

week or administered in diet continuously in the other chemopreventive studies, but injected three times a week in this study, according to the clinical trial study⁷.

In the multi-organ model (DMBDD model)^{20,21,23,33} incidences of colon tumor development have been reported to range from 10 to 80%, therefore the figure of 10% achieved in the present study was relatively low. Thus, one reason for the lack of obvious influence of DHA could have been due to weak initiation.

Recently, different results regarding the chemopreventive effect of DHA-E in diet using the same model were published by an other group³³. They showed an inhibitory effect on carcinogenesis in the small intestine, large intestine and lung by DHA. They used synthetic diet (modified AIN-93) as basal diet for the experiment, but we used a conventional diet (Oriental MF), this may have been the cause of the different results.

DHA has been reported as an useful chemopreventive agent in many rodent studies¹⁻⁶. However, in a long-term trial using concentrated DHA in fish oil capsules containing about 30% DHA in triglyceride form, for patients in a high-risk group for colorectal cancer, three patients with FAP developed cancers, one endometrial, one colon and one lung⁷. During the trial, no marked increase or decrease in the number of polyps was observed.

In the present experiment, no promotion activity of either DHA-E or DHA-TG was found in any organ including the large intestine. The reason for the tumor development seen in the clinical trial study with DHA-TG treatment could not therefore be clarified in the present study.

Acknowledgements: This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Cancer Research from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan, a grant from the Society for Promotion of Pathology of Nagoya, and a grant from Nippon Suisan Kaisha, Ltd., Japan.

References

1. Takahashi M, Minamoto T, Yamashita N, Yazawa K, Sugimura T, and Esumi H. Reduction in formation and growth of 1,2-dimethylhydrazine-induced aberrant crypt foci in rat colon by docosahexaenoic acid. *Cancer Res.* 53: 2786-2789. 1993.
2. Takahashi M, Minamoto T, Yamashita N, Kato T, Yazawa K, and Esumi H. Effect of docosahexaenoic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Lett.* 83: 177-184. 1994.
3. Takahashi M, Fukutake M, Isoi T, Fukuda K, Sato H, Yazawa K, Sugimura T, and Wakabayashi K. Suppression of azoxymethane-induced rat colon carcinoma development by a fish oil component, docosahexaenoic acid (DHA). *Carcinogenesis.* 18: 1337-1342. 1997.
4. Takahashi M, Totsuka Y, Masuda M, Fukuda K, Oguri A, Yazawa K, Sugimura T, and Wakabayashi K. Reduction in formation of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced aberrant crypt foci in the rat colon by docosahexaenoic acid (DHA). *Carcinogenesis.* 18: 1937-1941. 1997.
5. Appel MJ and Wouterson RA. Modulation of growth and cell turnover of preneoplastic lesion and of prostaglandin levels in rat pancreas by dietary fish oil. *Carcinogenesis.* 15: 2107-2112. 1994.
6. Noguchi M, Minami M, Yagasaki R, Kinoshita K, Earashi M, Kitagawa H, Taniya T, and Miyazaki I. Chemoprevention of DMBA-induced mammary carcinogenesis in rats by low-dose EPA and DHA. *Br J Cancer.* 75: 348-353. 1997.
7. Akedo I, Ishikawa H, Nakamura T, Kimura K, Takeyama I, Suzuki T, Kameyama M, Sato S, Nakamura T, Matsuzawa Y, Kakizoe T, and Otani T. Three cases with familial adenomatous polyposis diagnosed as having malignant lesions in the course of a long-term trial using docosahexaenoic acid (DHA)-concentrated fish oil capsules. *Jpn J Clin Oncol.* 28: 762-765. 1998.
8. Hirose M, Tanaka H, Takahashi S, Futakuchi M, Fukushima S, and Ito N. Effects of sodium nitrite and catechol, 3-methoxycatechol, or butylated hydroxyanisole in combination in a rat multiorgan carcinogenesis model. *Cancer Res.* 53: 22-37. 1993.
9. Imaida K, Fukushima S, Shirai T, Ohtani M, Nakanishi K, and Ito N. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2 stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rats. *Carcinogenesis.* 4: 895-899. 1983.
10. Wattenberg LW and Sporn VL. Inhibitory effects of butylated hydroxyanisole on methylazoxymethanol acetate-induced neoplasia of the large intestine and on nicotinamide adenine dinucleotide-dependent alcohol dehydrogenase activity in mice. *J Natl Cancer Inst.* 63: 219-222. 1979.
11. Ito N, Imaida K, Tsuda H, Shibata M, Aoki T, deCamargo JLV, and Fukushima S. Wide-spectrum initiation models: possible application to medium-term multiple organ bioassays for carcinogenesis modifiers. *Jpn J Cancer Res.* 79: 413-417. 1988.
12. Thamavit W, Fukushima S, Kurata Y, Asamoto M, and Ito N. Modification by sodium L-ascorbate, butylated hydroxytoluene, phenobarbital and pepleomycin of lesion development in a wide-spectrum initiation rat model. *Cancer Lett.* 45: 93-101. 1989.
13. Shibata M-A, Fukushima S, Takahashi S, Hasegawa R, and Ito N. Enhancing effects of sodium phenobarbital and *N*,*N*-dibutylnitrosamine on tumor development in a rat wide-spectrum organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis.* 11: 1027-1031. 1990.
14. Fukushima S, Hagiwara A, Hirose M, Yamaguchi S, Tiwawech D, and Ito N. Modifying effects of various chemicals on preneoplastic and neoplastic lesion development in a wide-spectrum organ carcinogenesis model using F344 rats. *Jpn J Cancer Res.* 82: 642-649. 1991.
15. Takahashi S, Hasegawa R, Masui T, Mizoguchi M, Fukushima S, and Ito N. Establishment of a multi-organ carcinogenesis bioassay using rats treated with a combination of five different carcinogens. *J Toxicol Pathol.* 5: 151-156. 1992.
16. Fukushima S, Shibata M-A, Hirose M, Kato T, Tatematsu M, and Ito N. Organ-specific modification of tumor development by low-dose combinations of agents in a rat

