する。目標数は各群 50 人、全体で 100 人とした。

(7)多発性大腸腫瘍患者の発がん予防

試験参加者は、組織診断で確診された大腸腫瘍 (粘膜内がん・腺腫) を 1 個以上持ち、それらすべてを内視鏡的に摘除できた 40 歳以上、70 歳以下の者である。割り付けは、層別化ブロックランダム法を採用する。試験薬はアスピリン (100mg/day) 腸溶錠またはプラシーボ錠である。主エンドポイントは、2 年目の大腸内視鏡検査における新たな大腸腫瘍の発生の有無である。副エンドポイントは、試験期間

内の有害事象発生率、他臓器がんの発生の有無、2 年目の大腸内視鏡検査における新たな大腸腫瘍の大きさ・個数・組織 (異型度、絨毛状腺腫成分の有無)、介入後 2~3 年後の大腸腫瘍発生状況、直腸粘膜の ACF 数、S 状結腸粘膜の大腸がん関連蛋白の mRNA 発現程度である。700 名の試験参加、500 人の解析対象者を目標とする。

(倫理面への配慮)

人を対象とする研究はすべて厳密なインフォームド・コンセントを本人から得て、倫理委員会の承諾後に進めている。有害事象が生じて研究を中止する場合も本人に十分な説明をし、了解を得ている。また、動物実験は各研究者の所属施設の実験動物取り扱い (倫理) 規定を遵守して行っている。

C. 研究結果

(1)大腸及び膵臓発がん抑制物質の検索

6 週齢 Min マウスに 0, 25, 50, 100 ppm SK-216 を 9 週間混餌投与した結果、腸管ポリープ数の総数は非投与群の 97, 64 ($p<0.05$) 及び 56% ($p<0.01$) に減少した。SK-116 を 50 ppm 投与すると、腸ポリープ数は非投与群の 70% にまで減少した。Apc 遺伝子欠損マウスの肝臓の Pai-1 の発現は、野生型マウスと比べて 3 倍発現が上昇しており、血清 Pai-1 値は 7 倍高値であった。肝臓 Pai-1 発現量も血清 Pai-1 値も SK-216 100 ppm の投与により野生型マウスのレベルにまで低下した。SK-116 50 ppm の投与によって血清 Pai-1 値は、非投与群の 20 ng/ml から 7 ng/ml にまで低下した。この値は SK-216 50 ppm の投与群の血清 Pai-1 値 (4 ng/ml) とほぼ同値であった。小腸の Pai-1 発現は上皮細胞に限局していた。両薬剤投与において総コレステロール値の変化は認められなかったが、血清トリグリセリド値は SK-216 投与によって低下した。SK-116 投与においては SK-216 と同様に低下を認めたが、有意な変化ではなかった。

(2) 前立腺発がん抑制物質の検索

前立腺がんは腹葉および側葉に認められたが、発生頻度に群間における有意差はみられなかった。しかし、腺腔を含めた腺房面積に対する腺上皮の比率を測定する事により前立腺腫瘍性病変の進展度を定量すると、腹葉および側葉においてレスベラトロール投与による腫瘍増殖抑制効果が認められた。また、レスベラトロール投与によって腹葉における apoptotic index は有意に増加した。そこで腹葉前立腺組織を用いてウエスタン解析すると、活性化カスパーゼ 3 および 7、リン酸化 Erk1/2、Bcl-xL の発現は群間で変化しなかったが、アンドロゲン受容体 (AR) タンパク発現がレスベラトロール投与により低下していた。RT-PCR により AR mRNA の発現量の差が群間でなかったため、AR タンパクの分解および翻訳に対する影響を検討した結果、レスベラトロールは AR 翻訳を抑制することが明らかとなった。

(3)口腔及び食道発がん抑制物質の検索

1 ppm および 10 ppm ピタバスタチン混餌投与

により 20 週時の大腸腺がんの発生個数が有意に低下した：AOM+2% DSS+1 ppm ピタバスタチン群 (1.50±0.97、72% 抑制率、 $P < 0.001$) および AOM+2% DSS+10 ppm ピタバスタチン群 (2.00±1.00、62% 抑制率、 $P < 0.01$) vs. AOM+2% DSS 群 (5.27±3.13)。この効果は、血清中性脂肪値 (mg/dL) の低下と相関していた：AOM+2% DSS+1 ppm ピタバスタチン群 (64±17、 $P < 0.001$) および AOM+2% DSS+10 ppm ピタバスタチン群 (61±28、 $P < 0.001$) vs. AOM+2% DSS 群 (159±60)。また、血清総コレステロール値もピタバスタチンで低下していた。さらに、病理組織学的解析により、ピタバスタチン投与により大腸粘膜の炎症像が軽減、大腸がん組織の細胞増殖低下とアポトーシス係数が増加した。

(4) 胃がん抑制物質の検索

胃がん発生率は、基礎食のみを摂取した群が 41.7% (15/36)、BHT を添加した対照群が 39.4% (13/33)、0.1% canolol 投与群が 15.0% (6/40) と、canolol 投与群で有意 ($P < 0.05$) に発がん率の低下が見られた。

Canolol 投与群、対照群の血清 8OH-dG 値は、 0.41 ± 0.04 、 0.57 ± 0.07 ng/ml ($P < 0.01$)、血清抗 *H. pylori* 抗体価は 186.4 ± 74.2 、 249.5 ± 98.5 ($P < 0.05$) と canolol 投与群で低下が認められた。組織学的にも炎症所見が改善し、Canolol 投与群では、COX-2、iNOS、IL-1 β 、TNF- α の mRNA の発現量はそれぞれ、17.5%、53.6%、14.3%、22.3% に有意に低下していた ($P < 0.05$)。

(5) 大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

1. スリンダク及びエトドラクによる ACF 数の変化：ACF を有する者 10 例を対象にスリンダク 300mg/日投与し、約 2 ヶ月後の ACF 数を検討した。その結果、投与前後で 8.5 ± 3.7 個が、 1.4 ± 1.6 個と有意に減少した。同様に、ACF を有する者 8 例を対象にエトドラクを投与したところ、投与前後で 7.7 ± 3.2 個が 5.7 ± 3.8 個となり、有意差はなかった。

2. ACF 組織におけるアポトーシスの検討：スリンダク投与群と非投与群より ACF を生検採取し、TUNEL 染色によりアポトーシスの検討を行った。その結果、投与群では $24 \pm 10\%$ の TUNEL 陽性細胞が認められ、対照群 $9.3 \pm 8.2\%$ に比べて高い傾向にあった。エトドラク群では、TUNEL 陽性細胞の増加は認められなかった。

(6) 家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

1. 緑茶抽出物による発がん予防介入試験：2000 年 8 月より参加呼びかけ開始、予備登録では 185 人が参加し、83 人が試験食品の服用を開始、2006 年 9 月に介入は完遂した。現在、データを解析中である。重篤な有害事象は認めていない。

2. アスピリンによる発癌予防介入試験：ドイツのバイエル本社より低用量アスピリン腸溶錠と偽薬を輸入し、1シート 31 錠の PTP シート包装を行った。大阪中央病院の医療倫理委員会の承認を得て、現在、参加呼びかけ中である。

(7) 多発性大腸腫瘍患者の発がん予防

全体会議によりプロトコールを作成し、倫理モニタリング委員会に申請、承認を得て、参加施設の倫理委員会に申請を行った。

試験薬 (低用量アスピリン腸溶錠、プラシーボ) はドイツのバイエル本社より輸入し、1シート 31 錠のカレンダー型 PTP 両面アルミ包装を行い、試験統計家により割付内容を匿名化して封印した。倫理委員会の承認の得られた施設より参加呼びかけが開始されている。2007 年 3 月 9 日時点で、23 施設中 18 施設で倫理委員会の承認が得られ、20 人に参加が呼び掛けられ、18 人 (90%) が参加を同意した。現在、順調に試験は進行している。

D. 考察

(1) 大腸及び膵臓がん抑制物質の検索

高脂肪食により誘発される高脂血症が大腸がんのリスクと相関することが疫学的調査、動物実験により示唆されている。近年、肥満患者やメタボリックシンドローム患者と発がんとの関連性も注目され、肥大化した白色脂肪細胞から分泌するアディポサイトカインの発がんへの関与が示唆されている。我々はこれまでに 2 種類の *Apc* 遺伝子欠損マウスの血清トリグリセリド値が経時的に急激に上昇することを見出した。今回トリグリセリドの下流で動いている分子として注目した *Pai-1* はメタボリック症候群において多く検出される線溶系の阻害因子であり、大腸がん組織においても周囲正常組織と比べ発現が亢進していることが知られている。本実験において *Pai-1* の阻害剤の投与によって腸ポリープが濃度依存的に約 40% 減少したことは、高トリグリセリド血症から腸ポリープが生成する過程に *Pai-1* が関与していることを示唆している。今後 *Pai-1* の細胞増殖等への作用を詳細に検討することが必要であると考えられた。また、その他のアディポサイトカイン (*Adiponectin* や *IL-6* 等) の腸発がんへの寄与を検討する必要があると考えられた。

(2) 前立腺がん抑制物質の検索

レスベラトロールは赤ブドウの皮には 50~100 $\mu\text{g/g}$ 、赤ワイン中には 10~40 μM の濃度で含まれていることが知られている。SD ラットに対してヒトの日常生活での摂取量の約 1,000 倍量に相当する 20mg/kg/day を 28 日間連続投与した研究では全身諸臓器に対する毒性は明らかではなく、血液・生化学的にも著変はみられなかったと報告されている。今回の投与量もこれと同等量であるが、TRAP ラットにおける毒性は同様にみられず、化学予防剤としての必要条件は満たしているものと思われた。昨年度に示した γ -トコフェロールの前立腺がん抑制メカニズムはカスパーゼ 3 および 7 の活性化、リン酸化 *Erk1/2* の抑制を介したアポトーシスの亢進であり、レスベラトロールとは明らかに異なるメカニズムである。今後、抑制メカニズムの異なる複数の物質を組み合わせる相乗・相乗的な化学予防効果を検討する必要があると考えられた。