- wide-spectrum carcinogenesis model. *Jpn J Cancer Res.* **82**: 784–792. 1991.
17. Hirose M, Hoshiya T, Akagi K, Takahashi S, Hara Y, and Ito N. Effects of green tea catechins in a rat multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis.* **14**: 1549–1553. 1993.
 18. Hagiwara A, Tanaka H, Imaida K, Tamano S, Fukushima S, and Ito N. Correlation between medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay data and long-term observation results in rats. *Jpn J Cancer Res.* **84**: 237–245. 1993.
 19. Takahashi S, Hakoi K, Yada H, Hirose M, Ito N, and Fukushima S. Enhancing effects of diallyl sulfide on hepatocarcinogenesis and inhibitory actions of the related diallyl disulfide on colon and renal carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis.* **13**: 1513–1518. 1992.
 20. Taniyama T, Wanibuchi H, Salim EI, Yano Y, Otani S, Nishizawa Y, Morii H, and Fukushima S. Chemopreventive effect of 24*R*,25-dihydroxyvitamin D3 in *N,N'*-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Carcinogenesis.* **21**: 173–178. 2000.
 21. Shibata M-A, Hasegawa R, Imaida K, Hagiwara A, Ogawa K, Hirose M, Ito N, and Shirai T. Chemoprevention by dehydroepiandrosterone and indomethacin in a rat multiorgan carcinogenesis model. *Cancer Res.* **55**: 4870–4874. 1995.
 22. Hirose M, Takesada Y, Tanaka H, Tamano S, Kato T, and Shirai T. Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay model. *Carcinogenesis.* **19**: 207–212. 1997.
 23. Kimura J, Takahashi S, Ogiso T, Yoshida Y, Akagi K, Hasegawa R, Kurata M, Hirose M, and Shirai T. Lack of chemoprevention effects of the monoterpene d-limonene in a rat multi-organ carcinogenesis model. *Jpn J Cancer Res.* **87**: 589–594. 1996.
 24. Bird RP. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer Lett.* **37**: 147–151. 1987.
 25. Tatematsu M, Mera Y, Ito N, Satoh K, and Sato K. Relative merits of immunohistochemical demonstrations of placental, A, B and C forms of glutathione *S*-transferase as markers of altered foci during liver carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis.* **6**: 1621–1626. 1985.
 26. Tsuda H, Uehara N, Iwahori Y, Asamoto M, Iigo M, Nagao M, Matsumoto K, Ito M, and Hirono I. Chemopreventive effects of β -carotene, α -tocopherol and five naturally occurring antioxidants on initiation of hepatocarcinogenesis by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline in the rat. *Jpn J Cancer Res.* **85**: 1214–1219. 1994.
 27. Tsuda H, Iwahori Y, Asamoto M, Baba-Toriyama H, Hori T, Kim DJ, Uehara N, Iigo M, Takasuka N, Murakoshi M, Nishino H, Kakizoe T, Araki E, and Yazawa K. Demonstration of organotropic effects of chemopreventive agents in multiorgan carcinogenesis models. *IARC Sci Publ.* **139**: 143–150. 1996.
 28. Rahman KMW, Sugie S, Okamoto K, Watanabe T, Tanaka T, and Mori H. Modulating effects of diets high in ω -3 and ω -6 fatty acids in initiation and postinitiation stages of diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Jpn J Cancer Res.* **90**: 31–39. 1999.
 29. Sugie S, Okamoto K, Tanaka T, Mori H, Reddy BS, and Satoh K. Effect of fish oil on the development of AOM-induced glutathione *S*-transferase placental form positive hepatocellular foci in male F344 rats. *Nutr Cancer.* **24**: 187–195. 1995.
 30. Iigo M, Nakagawa T, Ishikawa C, Iwahori Y, Asamoto M, Yazawa K, Araki E, and Tsuda H. Inhibitory effects of docosahexaenoic acid on colon carcinoma 26 metastasis to the lung. *Br J Cancer.* **75**: 650–655. 1997.
 31. Reddy BS, Burill C, and Rigotty J. Effects of diets high in ω -3 and ω -6 fatty acid on initiation and postinitiation stages of colon carcinogenesis. *Cancer Res.* **51**: 487–491. 1991.
 32. Paulsen JE, Stamm T, and Alexander J. A fish oil-derived concentrate enriched in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid as ethyl esters inhibits the formation and growth of aberrant crypt foci in rat colon. *Pharmacol Toxicol.* **82**: 28–33. 1998.
 33. Toriyama-Baba H, Iigo M, Asamoto M, Iwahori Y, Park CB, Han BS, Takasuka N, Kakizoe T, Ishikawa C, Yazawa K, Araki E, and Tsuda H. Organotropic chemopreventive effects of n-3 unsaturated fatty acid in a rat multi-organ carcinogenesis model. *Jpn J Cancer Res.* **92**: 1175–1183. 2002.