(3)口腔及び食道発がん抑制物質の検索

コレステロール値低下や抗高脂血症作用を有するスタチン製剤は、近年その抗炎症作用や血管新生抑制作用などの多面的作用が注目されている。本研究より、炎症関連マウス大腸発がんモデルは高脂血症を呈することとピタバスタチンの炎症関連マウス大腸発がん抑制が見い出された。これによりピタバスタチンによる炎症を背景とする大腸がん抑制の可能性が示唆された。その抑制作用は血清中性脂肪値の低下や血清総コレステロール値低下および大腸炎の軽減、大腸がん組織の細胞増殖低下、アポトーシス係数の増加などによるものと推察された。今後、大腸粘膜における COX-2、iNOS、PPARs、TNF α 、NF κ B などの発現修飾など、詳細な機構解析が必要と考えられた。

(4)胃発がん抑制物質の検索

H. pylori 感染 MNU 誘発スナネズミ腺胃発がんモデルにおいて、*H. pylori* 除菌は、腺胃発がん抑制に非常に有効である。今回、菜種原油中に含まれる強力な酸化ラジカルスカベンジャー、canolol の投与により、組織学的に炎症細胞浸潤、過形成、腸上皮化生が軽快し、胃発がんも抑制された。また、血清 8OH-dG 値の低下と血清抗 *H. pylori* 抗体価の低下が見られた。そのメカニズムとして、COX-2、iNOS、TNF- α 、IL1- β mRNA 発現の低下と COX-2 や iNOS 陽性細胞数の減少が関与している可能性が示された。

(5)大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

NSAIDs であるスリダクを数ヶ月間投与(300mg/日)することにより、ACF 数は著明に減少することが明らかとなった。スリダクによる ACF 消失の機序としてアポトーシスが関与することが示唆された。一方、選択的 COX-2 阻害剤であるエトドラク(400mg/日)の投与により、ACF は減少傾向のみにとどまった。その原因として、ACF には COX-2 は発現していないこと、スリダクは COX-2 阻害以外の機序によりアポトーシスを誘導することが示唆された。

尚、「大腸腫瘍患者へのアスピリンによる発がん予防臨床試験」は、プロトコールができあがり、倫理委員会の承認が得られ、登録が開始された。

(6)家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

発がん予防研究のための臨床試験では、長期間に多数の参加者を対象とする必要があったが、家族性大腸腺腫症では、多数の腺腫がエンドポイントとして評価することができるため、比較的少人数、短期間の臨床試験で予防効果を評価することができる。

さらに、家族性大腸腺腫症は稀な遺伝性疾患であるが、その発がん機序は散发性大腸がんと類似していると考えられている。従って、家族性大腸腺腫症に対する発がん予防試験の結果は、散发性大腸がんの予防にも有用な知見と考えられる。

アスピリンは大腸がん予防が期待される薬であるが、これまでに家族性大腸腺腫症に対する発がん

ん予防試験の結果は報告されていない。低用量アスピリン腸溶錠は心疾患において長期間投与の経験が豊富であり安全性は高いと考えられる。従って、本試験によりアスピリンによる大腸腺腫の抑制効果が認められたならば、すぐに臨床応用できると考える。

(7)多発性大腸腫瘍患者の発がん予防

予防薬剤として、低用量アスピリン腸溶錠を選んだ理由は、心疾患への使用経験より長期間投与の安全性が高いこと、欧米では複数の臨床試験が行われて有効性が示唆されているものの、未だ確定的な結果が得られていないこと、日本人を対象とした試験は行われていないこと、などがある。本試験で低用量アスピリン腸溶錠の大腸腫瘍抑制効果が明らかになれば、大腸がん高危険群に長期間投与する大規模コホート研究などにより、大腸がん発生予防効果を評価する研究に進むことができる。

E. 結論

Apc 遺伝子欠損マウスにおいて血清脂質が上昇するに伴い腸管ポリープ生成が亢進するが、Pai-1 阻害剤投与によりポリープ生成が抑制された。このことより、食生活習慣の改善や高脂血症改善薬を用いるがん予防方法とともに高脂血症状態において誘導される PAI-1 を阻害するがん予防方法も可能であると考えられた。食の欧米化や運動の不足にともなう、大腸がん及びメタボリックシンドローム患者が増加している事を考えると、メタボリックシンドローム患者において発現亢進しているアディポサイトカインと大腸がんとの関連性について今後さらに詳細に機序を解明することにより、高脂血症と大腸がんとの関連性について新たな知見が得られるものと考えられた。

レスベラトロールの TRAP ラット前立腺発がんに対する影響を検討した結果、前立腺がんの増殖に対する抑制効果が明らかとなった。レスベラトロールの前立腺がん細胞株 LNCaP に対する細胞増殖抑制メカニズムの 1 つとして AR 発現の減少 (Androgen-AR pathway のブロック) が明らかにされているが、動物モデルを用いた今回の研究でもレスベラトロールによる AR 蛋白発現低下を介したアポトーシスの亢進を惹起し、前立腺がんの増殖・進展を抑制したものと考えられた。

炎症関連マウス大腸発がんモデルでは高脂血症が生じていることとピタバスタチンの炎症関連マウス大腸発がんへ抑制効果が判明し、その作用は血清中性脂肪値の低下や血清総コレステロール値低下および大腸炎の軽減、大腸がん組織の細胞増殖低下、アポトーシス係数の増加によるものと推察され、ピタバスタチンによる炎症を背景とする大腸がん抑制の可能性が示唆された。

H. pylori の除菌は、胃炎や胃がんの抑制に非常に効果的であるが、経済的問題、耐性菌発生の危険、副作用の発生等、課題も多い。そこで、本研究で、食品中の安全かつ安価な有効成分を用いる事を目的に菜種原油中に含まれる強力な酸化ラジカルスカベ

ンジャーである canolol の効果を検討した。そして、胃炎や胃がんの抑制および血清 8OH-dG 値、血清抗 *H. pylori* 抗体価の有意な低下を見出した。以上のことから、酸化ラジカルの制御が炎症の抑制に有効であり、ひいては発がん予防にも効果的であることが示唆された。

スリンダクとの投与により、ヒトの ACF は比較的短期間(数ヶ月間)にアポトーシスを起こして消失することが明らかとなった。一方、選択的 COX-2 阻害剤は ACF に対する抑制効果が乏しいことが示唆された。

2007 年 5 月に、家族性大腸腺腫症に対する発がん予防介入試験により緑茶抽出物の発がん予防効果が判明する予定である。低用量アスピリン腸溶錠による介入試験も開始された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究論文

1. 論文発表

- 1) Takahashi, M., Mutoh, M., Shoji, Y., Sato, H., Kamanaka, Y., Naka, M., Maruyama, T., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Suppressive effect of an inducible nitric oxide inhibitor, ONO-1714, on AOM-induced rat colon carcinogenesis. *Nitric Oxide*, 14: 130-136 (2006).
- 2) Mutoh, M., Akasu, T., Takahashi, M., Niho, N., Yoshida, T., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Possible involvement of hyperlipidemia in increasing risk of colorectal tumor development in human familial adenomatous polyposis. *Jpn J Clin Oncol*, 36: 166-171 (2006).
- 3) Mutoh, M., Niho, N., and Wakabayashi, K. Concomitant suppression of hyperlipidemia and intestinal polyp formation by increasing lipoprotein lipase activity in *Apc*-deficient Mice. *Biol Chem*, 387: 381-385 (2006).
- 4) Mutoh, M., Takahashi, M., and Wakabayashi, K. Roles of prostanoids in colon carcinogenesis and their potential targeting for cancer chemoprevention. *Curr Pharm Des*, 12: 2375-2382 (2006).
- 5) Niho, N., Mutoh, M., Sakano, K., Takahashi, M., Hirano, S., Nukaya, H., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Inhibition of intestinal carcinogenesis by a new flavone derivative, chafuroside, in oolong tea. *Cancer Sci*, 97: 248-251 (2006).
- 6) Niho, N., Kitamura, T., Takahashi, M., Mutoh, M., Sato, H., Matsuura, M., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Suppression of azoxymethane-induced colon cancer development in rats by a cyclooxygenase-1 selective inhibitor, mofezolac. *Cancer Sci*, 97: 1011-1014 (2006).
- 7) Otani, T., Iwasaki, M., Ikeda, S., Kozu, T., Saito, H., Mutoh, M., Wakabayashi, K., and Tsugane, S. Serum triglycerides and colorectal adenoma in a case-control study among cancer screening examinees. *Cancer Causes and Control*, 17: 1245-1252 (2006).
- 8) Ueno, H., Sato, T., Yamamoto, S., Tanaka, K., Ohkawa, S., Takagi, H., Yokosuka, O., Furuse, J., Saito, H., Sawaki, A., Kasugai, H., Osaki, Y., Fujiyama, S., Sato, K., Wakabayashi, K., and Okusaka, T. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of bovine lactoferrin in patients with chronic hepatitis C. *Cancer Sci*, 97: 1105-1110 (2006).
- 9) Sakano, K., Takahashi, M., Kitano, M., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Suppression of azoxymethane-induced colonic premalignant lesion formation by coenzyme Q10 in rats. *Asian Pac J Cancer Prev*, 7: 599-603 (2006).
- 10) Hikosaka, A., Futakuchi, M., Ogiso, T., Suzuki, S., Kohri, K., and Shirai, T. Lack of prophylactic effect of incadronate on skeletal lesions associated with implants of prostate cancer. *Eur Uro.*, 49: 176-182 (2006).
- 11) Kawai, N., Ito, A., Nakahara, Y., Honda, H., Kobayashi, T., Futakuchi, M., Shirai, T., Tozawa, K., and Kohri, K. Complete regression of experimental prostate cancer in nude mice by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposome and a newly developed solenoid containing a ferrite core. *Prostate*, 66: 718-727 (2006).
- 12) Said, M., Hokaiwado, N., Tang, M-X., Ogawa, K., Suzuki, S., Ghanem, H.N., Esmat, A.Y., Asamoto, M., Refaie, F.M., and Shirai, T. Inhibition of prostate carcinogenesis in probasin/SV40 T antigen transgenic rats by leuprorelin, a luteinizing hormone-releasing hormone agonist. *Cancer Sci*, 97: 459-467 (2006).
- 13) Tang, M-X., Ogawa, K., Asamoto, M., Hokaiwado, N., Seeni, A., Suzuki, S., Takahashi, S., Tanaka, T., Ichikawa, K., and Shirai, T. Protective effects of citrus nobiletin and auraptene in transgenic rats developing adenocarcinoma of the prostate (TRAP) and human prostate carcinoma cells. *Cancer Sci*, (in press).
- 14) Tanaka, T., Miyamoto, S., Suzuki, R., and Yasui, Y. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary non-nutritive compounds. *Curr Topics Neutraceut Res*, 4: 127-152 (2006).
- 15) Tanaka, T., Kohno, H., Suzuki, R., Hata, K., Sugie, S., Niho, N., Sakano, K., Takahashi, M., and Wakabayashi, K. Dextran sodium sulfate promotes colorectal carcinogenesis in *ApcMin/+* mice: Inflammation stimuli by dextran sodium sulfate results in development of multiple colonic neoplasms. *Int J Cancer*, 118: 25-34 (2006).
- 16) Hata, K., Tanaka, T., Kohno, H., Suzuki, R., Qiang, S.H., Kuno, T., Hirose, Y., Hara, A., and Mori, H. Lack of enhancing effects of degraded l-carrageenan on the development of beta-catenin-accumulated crypts in male DBA/2J mice initiated with azoxymethane. *Cancer Lett*, 238: 69-75 (2006).