◆臨床

肥満と癌 —癌専門医の立場から—

石川 秀樹 中村 富予 竹山 育子

京都府立医科大学 分子標的癌予防医学

肥満と癌の関係について、疫学的研究成果を紹介した。世界がん研究基金/米国がん研究協会が示したレビューでは、肥満と関係することが確定的な癌は子宮内膜癌、ほぼ確実な癌は乳癌と腎癌、可能性のある癌は胆嚢癌と大腸癌としている。これらの報告が日本人についても当てはまるか否かを検討した日本がん疫学研究会がん予防指針検討委員会のレビューでは、日本人の研究でも関連が認められたのは乳癌のみで、それ以外は日本人の研究は不十分とされた。日本人と欧米人では肥満の程度や食生活などが著しく異なるため、今後、日本人のデータの蓄積が重要と考えられる。

キーワード

肥満, 癌, 疫学

はじめに

適正に体重を維持することにより糖尿病や心疾患が予防できることは広く知られているが、最近になり、癌についても体重との関係が指摘されるようになってきた。

本稿では、これまでに報告された国内外の疫学研究データから、肥満と癌の関係について紹介する。なお、疫学的研究では、肥満については体重やBMI (Body Mass Index) から定義されており、これまでの報告では、体脂肪率や内臓型肥満などを考慮した検討はほとんどされていない。