- 17) Hata, K., Tanaka, T., Kohno, H., Suzuki, R., Sheng Hong Qiang, Yamada, Y., Oyama, T., Kuno, T., Hirose, Y., Hara, A., and Mori, H. beta-Catenin-accumulated crypts in the colonic mucosa of juvenile *Apc^{Min/+}* mice. *Cancer Lett*, 239: 123-128 (2006).
- 18) Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S., Nakagama, H., and Tanaka, T. Strain differences in susceptibility to azoxymethane and dextran sodium sulfate-induced colon carcinogenesis in mice. *Carcinogenesis*, 27: 162-169 (2006).
- 19) Kawamori, T., Osta, W., Johnson, K.R., Pettus, B.J., Bielawski, J., Tanaka, T., Wargovich, M.J., Reddy, B.S., Obeid, L.M., Hannun, Y.A., and Zhou, D. Sphingosine kinase 1 is up-regulated in colon carcinogenesis. *FASEB J*, 20: 386-388 (2006).
- 20) Suzuki, R., Kohno, H., Suzui, M., Yoshimi, N., Tsuda, H., Wakabayashi, K. and Tanaka, T. An animal model for the rapid induction of tongue neoplasms in human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats by 4-nitroquinoline 1-oxide: Its potential use for preclinical chemoprevention studies. *Carcinogenesis*, 27 : 619-630 (2006).
- 21) Kohno, H., Suzuki, R., Curini, M., Epifano, F., Maltese, F., Gonzales, S.P. and Tanaka, T. Dietary administration with prenyloxycoumarins, auraptene and collinin, inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. *Int J Cancer*, 118: 2936-2942 (2006).
- 22) Miyamoto, S., Kohno, H., Suzuki, S., Sugie, S., Murakami, A., Ohigashi, H., and Tanaka, T. Preventive effects of chrysin on the development of azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Oncol Rep*, 15: 1169-1173 (2006).
- 23) Yasui, Y., Hosokawa, M., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K. Growth inhibition and apoptosis induction by all-trans-conjugated linolenic acids on human colon cancer cells. *Anticancer Res*, 26: 1855-1860 (2006).
- 24) Mori, Y., Tatematsu, K., Koide, A., Sugie, S., Tanaka, T. and Mori, H. Modification by curcumin of mutagenic activation of carcinogenic N-nitrosamines by extrahepatic cytochromes P-450 2B1 and 2E1 in rats. *Cancer Sci*, 97: 896-904 (2006).
- 25) Yasui, Y., Hosokawa, M., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K. Troglitazone and 9cis,11trans,13trans-conjugated linolenic acid: Comparison of their antiproliferative and apoptosis-inducing effects on different colon cancer cell lines. *Chemotherapy*, 52: 220-225(2006).
- 26) Ikeda, M., Masumura, K., Matsui, K., Kohno, H., Sakuma, S., Tanaka, T. and Nohmi, T. Chemopreventive effects of nobiletin against genotoxicity induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in the lung of *gpt* delta transgenic mice. *Genes and Environment*, 28: 84-91 (2006).
- 27) Suzuki, R., Yasui, Y., Kohno, H., Miyamoto, S., Hosokawa, M., Miyashita, K., and Tanaka, T. Catalpa seed oil rich in 9 α ,11 α ,13 α -conjugated linolenic acid suppresses the development of colonic aberrant crypt foci induced by azoxymethane in rats. *Oncol Rep*, 16: 989-996 (2006).
- 28) Beppu, F., Hosokawa, M., Tanaka, L., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K. Potent inhibitory effect of *trans*9, *trans*11 isomer of conjugated linoleic acid on the growth of human colon cancer cells. *J Nutr Biochem*, 17: 830-836 (2006).
- 29) Suzuki, R., Kohno, H., Yasui, Y., Hata, K., Sugie, S., Miyamoto, S., Sugawara, K., Sumida, T., Hirose, Y., and Tanaka, T. Diet supplemented with citrus unshiu segment membrane suppresses chemically induced colonic preneoplastic lesions and fatty liver in male *db/db* mice. *Int J Cancer*, 120: 252-258 (2007).
- 30) Miyazawa, K., Miyamoto, S., Suzuki, S., Yasui, Y., Ikeda, R., Kohno, H., Yano, M., Tanaka, T., Hata, K., and Suzuki, K. Dietary beta-cryptoxanthin inhibits N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in male ICR mice. *Oncol Rep*, 17: 297-304 (2007) .
- 31) Makita, M., Mutoh, M., Maruyama, T., Yonemoto, K., Kobayashi, A., Fujitsuka, H., Toida, M., Shibata, T., Miyamoto, S., Yasui, Y., Suzuki, R., Wakabayashi, K. and Tanaka, T. A prostaglandin E₂ receptor subtype EP₁-selective antagonist, ONO-8711, suppresses 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Carcinogenesis*, (in press).
- 32) Hayashi, K., Suzuki, R., Miyamoto, S., Yoshitani, S., Kohno, H., Sugie, S., Takashima, S., and Tanaka, T. Citrus auraptene suppresses azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Nutr Cancer*, (in press).
- 33) Kohno, H., Takahashi, M., Yasui, Y., Suzuki, R., Miyamoto, S., Kamanaka, Y., Naka, M., Maruyama, T., Wakabayashi, K. and Tanaka, T. A specific inducible nitric oxide inhibitor, ONO-1714 attenuates inflammation-related large bowel carcinogenesis in male *ApcMin/+* mice. *Int J Cancer*, (in press).
- 34) Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Miyamoto, S., Wakabayashi, K. and Tanaka, T. Ursodeoxycholic acid inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice: A comparative study regarding the effect of sulphasalazine. *Clin Cancer Res*, (in press).
- 35) Mizoshita, T., Tsukamoto, T., Takenaka, Y., Cao, X., Kato, S., Kaminishi, M., and Tatematsu, M. Gastric and intestinal phenotypes and histogenesis of advanced glandular stomach cancers in carcinogen-treated, *Helicobacter pylori*-infected *Mongolian gerbils*. *Cancer Sci*, 97: 38-44 (2006).
- 36) Ogasawara, N., Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Inada, K., Cao, X., Takenaka, Y., Joh, T., and Tatematsu, M. Mutations and nuclear accumulation of beta-catenin correlate with intestinal phenotypic expression in human gastric cancer. *Histopathology*, 49: 612-621 (2006).

- 37) Takenaka, Y., Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Cao, X., Ban, H., Ogasawara, N., Kaminishi, M., and Tatematsu, M. *Helicobacter pylori* infection stimulates intestinalization of endocrine cells in glandular stomach of *Mongolian gerbils*. *Cancer Sci*, 97: 1015-1022 (2006).
- 38) Tsukamoto, T., Mizoshita, T., and Tatematsu, M. Gastric-and-intestinal mixed-type intestinal metaplasia: aberrant expression of transcription factors and stem cell intestinalization. *Gastric Cancer*, 9: 156-166 (2006).
- 39) Cao, X., Tsukamoto, T., Nozaki, K., Tanaka, H., Cao, L., Toyoda, T., Takasu, S., Ban, H., Kumagai, T., and Tatematsu, M. Severity of gastritis determines glandular stomach carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected *Mongolian gerbils*. *Cancer Sci*, (in press).
- 40) Takenaka, Y., Tsukamoto, T. (equal contributor), Mizoshita, T., Ogasawara, N., Hirano, N., Otsuka, T., Ban, H., Nakamura, T., Yamamura, Y., Kaminishi, M., and Tatematsu, M. Gastric and intestinal phenotypic correlation between exocrine and endocrine components in human stomach tumors. *Histol Histopathol*, 22: 273-284 (2007).
- 41) Hirano, N., Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Koriyama, C., Akiba, S., Campos, F., Carrasquilla, G., Carrascal, E., Cao, X., Toyoda, T., Ban, H., Miki, K., and Tatematsu, M. Down regulation of gastric and intestinal phenotypic expression in Epstein-Barr virus-associated stomach cancers. *Histol Histopathol*, (in press).
- 42) Takayama, T., Miyanishi, K., Hayashi, T., Sato, Y., and Niitsu, Y. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. *Journal of Gastroenterology*, 40: 185-192 (2006).
- 43) Hirata, K., Kanemitsu, S., Nakayama, Y., Nagata, N., Itoh, H., Ohnishi, H., Ishikawa, H., and Furukawa, Y. HNPCC registry and genetic testing project of the Japanese society for cancer of the colon and rectum (JSCCR). A case of hereditary nonpolyposis colorectal cancer with novel germline mutation of MSH2, associated with liposarcoma of the thigh. *Am J Gastroenterology*, 101: 193-196 (2006).
- 44) Jiang, J., Wang, J., Suzuki, S., Gajalakshmi, V., Kuriki, K., Zhao, Y., Nakamura, S., Akasaka, S., Ishikawa, H., and Tokudome, S. Elevated risk of colorectal cancer associated with the AA genotype of the cyclin D1 A870G polymorphism in an Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol.*, 132: 193-199 (2006).
- 45) Katsuki, T., Hirata, K., Ishikawa, H., Matsuura, N., Sumi, S., and Itoh, H. Aged garlic extract has chemopreventative effects on 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon tumors in rats. *J Nutr*, 136: 847S-851S (2006).
- 46) Matsuura, N., Miyamae, Y., Yamane, K., Nagao, Y., Hamada, Y., Kawaguchi, N., Katsuki, T., Hirata, K., Sumi, S., and Ishikawa, H. Aged garlic extract inhibits angiogenesis and proliferation of colorectal carcinoma cells. *J Nutr*, 136: 842S-846S (2006).
- 47) Ishikawa, H., Saeki, T., Otani, T., Suzuki, T., Shimozuma, K., Nishino, H., Fukuda, S., and Morimoto, K. Aged garlic extract prevents a decline of NK cell number and activity in patients with advanced cancer. *J Nutr.*, 136: 816S-820S (2006).
- 48) Sano, Y., Horimatsu, T., Kuang I. Fu, Katagiri, A., Muto, M., and Ishikawa, H. Magnifying observation of microvascular architecture of colorectal lesions using a narrow-band imaging system. *Digestive Endoscopy*, 18: S44-S51 (2006).
- 49) Itsukuma, T., Ishikawa, H., Misawa, M., Kai, S., Fujimori, Y., Nakagawa, K., Hirota, S., Sugihara, A., Terada, N., and Hara, H. Familial adenomatous polyposis complicated by chronic myelogenous leukemia: response imatinib mesylate. *J Gastroenterol*, (in press).
- 50) Ghadimi, R., Taheri, H., Suzuki, S., Kashifard, M., Hosono, A., Esfandiary, I., Moghadamnia, A.A., Ghadimi, R., and Tokudome, S. Host and environmental factors for gastric cancer in Babol, the Caspian Sea Coast, Iran. *Eur J Cancer Prev*, (in press).
- 51) Okamoto, Y., Tsuboi, S., Suzuki, S., Nakagaki, H., Ogura, Y., Maeda, K., and Tokudome, S. Effects of smoking and drinking habits on the incidence of periodontal disease and tooth loss among Japanese males: a four-year longitudinal study. *J Periodont Dis*, (in press).
- 52) Tokudome, S., Ghadimi, R., Suzuki, S., Hosono, A., Tanaka, T., Arakawa, K., Zhao, Y., Hattori, N., Agawa, H., Marumoto, M., Ando, R., and Moore, M.A. *Helicobacter pylori* infection appears the prime risk factor for stomach cancer. *Int J Cancer*, 118: 2559-2566 (2006).
- 53) Raimondi, S., Paracchini, V., Autrup, H., Barros-Dios, J.M., Benhamou, S., Boffetta, P., Cote, M.L., Djalyna, I.A., Dolzan, V., Filiberti, R., Garte, S., Hirvonen, A., Husgafvel-Pursiainen, K., Imyanitov, E.N., Kalina, I., Kang, D., Kiyohara, C., Kohno, T., Kremers, P., Lan, Q., London, S., Povey, A.C., Rannug, A., Reszka, E., Risch, A., Romkes, M., Schneider, J., Seow, A., Shields, P.G., Sobti, R.C., Sorensen, M., Spinola, M., Spitz, M.R., Strange, R.C., Stucker, I., Sugimura, H., To-Figueras, J., Tokudome, S., Yang, P., Yuan, J.M., Warholm, M., and Taioli, E. Meta-and pooled analysis of GSTT1 and lung cancer: a huge-GSEC review. *Am J Epidemiol*, 164: 1027-1042 (2006).
- 54) Kuriki, K., Tajima, K., and Tokudome, S. Accelerated solvent extraction for quantitative measurement of fatty acids in plasma and erythrocytes. *Lipids*, 41: 605-614 (2006).
- 55) Tokudome, S., Hosono, A., and Suzuki, S. Population-attributable fractions in gastric cancer risk

- factors-the necessity to focus on *Helicobacter pylori* infection. *Gastric Cancer*, 9: 240-241(2006).
- 56) Aklmunnessa, K., Mori, M., Khan, MM., Sakauchi, F., Kubo, T., Fujino, Y., Suzuki, S., Tokudome, S., and Tamakoshi, A. Effectiveness of cervical cancer screening over cervical cancer mortality among Japanese women. *Jpn J Clin Oncol*, 36: 511-518 (2006).
- 57) Goto, C., Tokudome, Y., Imaeda, N., Takekuma, K., Kuriki, K., Igarashi, F., Ikeda, M., and Tokudome, S. Validation study of fatty acid consumption levels with a short food frequency questionnaire against those concentrations in plasma in middle-aged Japanese. *Scandinavian J Nutr*, 50: 77-82 (2006).
- 58) Tokudome, S., Kojima, M., Goto, C., Imaeda, N., Tokudome, Y., Kuriki, K., Suzuki, S., Ichikawa, H., Ando, R., Hattori, N., and Okuyama, H. Risks and benefits of omega-3 fatty acids on cancer risk. *BMJ.com Rapid Responses for Hooper et al.* <http://bmj.bmjournals.com/cgi/eletters/332/7544/752#132084>
- 59) Khan, M.M.H., Mori, M., Sakauchi, F., Aklmunnessa, K., Kubo, T., Fujino, Y., Suzuki, S., Tokudome, S., and Tamakoshi, A. for the JACC Study Group. Risk of endometrial cancer mortality by ever-use of sex hormones and other factors in Japan. *Asian Pac J Cancer Prev*, 7: 260-266 (2006).
- 60) Shibata, K., Suzuki, S., Nagaya, T., Sato, J., Osawa, I., Goto, S., Iritani, I., and Tokudome, S. Longitudinal changes in medical examination data of ex-smokers in comparison with smokers and non-smokers. *Ningen Dock*, 20: 35-39 (2006).
- 61) Tokudome, S., Hosono, A., Suzuki, S., Ghadimi, R., Tanaka, T., Ichikawa, H., Miyata, M., Marumoto, M., Agawa, H., Arakawa, K., Ando, R., Hattori, N., Shibata, K., and Zhao, Y. *Helicobacter pylori* infection as an essential factor for stomach cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*, 7: 163 (2006).
- 62) Tokudome, S., Goto, C., Tokudome, Y., Imaeda, N., Kuriki, K., Kojima, M., Suzuki, S., Ichikawa, H., Ichikawa, Y., Miyata, M., Maeda, K., Marumoto, M., Agawa, H., Arakawa, K., Tanaka, T., Ando, R., Hattori, N., Okuyama, H., and Moore, M.A. Marine n-3 fatty acids and colorectal cancer - is there a real link? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15: 406-407 (2006).
- 63) Jiang, J., Wang, J.W., Suzuki, S., Gajalakshmi, V., Kuriki, K., Zhao, Y., Nakamura, S., Akasaka, S., Ishikawa, H., and Tokudome, S. Elevated risk of colorectal cancer associated with the AA genotype of the cyclin D1 A870G polymorphism in an Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol*, 132: 193-199, (2006).
- 64) Wang, J.W., Gajalakshmi, V., Jiang, J., Kuriki, K., Suzuki, S., Nagaya, T., Nakamura, S., Akasaka, S., Ishikawa, H., and Tokudome, S. Associations between 5, 10_methylenetetrahydrofolate reductase codon 677 and 1298 genetic polymorphisms and environmental factors with reference to susceptibility to colorectal cancer: a case-control study in an Indian population. *Int J Cancer*, 118: 991-997 (2006).
2. 学会発表
- 1) 仁保直子、武藤倫弘、高橋真美、佐藤秀隆、杉村 隆、若林敬二。 COX-1 選択的阻害剤モフェゾラクの AOM 誘発ラット大腸発がん抑制作用 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 2) 坂野克久、高橋真美、武藤倫弘、仁保直子、小宮雅美、佐藤秀隆、杉村 隆、若林敬二。 BOP を投与した 2 型糖尿病モデル OLETF ラットにおける甲状腺がんの発生 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 3) 武藤倫弘、赤須孝之、仁保直子、小宮雅美、吉田輝彦、杉村 隆、若林敬二。 家族性大腸腺腫症患者における脂質代謝異常の予備調査 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 4) 高橋真美、武藤倫弘、坂野克久、仁保直子、杉村 隆、若林敬二。 大腸及び膵臓発がんの抑制機構 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 5) 仁保直子、武藤倫弘、高橋真美、小宮雅美、杉村 隆、若林敬二。 インドメタシンによる Min マウスの高脂血症改善及び腸ポリープ形成抑制作用 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 6) 坂野克久、高橋真美、北橋宗、武藤倫弘、仁保直子、小宮雅美、杉村 隆、若林敬二。 ハムスター膵管発がんモデルにおける末梢膵管増生と発がんとの関連性 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 7) 高橋真美、武藤倫弘、坂野克久、杉村 隆、若林敬二。 アズキシメタン(AOM)誘発ラット大腸 flat aberrant crypt foci (ACF)におけるムチン消失と iNOS 発現 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 8) 小宮雅美、武藤倫弘、仁保直子、杉村 隆、若林敬二。 Min マウスにおける PAI-1 阻害剤の腸ポリープ抑制作用 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 9) 北橋 宗、高橋真美、坂野克久、山川けいこ、横平政直、今井田克己、杉村 隆、若林敬二。 肺発がん動物モデルにおける EGFR および K-ras 遺伝子変異の検索 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 10) Mutoh, M., Komiya, M., Niho, N., Takahashi, M., Kitahashi, T., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Role of Hyperlipidemia in Intestinal Polyp Development in Apc-deficient Mice. Seventh AACR/JCA Joint International Conference, Hawaii, (January, 2007)
- 11) 高橋智、朝元誠人、白井智之。 γトコフェロールの Transgenic Rat Carcinoma Model (TRAP) 前立腺発がんに対する抑制効果 第 95 回日本病理学会総会、東京 (2006 年 4 月)