1 世界がん研究基金/米国がん研究協会の報告

1997年に、世界がん研究基金(WCRF; World Cancer Research Fund)/米国がん研究協会(AICR; American Institute for Cancer Research)から、世界の代表的疫学

表1 肥満と癌の関係

確定的	閉経後子宮内膜癌
ほぼ確実	乳癌, 腎癌
可能性あり	胆嚢癌, 大腸癌

(文献1より)

者15人による癌と食生活に関する疫学研究データのレビューが報告された¹⁾。この報告によれば、肥満が進むにつれて発癌リスクが増加することが確定的な癌は、子宮内膜癌、ほぼ確実な癌は乳癌と腎癌、可能性のある癌は胆嚢癌と大腸癌としている(表1)。また、癌予防を念頭に置いた適切なBMIは21から23の間としている。

2 日本がん疫学研究会がん予防指針検討委員会の報告

前述の報告書は主に欧米人を対象とした研究であり、日本人を対象とした研究はほとんど

ど含まれていなかったため、1998年に日本がん疫学研究会がん予防指針検討委員会が、前述の報告が日本人にも当てはめることができるか否かを検討して報告している²⁾。乳癌に関しては、日本人を対象とした報告は数編あり、肥満は閉経後の乳癌でリスクが上昇する結果でほぼ一致している。それ以外の癌については、日本人における研究は不十分としている。

3 文部科学省科学研究費がん特定領域「ヒトがんの環境・宿主要因に関する疫学的研究」(文科省コホート研究)の報告

最近になり、日本人を対象とした大規模なコホート研究である文部科学省科学研究費がん特定領域「ヒトがんの環境・宿主要因に関する疫学的研究」(文科省コホート研究)から、多くの知見が報告されるようになってきた。その中で、肥満と結腸癌の関係について Tamakoshiら³⁾から報告されている。この報告では、40歳から79歳までの男女7万人以上を10年間追跡し、249人の結腸癌死亡を把握し、エントリー時のBMIと結腸癌の関連について検討している。結果では、男性においては肥満と結腸癌死亡に関連は認めなかったが、女性ではBMIが大きくなるほど結腸癌死亡リスクが増加していた(BMI 20~22に比してBMI 28以上でリスク比は3.41倍)。しかし、BMIが20以下の者では、BMI 20~22に比してリスク比が1.61倍と上昇しているため、やせも結腸癌のリスクと考えている。

4 厚生労働省がん研究助成金による指定研究班「多目的コホートに基づくがん予防など健康の維持・増進に役立つエビデンスの構築に関する研究」(厚労省コホート研究)の報告

もう一つの日本人を対象とした大規模なコホート研究である厚生労働省がん研究助成金

による指定研究班「多目的コホートに基づくがん予防など健康の維持・増進に役立つエビデンスの構築に関する研究」(厚労省コホート研究)からも、肥満と死亡率⁴⁾や癌⁵⁾の関係について報告している。肥満と死亡率の研究は、40歳から59歳までの男女約4万人を10年間追跡した研究で、男性はBMIが23.0~24.9の群で最も死亡率が低く、それよりも少なくとも多くても死亡率は増加し、最大、最少の群ではリスク比は約2倍になり、これまでは適正範囲と考えられていたBMIが19.0~22.9の範囲でも死亡率が高くなる傾向を認めている。肥満と癌全体の発生率との研究は、40歳から69歳までの男女約9万人を10年以上にわたり追跡し、約5,000人の癌を把握した研究で、女性ではBMIと癌の発生には特に関係は認めなかったが、男性ではBMIが21~29では癌の罹患率はほぼ同じであったが、BMIが21未満と30以上で発生率が高くなる傾向が見られた。今後報告されるであろう各臓器別の解析が待たれる。

これらの報告より、肥満だけではなく、やせも癌を促進する因子であり、減量指導にはやせすぎに注意が必要なこと、適切なBMIはこれまで考えられていたより高い可能性があること、などが明らかになった。