- 12)唐明希、小川久美子、外岩戸尚美、朝元誠人、高橋智、田中卓二、白井智之。 ヒト前立腺癌細胞株における Nobiletin と Auraptene の抑制効果 第 13 回日本がん予防研究会、京都 (2006 年 7 月)
- 13)Seeni Azman, Satoru Takahashi, Kumiko Ogawa, Mitsuru Futakuchi, Shugo Suzuki and Tomoyuki Shirai. Inhibitory Effect on Prostate Carcinogenesis by Resveratrol in Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) model. 第 13 回日本がん予防研究会、京都 (2006 年 7 月)
- 14)白井智之。 前立腺がんの実験病理学的アプローチ、発がん機構と予防および治療にむけて、第 3 回日本病理学会カンファレンス、東京 (2006 年 8 月)
- 15)朝元誠人、唐明希、神田千恵、内木綾、外岩戸尚美、白井智之。 ザクロジュースによる前立腺癌のアポトーシス誘導効果 第 65 回日本癌学会学術総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 16)高橋智、杉浦諭、竹下健太郎、Azman Seeni、小川久美子、白井智之。 ャートコフェノールによるラット前立腺発がん抑制作用の検討 第 65 回日本癌学会学術総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 17)唐明希、朝元誠人、外岩戸尚美、鈴木周五、小川久美子、白井智之。 Bowman-Birk Inhibitor によるラット前立腺発がんの抑制効果の検討 第 65 回日本癌学会学術総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 18) Azman Seeni、高橋智、竹下健太郎、二口充、唐明希、白井智之。 Resveratrol による前立腺発がん抑制作用の検討 第 65 回日本癌学会学術総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 19) Seeni, A., Takahashi, S. and Shirai, T. Inhibition of Prostate Carcinogenesis by Resveratrol in Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) model. APOCP Satellite Meeting 2006, Chiangmai (November, 2006)
- 20) Takahashi, S., Seeni, A., Takeshita, K. and Shirai, T. Suppression Effect of Prostate Carcinogenesis by Resveratrol in Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) Model. American Association for Cancer Research Special Conference in Cancer Research. San Francisco (December, 2006)
- 21)高橋智、小川久美子、朝元誠人、二口充、佐藤慎哉、白井智之。 Resveratrol によるラット前立腺発がんに対する抑制効果 第 96 回日本病理学会総会、大阪 (2007 年 3 月)
- 22) Kohno, H., Suzuki, R., Miyamoto, S., Sumida, T., Sugawara, K., Sugie, S. and Tanaka, T. Citrus Unshiu Segment Membrane Suppresses Azoxymethane-induced Colonic Aberrant Crypt Foci and Beta-catenin Accumulated Crypts in Male *db/db* Mice. 4th Regional APOCP Conference, Symposium IV-Pathology and Chemoprevention, Nagoya, (January, 2006)
- 23) Miyamoto, S., Suzuki, R., Kohno, H., Sugie, S. and Tanaka, T. Dietary Auraptene Inhibits Azoxymethane-induced Colonic Aberrant Crypt Foci in Female *db/db* Mice. 4th Regional APOCP Conference, Nagoya, (January, 2006)
- 24) Tanaka, T.: Cancer Chemoprevention by Lactoferrin and Its Possible Mechanisms. 4th Regional APOCP Conference, Lunchtime Seminar, Nagoya, (January, 2006)
- 25)杉江茂幸、甲野裕之、鈴木里加子、安井由美子、中釜 齊、田中卓二。 A/J、SM/J マウスを用いた PhIP/DSS 大腸発がんモデルにおける系統差の検討。第 3 回日本癌学会カンファレンス「動物モデルによる新時代のがん研究-発症機構から治療まで」 蓼科、(2006 年 3 月)
- 26) Kim, M., Murakami, A., Tanaka, T., and Ohigashi, H. Effects of Green Tea Polyphenols on Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Male ICR Mice. 97th Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Washington, DC, (April, 2006)
- 27) Murakami, A., Nishizawa, T., Yasuda, M., Tanaka, T., Colburn, N.H. and Ohigashi, H. Linoleic Acid Metabolite Suppresses Skin Tumor Promotion in Mice and Induces Programmed Cell Death Protein 4 in Mouse Epidermal JB6 Cells. 97th Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Washington, DC, (April, 2006)
- 28) Kohno, H., Suzuki, R., Miyamoto, S., Sugie, S., Curini, M., Epifano, F., Maltese, F., Gonzales, S.P. and Tanaka, T.: Suppression of Colitis-related Mouse Colon Carcinogenesis by Dietary Administration with Prenylxycoumarins, Auraptene and Collinin. 97th Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Washington, DC, (April, 2006)
- 29) Sugie, S., Suzuki, R., Kohno, H., Tanaka, T. and Mori, H. Modifying Effect of Thiol Compounds on Diethylnitrosamine (DEN)-phenobarbital (PB) Induced Rat Hepatocarcinogenesis. 97th Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Washington, DC, (April, 2006)
- 30) Tanaka, T., Suzuki, R., Kohno, H., Hata, K., Sugie, S., Miyamoto, S., Sugawara, K., Sumida, T. and Hirose, Y. Diet Supplemented with Citrus Unshiu Segment Membrane Suppresses Azoxymethane-induced Colonic Aberrant Crypt Foci and Beta-catenin Accumulated Crypts in Male *db/db* Mice. 97th Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Washington, DC, (April, 2006)
- 31) Epifano, F., Curini, M., Genovese, S., Menghini, L. and Tanaka, T. Synthesis and Preliminary Colon Cancer Chemoprevention Evaluation of a Novel Prodrug of 4'-Geranyloxy-ferulic Acid, Active Principle of *Acronychia baueri* Schott. GA 2006 - International Congress and 54th Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research, Helsinki, Finland, (August-September, 2006)
- 32)田中卓二。 シンポジウム「目に見える Chemoprevention を目指して」-モデル動物を用いた食品成分のがん予防研究 第 13 回日本がん予

- 防学会、京都(2006年7月)
- 33)唐 明希、小川久美子、外岩戸尚美、朝元誠人、高橋 智、田中卓二、白井智之。 ヒト前立腺癌細胞株における Nobiletin と Auraptene の抑制効果 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 34)安井由美子、鈴木里加子、甲野裕之、細川雅史、宮下和夫、田中卓二。 共役リノレン酸 (CLN) 含有キササゲ種子油の AOM 誘発ラット大腸前がん病変形成に及ぼす効果 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 35)宮本真吾、鈴木里加子、甲野裕之、田中卓二、村上 明、大東 肇。 Chrysin によるアポトーシス誘導および大腸発がん抑制作用の検討 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 36)杉江茂幸、浅野奈美、宮本真吾、安井由美子、甲野裕之、田中卓二。 AOM 誘発ラット大腸発がんにおける DITC の修飾効果 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 37)白上洋平、清水雅仁、甲野裕之、田中卓二、森脇久隆。 AOM/DSS 誘発炎症性マウス大腸発癌モデルにおける緑茶カテキン EGCG および PolyE による腫瘍抑制効果の検討 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 38)金 美慧、村上 明、田中卓二、大東 肇。 デキストラン硫酸塩誘発マウス大腸炎に対する緑茶ポリフェノールの影響 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 39)保田倫子、村上 明、西沢 隆、田中卓二、西川 泰、上中居和男、Nancy H. Colburn、大東 肇。 リノール酸代謝産物 13-HOA によるマウス皮膚炎症及び発がん抑制作用とその分子メカニズム 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 40)甲野裕之、田中卓二。 ワークショップ「がん予防研究のこれから」-炎症を背景とする大腸発がんの化学予防 第13回日本がん予防学会、京都 (2006年7月)
- 41)杉江茂幸、宮本真吾、安井由美子、甲野裕之、森 幸雄、原 明、森 秀樹、若林敬二、田中卓二。 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) 誘発ラット乳腺発癌に対する ϵ -naphthyl isothiocyanate (ANIT) の修飾効果 第21回発癌病理研究会、徳島 (2006年8月)
- 42)甲野裕之、安井由美子、鈴木里加子、宮本真吾、細川雅史、宮下和夫、田中卓二。 シンポジウム「消化器癌の発生と抑制 動物モデルから」-共役リノール酸 (CLA) 異性体の AOM 誘発ラット ACF 抑制効果 第17回日本消化器癌発生学会総会、名古屋、(2006年9月)
- 43)杉江茂幸、浅野奈美、宮本真吾、安井由美子、甲野裕之、田中卓二、森 秀樹。 シンポジウム「消化器癌の発生と抑制 動物モデルから」-AOM 誘発ラット大腸発がんにおける DITC の修飾効果 第17回日本消化器癌発生学会総会、名古屋 (2006年9月)
- 44)甲野裕之、戸塚ゆ加里、安井由美子、鈴木里加子、山口かずえ、杉江茂幸、若林敬二、田中卓二。 炎症関連マウス大腸発がんモデルにおける APNH のイニシエーション作用 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 45)安藤暢洋、清水雅仁、西脇理英、田中卓二、森脇久隆。 3'-MeDAB 誘発ラット肝腫瘍における RXRs、RARs 発現状態の検討 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 46)田中卓二、甲野裕之、鈴木里加子、宮本真吾、安井由美子、杉江茂幸。 Statin 製剤 (ピタバスタチン) による炎症関連マウス大腸発がん抑制 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 47)池田 恵、増村健一、松井恵子、甲野裕之、佐久間慶子、田中卓二、能美 健彦。 *gpt delta* トランスジェニックマウスの肺における NNK 誘発突然変異に対する Nobiletin の化学予防効果の解析 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 48)杉江茂幸、甲野裕之、鈴木里加子、安井由美子、中釜 齊、田中卓二。 A/J、SM/J マウスを用いたヘテロサイクリックアミン/DSS マウス大腸発がんモデルにおける系統差の検討 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 49)宮本真吾、鈴木里加子、安井由美子、甲野裕之、畑 和也、杉江茂幸、廣瀬善信、田中卓二。 Azoxymethane 誘発 *db/db* マウス ACF および BCAC に対する柑橘類じょうのう膜の抑制作用 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 50)安井由美子、甲野裕之、宮本真吾、杉江茂幸、田中卓二。 ウルソデオキシコール酸による炎症関連マウス大腸発がん修飾作用 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 51)保田倫子、村上 明、田中卓二、西川 泰、大東 肇。 リノール酸代謝産物のマウス皮膚炎症及び発がん抑制分子機構 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 52)白上洋平、清水雅仁、甲野裕之、田中卓二、森脇久隆。 AOM/DSS 誘発炎症性マウス大腸発癌モデルにおける緑茶カテキン EGCG および PolyE による腫瘍抑制効果の検討 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 53)金 美慧、村上 明、田中卓二、大東 肇。 緑茶ポリフェノールのデキストラン硫酸塩誘発マウス大腸炎に対する影響 第65回日本癌学会総会、横浜 (2006年9月)
- 54) Yamamoto, M., Ishibashi, N. and Tanaka, T. Prevention of Rat Hepatocarcinogenesis by NIK-333 and Effect of Connexin Expression in liver International Conference of Physiological and Pathological Importance of Gap Junctions, Tokyo, (November, 2006)
- 55)宮本 真吾、林 圭、鈴木里加子、吉谷新一郎、甲野裕之、杉江茂幸、高島茂樹、田中卓二。 Azoxymethane 誘発 *db/db* マウス ACF および BCAC に対する auraptene の抑制作用の検討 第11回日本フードファクター学会 (JSoFF)、(2006年11月)
- 56) Yasui, Y., Kohno, H., Suzuki, R., Miyamoto, S.,

- Sugie, S., Curini, M., Epifano, F., Maltese, F., Gonzales, S.P. and Tanaka, T.: Inhibition of Colitis-related Mouse Colon Carcinogenesis by Dietary Administration with Prenylxycoumarins, Auraptene and Collinin. The Kadota Fund International Forum 2006 (KIF2006) : The Scientific Substantiation of Functional Foods: Human Studies Toward the Global Standard, Inuyama, (November, 2006)
- 57)宮本真吾、安井由美子、鈴木里加子、甲野裕之、杉江茂幸、田中卓二。CB6F1-Tg-rasH2 マウスにおける4-NQO誘発舌発がん感受性 第23回日本毒性病理学会、東京(2007年1月)
- 58)甲野裕之、安井由美子、鈴木里加子、杉江茂幸、田中卓二。rasH2 マウスにおけるDENとMeIQxの発がん性について 第23回日本毒性病理学会、東京(2007年1月)
- 59)杉江茂幸、甲野裕之、鈴木里加子、安井由美子、宮本真吾、田中卓二。APNH/DSS誘発大腸発がんDNA adduct形成との関連性 第23回日本毒性病理学会、東京(2007年1月)
- 60) Yasui, Y., Kohno, H., Suzuki, R., Sugie, S., Niho, N., Takahashi, M., Wakabayashi, K. and Tanaka, T. Dextran Sodium Sulfate Strongly Promotes Colon Carcinogenesis in *ApcMin/+* mice. The 2nd Biennial Scientific Meeting of International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (The 2nd InSiGHT). Yokohama, (March, 2007)
- 61)曹雪源、塚本徹哉、田中晴就、溝下勤、関孝弘、森村茂、前田浩、立松正衛。スナネズミ動物モデルにおけるナタネ原油由来4-vinyl-2,6-dimethoxy-phenol [Canolol]の*H. pylori*感染および胃発癌の抑制 第13回日本がん予防学会総会、京都(2006年7月)
- 62)塚本徹哉、曹雪源、豊田武士、関孝弘、森村茂、前田浩、立松正衛。ナタネ原油由来抗酸化物質Canololの*H. pylori*感染スナネズミ腺胃発癌抑制効果、第23回日本疾患モデル学会総会、伊香保(2006年11月)
- 63)高山哲治。「癌化学予防の進歩」大腸癌の化学予防—GST- π 分子を標的として—第5回日本日本臨床腫瘍学会、札幌(2007年3月)
- 64)高山哲治。日本消化器病学会(2006)シンポジウム「消化器癌検診に有用な危険因子」大腸前癌病変と生活習慣病 第48回日本消化器病学会大会 札幌(2006年10月)
- 65)石川秀樹、澤田尚子、梶本仙子、大野秀樹。Imatinibにより直腸ポリープの縮小を認めた家族性大腸腺腫症の1例 第76回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、大阪(2006年3月)
- 65)石川秀樹、松浦成昭、田邊正喜、川村夏子、中村富子、竹山育子、酒井敏行。S状結腸粘膜mRNA発現量測定による大腸癌高危険度指標の開発、第76回日本衛生学会総会、山口(2006年3月)
- 66)石川秀樹。悪性腫瘍とプロバイオティクス第79回日本細菌学会総会シンポジウム、金沢(2006年3月)
- 67) Ishikawa, H. Dietetic Fiber and *Lactobacillus casei* for Prevention of Colorectal Tumors. International Symposium on Probiotics. メキシコシティ(2006年5月)
- 68)石川秀樹、佐伯智子、那須綾子、伊藤道哉。家族性大腸腺腫症の遺伝子診断時の抑うつ性、不安と受診行動の関係についての検討 第30回日本遺伝カウンセリング学会、大阪(2006年5月)
- 69)石川秀樹。臨床試験による癌予防研究の今後—分子生物学的指標を用いたオーダーメイド予防の可能性— 第13回日本がん予防学会ワークショップ、京都(2006年7月)
- 70)石川秀樹、松浦成昭、田邊正喜、川村夏子、酒井敏行。大腸癌予防試験における分子生物学的指標開発の意義 第26回日本分子腫瘍マーカー研究会シンポジウム、横浜(2006年9月)
- 71)石川秀樹。同一家系内で大腸ポリープ数が著しく異なる家族性大腸腺腫症の検討 第61回日本大腸肛門病学会総会ワークショップ、弘前(2006年9月)
- 72)石川秀樹。大腸癌の化学予防の現状と問題点 第44回日本癌治療学会総会シンポジウム、東京(2006年10月)
- 73)石川秀樹、権藤久延、河野敦子、坂井彰子、工藤香苗、辻野晶子、梶本仙子、栗原陽次郎、太田喜久子。家族性大腸腺腫症に対する徹底的な内視鏡的摘除 第78回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、大阪(2007年3月)

H. 知的所有権の取得状況

- (1) 特許取得
「腸ポリープ抑制剤」特願 2004-299217、PCT 出願中
「ウーロン茶葉抽出物 OTAC を有効成分とする発癌抑制剤」、特願 2005-169262 出願中
「キャノロールまたはそのプロドラッグ(PD)を含む抗炎症剤および癌予防剤ならびにこれらを含む医薬、化粧品および食品」、出願中
- (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

大腸および膵臓発がん抑制物質の検索

分担研究者 若林 敬二 国立がんセンター研究所 副所長

研究要旨 食品素材及び医薬品を対象としたがん予防剤、がん予防方法を開発し、臨床への応用を目指すことを目的として、本分担研究では、アディポサイトカインの大腸発がんへの関与を検討した。まず、高脂血症状態を呈する *Apc* 遺伝子欠損マウス (Min マウス) におけるアディポサイトカインの発現を調べ、その一つとして、トリグリセリドで誘導される plasminogen activator inhibitor-1 (Pai-1) が高発現していることを見出した。次に、その阻害剤を Min マウスに投与し、Pai-1 を十分に抑制する濃度において腸ポリープ生成が抑制されることを見出した。又、Pai-1 の阻害剤投与により血清中及び肝臓組織における Pai-1 の発現も減少することがわかった。

A. 研究目的

がんは、1981 年以来、我が国において死亡原因の第 1 位を占め、今後もさらに増え続けるものと予測される。このようながんの増加を抑制することは極めて重要である。本分担研究においては食品素材及び医薬品を対象として新規がん予防剤を検索、開発する基礎研究を行い、臨床応用を目指す。最終的には、安全性が高く、且つ有効ながん予防方法を確立することを目的とする。

B. 研究方法

アディポサイトカインの 1 つである Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 に注目し、その阻害剤 (SK-216, disodium [5-[[6-[5- (1,1-dimethylethyl-2-benzoxazolyl) -2-naphthalenyl]oxy] pentyl] propanedioate, 及び SK-116, disodium [5-[[6-[4-phenyl-6- (phenylmethoxy) -2-pyrimidinyl] -2-naphthalenyl] oxy] pentyl] propanedioate の家族性大腸腺腫症のモデルである Min マウスの腸管ポリープ生成数に与える影響を検討した。Pai-1 阻害剤である SK-216 を Min マウス (オス、6 週齢、各群 10 匹) に 0, 25, 50, 100 ppm の濃度で 9 週間混餌投与し、各々のマウスにおける小腸及び大腸ポリープの発生状況(腸の腺腫数及び大きさ)、血清トリグリセリド及び総コレステロール量を測定し、Pai-1 阻害剤の効果を野生型マウスと比較検討した。更に野生型と両 *Apc* 遺伝子欠損マウスの肝臓における Pai-1 の発現解析を Real-time PCR 法で行った。血清 Pai-1 値を ELISA 法にて測定し、小腸における Pai-1 蛋白発現分布を免疫染色法にて検討した。また、他の

Pai-1 阻害剤である SK-116 を Min マウス (オス、6 週齢、各群 10 匹) に 50 ppm の濃度で 9 週間混餌投与し、このマウスにおける小腸及び大腸ポリープの発生状況(腸の腺腫数及び大きさ)を検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験は国立がんセンターの実験動物取り扱い (倫理) 規定を遵守して行っている。