5 腺腫をエンドポイントにしたコホート研究

私たちは、多発性大腸腺腫患者380人を対象とした小麦ふすま・乳酸菌製剤による大腸発癌予防臨床試験を実施した⁶⁾。この研究では、4年目の大腸内視鏡検査にて診断された大腸腺腫は、小麦ふすまビスケットの摂取群では大きいものが増える傾向があり、乳酸菌製剤の摂取群では異型度の強いものが減少する傾向が見られた。この試験の参加者は、全員、定期的に身長、体重の測定を行っていたため、そのデータを用いて、肥満と4年目の

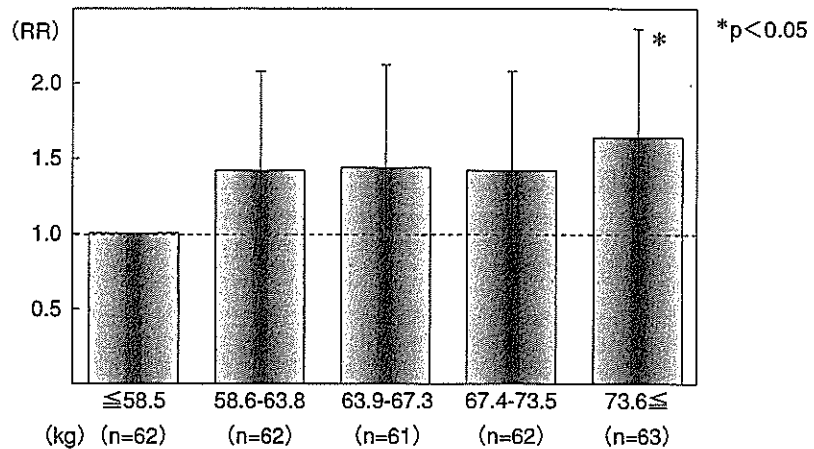


図1 体重と4年目大腸腫瘍発生(男性)

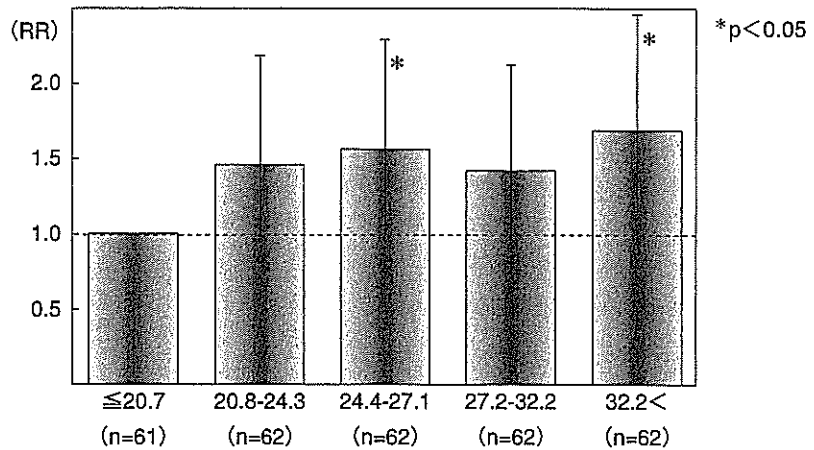


図2 BMIと4年目大腸腫瘍発生(男性)

大腸腺腫の発生についてコホート解析を行った。今回の解析では、女性は症例数が少なかったため、男性のみで解析した。2年目から4年目にかけて53.4%で新たな腺腫の発生を認めた。体重が58.5kg以下に比して、それよりも重い者は腺腫の発生リスク比は上昇し、73.6kg以上では1.5倍以上になった(図1)。BMIでも20.7以下に比してそれ以上では発生リスク比は上昇した(図2)。エントリー時に

BMIが25以上の肥満者174人について、4年間に体重が2.5kg以上減少した群と減少しなかった群と比較すると、有意差はないものの、2.5kg以上減少した群で4年目の腺腫の発生リスク比は0.83とやや減少する傾向が見られた。

肥満の原因としては、内分泌性や遺伝性、代謝性などのほかに、過食や運動不足などが考えられる。そこで、過食との関係を確認するために、エントリー時のエネルギー摂取量

と4年目の大腸腺腫発生状況を比較したが、一定の傾向を認めなかった。したがって、これらの症例の肥満の原因の一つとして運動不足が重要と考えられた。運動不足と大腸癌の関係は、これまでの疫学的知見からほぼ確実と考えられており、これらの知見と合致すると考えられる。

最後に

肥満と癌の関係について、主に疫学的研究成果について述べ、私たちの臨床試験の結果も紹介した。これまでの知見から、高度の肥満と癌の関係は間違いないと考えられるが、適切なBMIについてはこれまでに考えられた値よりやや高値の可能性があり、やせも癌を促進する可能性があること、大腸癌では運動不足が重要な役割をしている可能性などを述べた。

欧米人と日本人では、体格や体型などが著しく異なるため、日本人による日本人のための知見を多く見出し、それをういた生活指導を行うことが重要である。

文献

- 1) World Cancer Research Fund & American Institute for Cancer Research. "Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: a global perspective", 1997, pp216-251
- 2) 日本がん疫学研究会癌予防指針検討委員会編著：生活習慣と主要部位のがん。九州大学出版会, 1998
- 3) Tamakoshi K et al : A prospective study of body size and colon cancer mortality in Japan : The JACC Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28 : 551-558, 2004
- 4) Tsugane S et al : Under and Over-weight Impact on Mortality among Middle-aged Japanese Men and Women : a Ten-year Follow-up of JPHC Study Cohort I. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26 : 529-537, 2002
- 5) Inoue M et al : Impact of Body Mass Index on the Risk of Total Cancer Incidence and Mortality Among Middle-Aged Japanese : Data from a Large-Scale Population-Based Cohort Study - The JPHC Study. *Cancer Causes Control* 15 : 671-680, 2004
- 6) Ishikawa H et al : Randomized trial of dietary fiber and Lactobacillus casei administration for prevention of colorectal tumors. *Int J Cancer*, 2005, in-press

筆者プロフィール

石川 秀樹 (いしかわ ひでき)

1984年兵庫医科大学卒業、1984年大阪大学医学部第2内科入局、1986年大阪府立成人病センター勤務、2002年兵庫医科大学医学部家族性腫瘍部門学内講師、2005年京都府立医科大学分子標的癌予防医学博士研究員、現在に至る。専門：発癌予防、疫学、介入試験、消化器病学。

Obesity and cancer

Hideki Ishikawa, Tomiyo Nakamura and Ikuko Takeyama

Department of Molecular-Targeting Cancer Prevention, and Department of Epidemiology for Community Health and Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine

This paper reviews several aspects of the association between obesity and cancer. Current perspectives of cancers of the breast, endometrium, colon, gallbladder and kidney are described. The evidence that obesity increases the risk of cancer of the endometrium is convincing. Obesity also probably increases the risk of cancer of the breast in postmenopausal women and cancer of the kidney. It possibly increases the risk of cancer of the colon. However, in Japanese, a U-shaped association between BMI and cancer occurrence was observed, with men with a BMI of 23.0-24.9 having the lowest risk of cancer occurrence. Therefore, it is important to guide preferable body weight.

Key words

obesity, cancer, epidemiology



遺伝性大腸癌の癌予防の現状と将来の展望

石川 秀樹^{*1,2}[*Jpn J Cancer Chemother* 32(7):973-976, July, 2005]

Prevention of Carcinogenesis in Familial Tumors: Hideki Ishikawa (^{*1}Dept. of Molecular-Targeting Cancer Prevention, ^{*2}Dept. of Epidemiology for Community Health and Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine)

Summary

This report reviews the state of the art of cancer prevention of familial colorectal cancer (familial adenomatous polyposis, hereditary non-polyposis colorectal cancer). A large number of clinical trials have been performed using sulindac, a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Sulindac reduces the size and number of large bowel polyps. However, as yet, it cannot be used for this indication in the clinical setting, because of the frequent occurrence of serious gastrointestinal side effects, and there are a number of cases in which aggressive tumors developed despite a reduction in the size of polyps. Studies on COX-2 selective inhibitors, with minimal side effects on the digestive tract, are showing promising results. In addition to NSAIDs, clinical trials have been performed using vitamins and dietary components. These show minimal side effects, but their efficacy is still insufficient for clinical use, and further studies are anticipated. Key words: Cancer prevention, Colorectal cancer, Familial cancer, Corresponding author: Dr. Hideki Ishikawa, Department of Molecular-Targeting Cancer Prevention, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, 3-1-2F Kyomachibori, Nishi-ku 2-chome, Osaka 550-0003, Japan