C. 研究結果

6 週齢 Min マウスに 0, 25, 50, 100 ppm SK-216 を 9 週間混餌投与した結果、腸管ポリープ数の総数は非投与群の 97, 64 ($p<0.05$)及び 56% ($p<0.01$)に減少した。6 週齢雄 Min マウスに別の Pai-1 阻害剤である SK-116 を 50 ppm 投与すると、腸ポリープ数は非投与群の 70% にまで減少した。*Apc* 遺伝子欠損マウスの肝臓の Pai-1 の発現は、野生型マウスと比べて 3 倍発現が上昇していることがわかった。また、血清における Pai-1 値は *Apc* 遺伝子欠損マウスにおいて野生型マウスと比べて 7 倍高値であった。肝臓における Pai-1 の発現量も血清における Pai-1 の蛋白量も SK-216 100 ppm の投与により野生型マウスのレベルにまで低下することもわかった。SK-116 50 ppm の投与によって血清の Pai-1 量は、非投与群の 20 ng/ml から 7 ng/ml にまで低下した。この値は SK-216 50 ppm の投与群の血清 Pai-1 量 (4 ng/ml) とほぼ同値であった。小腸における Pai-1 は上皮細胞において発現しており、間質では認めなかった。血清トリグリセリド値は SK-216 投与によって低下した。SK-116 投与においては SK-216 と同様に低下を認めたが、有意な変化ではなかった。両薬剤投与において総コレステロール値の変化は認められな

った。

以上のことより、Pai-1 阻害剤は *Apc* 遺伝子欠損マウスの腸ポリープ形成を抑制することが明らかとなった。

D. 考察

高脂肪食により大腸発がんが促進されることは疫学的にも動物発がん実験においても明らかとなっている。また、高脂肪食により誘発される高脂血症（高トリグリセリド血症と高コレステロール血症）も大腸がんのリスクと相関することが疫学的調査により示唆されている。近年、肥満患者やメタボリックシンドローム患者と発がんとの関連性も注目され、肥大化した白色脂肪細胞から分泌するアディポサイトカインの発がんへの関与が示唆されている。我々はこれまでに 2 種類の *Apc* 遺伝子欠損マウスの血清トリグリセリド値が経時的に急激に上昇することを見出した。更に、Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) リガンドや NO-1886 (LPL 誘導剤) を用い、*Apc* 遺伝子欠損マウスでみられる高脂血症状態を改善すると、腸ポリープ生成を抑制できることを見出してきた。これらの事は LPL ががん予防剤の新たなターゲットとなる可能性を示しており、トリグリセリドの下流で動いている分子についてもより詳細に検討することが重要であると考えられた。今回トリグリセリドの下流で動いている分子として注目した Pai-1 はメタボリック症候群において多く検出される線溶系の阻害因子である。近年発がんやがんの転移において注目されている分子であり、大腸がん組織においても周囲正常組織と比べ発現が亢進していることが知られている。本実験において Pai-1 の阻害剤の投与によって腸ポリープが濃度依存的に約 40%減少したことは、高トリグリセリド血症から腸ポリープが生成する過程に Pai-1 が関与していることを示唆している。今後 Pai-1 の細胞増殖等への作用を詳細に検討することが必要であると考えられた。また、その他のアディポサイトカイン (Adiponectin や IL-6 等) の腸発がんへの寄与を検討する必要があると考えられた。

Genetic な LPL 活性化として、LPL の内因性阻害因子である *Angptl3* を欠損させた *Apc* 遺伝子欠損マウスを作成中であり、腸ポリープ発生への影響を検討する予定である。血清脂質とポリープ生成との相互関係を明らかにすることで、より詳細な大腸発がんの機序や大腸発がん予防方策のデータが得られるものと考えられる。

E. 結論

Apc 遺伝子欠損マウスにおいて血清脂質が上昇

するに伴い腸管ポリープ生成が亢進する。このマウスに Pai-1 の阻害剤を投与するとポリープ生成が抑制された。このことより、食生活習慣の改善や高脂血症改善薬を用いるがん予防方法とともに高脂血症状態において誘導される PAI-1 を阻害するがん予防方法も可能であると考えられた。食の欧米化や運動の不足にともなう、大腸がん及びメタボリックシンドローム患者が増加している事を考えると、メタボリックシンドローム患者において発現亢進しているアディポサイトカインと大腸発がんとの関連性について今後さらに詳細に機序を解明することにより、高脂血症と大腸発がんとの関連性について新たな知見が得られるものと考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究論文

1. 論文発表

- 1) Takahashi, M., Mutoh, M., Shoji, Y., Sato, H., Kamanaka, Y., Naka, M., Maruyama, T., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Suppressive effect of an inducible nitric oxide inhibitor, ONO-1714, on AOM-induced rat colon carcinogenesis. *Nitric Oxide*, 14: 130-306 (2006).
- 2) Mutoh, M., Akasu, T., Takahashi, M., Niho, N., Yoshida, T., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Possible involvement of hyperlipidemia in increasing risk of colorectal tumor development in human familial adenomatous polyposis. *Jpn J Clin Oncol*, 36: 166-171 (2006).
- 3) Mutoh, M., Niho, N., and Wakabayashi, K. Concomitant suppression of hyperlipidemia and intestinal polyp formation by increasing lipoprotein lipase activity in *Apc*-deficient Mice. *Biol Chem*, 387: 381-385 (2006).
- 4) Mutoh, M., Takahashi, M., and Wakabayashi, K. Roles of prostanoids in colon carcinogenesis and their potential targeting for cancer chemoprevention. *Curr Pharm Des*, 12: 2375-2382 (2006).
- 5) Niho, N., Mutoh, M., Sakano, K., Takahashi, M., Hirano, S., Nukaya, H., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Inhibition of intestinal carcinogenesis

by a new flavone derivative, chafuroside, in oolong tea. *Cancer Sci*, 97: 248-251 (2006).

- 6) Niho, N., Kitamura, T., Takahashi, M., Mutoh, M., Sato, H., Matsuura, M., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Suppression of azoxymethane-induced colon cancer development in rats by a cyclooxygenase-1 selective inhibitor, mofezolac. *Cancer Sci*, 97: 1011-1014 (2006).
- 7) Otani, T., Iwasaki, M., Ikeda, S., Kozu, T., Saito, H., Mutoh, M., Wakabayashi, K., Tsugane, S. Serum triglycerides and colorectal adenoma in a case-control study among cancer screening examinees. *Cancer Causes and Control*, 17: 1245-1252 (2006).
- 8) Ueno, H., Sato, T., Yamamoto, S., Tanaka, K., Ohkawa, S., Takagi, H., Yokosuka, O., Furuse, J., Saito, H., Sawaki, A., Kasugai, H., Osaki, Y., Fujiyama, S., Sato, K., Wakabayashi, K., Okusaka, T. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of bovine lactoferrin in patients with chronic hepatitis C. *Cancer Sci*, 97: 1105-1110 (2006).
- 9) Sakano, K., Takahashi, M., Kitano, M., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Suppression of azoxymethane-induced colonic premalignant lesion formation by coenzyme Q10 in rats. *Asian Pac J Cancer Prev*, 7: 599-603 (2006).

2. 学会発表

- 1) 仁保直子、武藤倫弘、高橋真美、佐藤秀隆、杉村 隆、若林敬二。COX-1 選択的阻害剤モフェゾラクの AOM 誘発ラット大腸発がん抑制作用 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 2) 坂野克久、高橋真美、武藤倫弘、仁保直子、小宮雅美、佐藤秀隆、杉村 隆、若林敬二。BOP を投与した 2 型糖尿病モデル OLETF ラットにおける甲状腺がんの発生 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 3) 武藤倫弘、赤須孝之、仁保直子、小宮雅美、吉田輝彦、杉村 隆、若林敬二。家族性大腸腺腫症患者における脂質代謝異常の予備調査 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 4) 高橋真美、武藤倫弘、坂野克久、仁保直子、杉村 隆、若林敬二。大腸及び膵臓発がんの抑制機構 第 13 回日本がん予防学会、京都市 (2006 年 7 月)
- 5) 仁保直子、武藤倫弘、高橋真美、小宮雅美、杉村 隆、若林敬二。インドメタシンによる Min

マウスの高脂血症改善及び腸ポリープ形成抑制作用 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)

- 6) 坂野克久、高橋真美、北橋宗、武藤倫弘、仁保直子、小宮雅美、杉村 隆、若林敬二。ハムスター膵管発がんモデルにおける末梢膵管増生と発がんとの関連性 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 7) 高橋真美、武藤倫弘、坂野克久、杉村 隆、若林敬二。アゾキシメタン(AOM)誘発ラット大腸 flat aberrant crypt foci (ACF)におけるムチン消失と iNOS 発現 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 8) 小宮雅美、武藤倫弘、仁保直子、杉村 隆、若林敬二。Min マウスにおける PAI-1 阻害剤の腸ポリープ抑制作用 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 9) 北橋 宗、高橋真美、坂野克久、山川けいこ、横平政直、今井田克己、杉村 隆、若林敬二。肺発がん動物モデルにおける EGFR および K-ras 遺伝子変異の検索 第 65 回日本癌学会総会、横浜 (2006 年 9 月)
- 11) Michihiro Mutoh, Masami Komiyama, Naoko Niho, Mami Takahashi, Tsukasa Kitahashi, Takashi Sugimura and Keiji Wakabayashi, Role of hyperlipidemia in intestinal polyp development in *Apc*-deficient mice. Seventh AACR/JCA Joint International Conference, Hawaii, (Jan 2006)

H. 知的所有権の取得状況

- 1) 特許取得
「腸ポリープ抑制剤」特願 2004-299217、PCT 出願中
「ウーロン茶葉抽出物 OTAC を有効成分とする発癌抑制剤」, 特願 2005-169262 出願中
- 2) 実用新案登録
なし
- 1) その他
なし

分担研究者 白井智之 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学 教授

研究要旨 レスベラトロールの前立腺発がんに対する化学予防効果を前立腺発がんモデル動物である Transgenic Rat with Adenocarcinoma of Prostate (TRAP)を用いて検討した。3週齢の TRAP ラットにレスベラトロール（50, 100, 200ug/ml）を7週間飲料水投与した後、全動物を屠殺剖検した。前立腺癌の発生頻度は、いずれの葉においても群間で有意な差は認められなかったが、腺房面積に対する腺上皮の比率、すなわち前立腺腫瘍性病変の増殖率を定量した結果、腹葉および側葉においてレスベラトロール投与による増殖抑制効果が観察され、ウエスタン解析によってアンドロゲン受容体発現の低下が認められた。以上の結果からレスベラトロールは前立腺癌に対する化学予防剤として有望であることが明らかとなった。

A. 研究目的

赤ワインを摂取することにより心疾患、前立腺癌のリスクを減少することが疫学的に報告されており、この予防効果には赤ワイン中に含まれるポリフェノールが大きく寄与していることが示されている。そのポリフェノールの中で最も重要な物質がレスベラトロールであり、主としてブドウの皮に存在している。レスベラトロールは抗酸化作用を有するほか抗炎症作用、抗エストロゲン作用、Protein kinase C 阻害作用、血小板凝集抑制作用など多種多様な生理学的活性を示し、これらの機能を介して心疾患予防あるいは抗腫瘍効果を発揮すると考えられている。抗腫瘍効果の中で前立腺癌については、ヒト前立腺癌細胞株に対する増殖抑制効果が報告されているが、実験動物モデルを用いた *in vivo* での研究は報告されていない。そこで我々は当教室で作出した前立腺発がんモデル動物である Transgenic Rat with Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) (Asamoto, M. et al., Cancer Res., 2001) を用いた検討を行ない、レスベラトロールが TRAP における前立腺癌の発生・増殖に対する影響を検討した。

B. 研究方法

離乳直後の3週齢 TRAP 雄ラット 48 匹を4群に分け、2-4 群にはレスベラトロール（50, 100, 200 ug/ml）を飲料水投与し、1 群はレスベラトロールを投与しない対照群とした。実験期間7週間で全動物を屠殺剖検し、前立腺を中心に病理組織学的検索を行った。飼育期間中、体重測定および被検物質の摂取量測定を週1回実施した。病理組織学的検索として、H&E 染色による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イメージアナライザーにて前立腺上皮病変の広がり定量解析した。レスベラト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、組織標本を用いた Ki-67 labeling index、apoptotic index を計測したほか、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

全実験期間を通じてレスベラトロール投与群における体重増加抑制は認められず、剖検時の最終体重ではむしろ投与群においてやや増加傾向が観察された。肝、腎および腹葉前立腺の相対重量においても群間で明らかな差は認められなかった。各実験週における飲水量は群間で目立った差はなく、被験物質の平均摂取量は投与濃度に相関していた。血清中のテストステロン値は対照群である1群に比較して2, 3群では有意に低値を示したのに対し、4群では対照群とほぼ同程度で有意差は認められなかった。一方、エストラジオール値は各群間で明らかな差はみられなかった。

前立腺癌は腹葉および側葉に認められ、その発生頻度は群間で有意差はみられなかった。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、腹葉および側葉においてレスベラトロール投与による抑制効果が認められた。Ki-67 labeling index は腹葉、背葉、側葉のいずれにおいても群間で差はみられなかったのに対し、apoptotic index は腹葉のみでレスベラトロール投与群で有意な増加が観察された。腹葉前立腺組織を用いてウェスタン解析した結果、活性化カスパーゼ3および7、リン酸化 Erk1/2、Bcl-xL の発現は群間で著変はなかったが、アンドロゲン受容体(AR)タンパクの低発現がレスベラトロール投与群で観察された。RT-PCR により AR mRNA の発現量は群間で差がみられなかったため、AR タンパクの分解および翻訳に対する影響を検討した。ラットARを強制発現させたCOS7細胞にレスベラトロールを処置してAR発現レベルを1,2,4,8時間後に経時的に観察した結果、レスベラトロール処置によりAR分解速度がわずかに促進することが明らかとなった。MG132によりプロテアソームを阻害した後にレスベラトロールを処置してもARの発現低下は認められることからユベキ

チン・プロテアソーム分解系がレスベラトロールの主要標的ステップである可能性は低いと考えられた。そこで35p methionine を用いてARの翻訳段階に対する影響を検討した結果、レスベラトロール処置後4時間で56%、8時間で38%の減少が観察され、レスベラトロールはARを翻訳レベルで抑制することが明らかとなった。

D. 考察

今回注目したレスベラトロールは米国などでは寿命延長効果があるサプリメントとしてすでに広く販売されている。レスベラトロールは赤ブドウの皮には50~100 ug/g、赤ワイン中には10~40 uMの濃度で含まれていることが知られている。SDラットに対してヒトの日常生活での摂取量の約1,000倍量に相当する20mg/kg/dayを28日間連続投与した研究では全身諸臓器に対する毒性は明らかではなく、血液・生化学的にも著変はみられなかったと報告されている。今回の投与量もこれに匹敵するがTRAPラットにおける毒性変化は明らかではなく、化学予防剤としての必要条件是満たしているものと思われる。昨年度に示したγ-トコフェロールの前立腺発がん抑制メカニズムはカスパーゼ3および7の活性化、リン酸化 Erk1/2 の抑制を介したアポトーシスの亢進であり、レスベラトロールとは明らかに異なるメカニズムである。今後、抑制メカニズムの異なる複数の物質を組み合わせると相加・相乗的な化学予防効果を検討する必要があると思われる。

E. 結論

レスベラトロールのTRAPラット前立腺発がんに対する影響を検討した結果、前立腺癌の発生そのものを抑制することはなかったが増殖に対する抑制効果が明らかとなった。この結果は今までに報告されている*in vitro*における前立腺癌細胞の増殖抑制効果と一致するデータであった。レスベラトロールの前立腺癌細胞株LNCaPに対する増殖抑制

メカニズムの1つとして AR 発現を減少させることによる Androgen-AR pathway のブロックが明らかにされているが、動物モデルを用いた今回の研究でも AR タンパク発現低下を介したアポトーシスの亢進を惹起し、前立腺癌の増殖・進展を抑制したものと考えられた。初期のヒト前立腺癌はアンドロゲン依存性・反応性腫瘍であること、高濃度投与にも関わらず毒性変化はみられないことを考え合わせると、レスベラトロールはヒト前立腺癌に対する化学予防剤として極めて有望であると思われる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Hikosaka, A., Futakuchi, M., Ogiso, T., Suzuki, S., Kohri, K. and Shirai, T. Lack of prophylactic effect of incadronate on skeletal lesions associated with implants of prostate cancer. *Eur. Urol.*, 49:176-182 (2006).

Kawai, N., Ito, A., Nakahara, Y., Honda, H., Kobayashi, T., Futakuchi, M. and Shirai, T., Tozawa, K., Kohri, K. Complete regression of experimental prostate cancer in nude mice by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposome and a newly developed solenoid containing a ferrite core. *Prostate*, 66:718-727 (2006).

Said, M., Hokaiwado, N., Tang, M-X., Ogawa, K., Suzuki, S., Ghanem, H.N., Esmat, A.Y., Asamoto, M., Refaie, F.M. and Shirai, T. Inhibition of prostate carcinogenesis in probasin/SV40 T antigen transgenic rats by leuprorelin, a luteinizing hormone-releasing hormone agonist. *Cancer Sci.*, 97:459-467 (2006).

Tang, M-X, Ogawa, K., Asamoto, M., Hokaiwado, N., Seeni, A., Suzuki, S., Takahashi, S., Tanaka, T., Ichikawa,

K. and Shirai, T. Protective effects of citrus nobiletin and auraptene in transgenic rats developing adenocarcinoma of the prostate (TRAP) and human prostate carcinoma cells. *Cancer Sci.*, in press.

2. 学会発表

高橋智、朝元誠人、白井智之 ャトコフェノールの Transgenic Rat Carcinoma Model (TRAP) 前立腺癌がんに対する抑制効果 第95回日本病理学会総会、東京 (2006年4月)

唐明希、小川久美子、外岩戸尚美、朝元誠人、高橋智、田中卓二、白井智之 ヒト前立腺癌細胞株における Nobiletin と Auraptene の抑制効果 第13回日本がん予防研究会、京都 (2006年7月)

Seeni Azman, Satoru Takahashi, Kumiko Ogawa, Mitsuru Futakuchi, Shugo Suzuki and Tomoyuki Shirai. Inhibitory Effect on Prostate Carcinogenesis by Resveratrol in Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) model. 第13回日本がん予防研究会、京都 (2006年7月)

白井智之 前立腺がんの実験病理学的アプローチ、発がん機構と予防および治療にむけて、第3回日本病理学会カンファランス 東京 (2006年8月)

朝元誠人、唐明希、神田千恵、内木綾、外岩戸尚美、白井智之 ザクロジュースによる前立腺癌のアポトーシス誘導効果 第65回日本癌学会学術総会、横浜 (2006年9月)

高橋智、杉浦諭、竹下健太郎、Azman Seeni、小川久美子、白井智之 ャトコフェノールによるラット前立腺癌がん抑制作用の検討 第65回日本癌学会学術総会、横浜 (2006年9月)

唐明希、朝元誠人、外岩戸尚美、鈴木周五、小川

久美子、白井智之 Bowman-Birk Inhibitor によるラット前立腺発がんの抑制効果の検討 第 65 回日本癌学会学術総会、横浜 (2006 年 9 月)

Azman Seeni、高橋智、竹下健太郎、二口充、唐明希、白井智之 Resveratrol による前立腺発がん抑制作用の検討 第 65 回日本癌学会学術総会、横浜 (2006 年 9 月)

Seeni, A., Takahashi, S. and Shirai, T. Infibition of Prostate Carcinogenesis by by Resveratrol in Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate(TRAP) model. APOCP Satellite Meeting 2006, Chiangmai (November, 2006)

Takahashi, S., Seeni, A., Takeshita, K. and Shirai, T. Suppression Effect of Prostate Carcinogenesis by Resveratrol in Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) Model. American Association for Cancer Research Special Conference in Cancer Research. San Francisco (December, 2006)

高橋智、小川久美子、朝元誠人、二口充、佐藤慎哉、白井智之 Resveratrol によるラット前立腺発がんに対する抑制効果 第 96 回日本病理学会総会、大阪 (2007 年 3 月)

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

なし。