要旨 遺伝性腫瘍の代表的疾患である家族性大腸腺腫症と遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) における癌の一次予防と二次予防について現状を紹介し、併せて将来への展望を述べた。家族性大腸腺腫症の一次予防については前癌病変摘除、生活習慣変容、薬による発癌予防 (化学予防) などの研究が積極的に行われている。家族性大腸腺腫症の二次予防では大腸癌、胃癌、十二指腸癌は内視鏡検査による早期発見が重要である。HNPCC における一次予防、二次予防はいまだ確立しておらず、さらなる研究が必要である。

I. 癌の一次予防と二次予防とは

癌予防対策には、一次予防と二次予防がある。「一次予防」とは、発癌を予防することであり、食事・運動指導や禁煙指導などがある。「二次予防」とは、早期に癌を発見し、治療することにより癌死を予防することであり、定期的な検査や癌検診などがある。この二つを組み合わせ、癌予防対策は行われる。

本稿では、遺伝性腫瘍の代表的疾患である家族性大腸腺腫症と遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) における癌の一次予防と二次予防について現状を紹介し、併せて将来への展望を述べる (表1, 2)。

II. 家族性大腸腺腫症の大腸癌の一次予防

1. 前癌病変摘除による予防

大腸癌の一次予防として、評価が定まっているのは予防的大腸摘出である¹⁾。大腸を全摘すれば大腸癌は発生しないが、術後に下痢などによる生活の質 (QOL) の低下が問題となる。

大腸癌の母地と考えられる比較的大きな (おおよそ7 mm 以上) ポリープを内視鏡的に摘除することで大腸癌の発生が予防できる可能性も考えられるが、その有効性についてはいまだ不明である。

将来は、十分に計画された大規模な臨床調査により、

*2 京都府立医科大学大学院医学研究科・地域保健医療疫学

表 1 家族性大腸腺腫症 (FAP) の一次予防と二次予防

	一次予防	二次予防
大腸癌	予防的大腸摘出術, 内視鏡的ポリープ摘除 適度な運動 赤身肉, アルコールの摂取制限 野菜の摂取促進	16 歳ごろからの定期的な大腸内視鏡検査
胃癌	胃腺腫の摘除, 禁煙	20 歳ごろからの定期的な上部消化管内視鏡検査
十二指腸癌	十二指腸腺腫の摘除	20 歳ごろからの定期的な上部消化管内視鏡検査
甲状腺癌	不明	触診, 甲状腺超音波検査
デスモイド	術直後の妊娠を避ける	腹部超音波検査

表 2 遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) の一次予防と二次予防

	一次予防	二次予防
大腸癌	適度な運動 赤身肉, アルコールの摂取制限 野菜の摂取促進	20 歳前半から 1~2 年に 1 回の大腸内視鏡検査
胃癌	禁煙	30 歳前半から 1~2 年に 1 回の上部消化管内視鏡検査
子宮内膜癌	肥満予防	30 歳前半から 1~2 年に 1 回の婦人科検診, 細胞診, CA 125 の血液検査, 超音波検査
腎盂・尿管癌	禁煙	30 歳前半から 1~2 年に 1 回の尿検査, 超音波検査 血尿を認めたらすぐに精査
小腸癌	不明	便潜血検査

ポリープが比較的少ない家族性大腸腺腫症では内視鏡的大腸ポリープ摘除により大腸手術の時期を高齢にシフトしたり, 手術が不要になる知見が得られることが期待される。

2. 生活習慣変容による予防

家族性大腸腺腫症の同一家系でも発癌時期やポリープの大きさに差がみられることから, 大腸腫瘍の増大や癌化には遺伝子変異だけではなく, 運動や食事, 喫煙などの環境要因も関与していると考えられる。しかし, 家族性大腸腺腫症における環境要因と発癌との関係についてはまだ知見が集積されていない。したがって, 現状では家族性大腸腺腫症でも一般人を対象とした大腸癌予防のための知見を当てはめて指導することになる。これまでに大腸癌を予防することが判明している生活習慣としては, 適度な運動, 赤身肉を 1 日 80 g 以下, アルコールは 1 日に男性は 1 合, 女性は 0.5 合まで, 野菜の十分な摂取などがある。大腸を摘出していない患者には, このような食生活指導を勧めるべきであろう。

将来は, 家族性大腸腺腫症に対するコホート研究や症例対照研究などの疫学的観察研究が行われ, 家族性大腸腺腫症のための大腸ポリープを抑制する生活習慣指導内容が示されることが期待される。

3. 薬による発癌予防

家族性大腸腺腫症の大腸には, 前癌病変と考えられる大腸腺腫が多数存在する。この大腸腺腫を発癌の中間代

理指標とした臨床試験が多く報告されている²⁾。非ステロイド系抗炎症剤 (NSAIDs) の一つであるインドメサシン (indomethacin) が化学発癌によるラット大腸癌の発生を予防することを 1980 年に Kudo ら³⁾が最初に見だして以来, ラットやマウスを用いた実験で各種の NSAIDs が大腸発癌を予防することが多く報告されている。また, ヒトにおいてもアスピリンの長期服用者に大腸癌の罹患が少ないことが, 症例対照研究⁴⁾やコホート研究⁵⁾で報告されている。NSAIDs のなかでもスリダクはプロドラッグであり, その他の NSAIDs に比べて消化管への傷害が比較的少ないことから, スリダクを用いた化学予防試験が多く行われている。1983 年に Waddell ら⁶⁾が家族性大腸腺腫症患者 4 例に対して, スリダクを投与し直腸のポリープがほとんど消失したことを報告したのが最初である。その後, 多数の臨床試験が行われ, そのすべての研究でスリダクは家族性大腸腺腫症のポリープを退縮させることが報告された。その機序として, スリダクが大腸粘膜の細胞増殖を低下させ, アポトーシスを亢進させることが考えられたが, これまでの報告ではスリダクの大腸粘膜に対する細胞増殖やアポトーシスに与える影響について意見は一致していない。

スリダクや NSAIDs の投与により, 消化管の出血や潰瘍, 穿孔などの重篤な副作用が報告されている。本来, NSAIDs は慢性リウマチなどの疾患に対する痛み止め

として用いられるものであり、長期間使用するものではないため、長期間の投与には注意が必要である。

正常の粘膜では発現していない cyclooxygenase-2 (COX-2) が大腸癌組織では発現していること、正常の消化管粘膜には COX-2 は発現しておらず COX-2 のみを阻害したならば消化管粘膜への傷害は低いと考えられることから、celecoxib や rofecoxib などの COX-2 選択的阻害剤による臨床試験⁷⁻⁹⁾が行われている。これまでの報告では家族性大腸腺腫症に COX-2 選択的阻害剤を投与すると大腸ポリープは縮小するが、痛み止めに用いる程度の量では縮小効果は少なく、大量に投与しないと効果が無いようである。さらに、COX-2 選択的阻害剤の長期投与により心筋梗塞が増加することも指摘され、現時点では COX-2 選択的阻害剤の使用を勧めることはできない。

さらに、スリダクを投与してポリープは退縮したにもかかわらず、進行癌が発生したとの症例報告も散見される。また、散发性の大腸腺腫患者においても、スリダクの投与中に直腸癌が発生したことも報告されている。

スリダク以外では、NSAIDs としてインドメサシンの坐剤や経口投与による臨床試験が行われている。インドメサシンでも大腸ポリープは減少するが、消化管粘膜傷害による貧血の報告もあり、長期間の継続した投与には問題が多いと考える。抗癌剤の一つである 5-fluorouracil の坐剤の投与でも大腸ポリープの減少が報告されているが、これも副作用の問題が大きいと思われる。NSAIDs 以外ではビタミン C、ビタミン E、カルシウム、小麦ふすま、ドコサヘキサエン酸、緑茶抽出物など、ビタミン剤や食品成分を用いた報告がある。これらは NSAIDs に比べて副作用は少ないが、効果についてはスリダクほど有効性が認められているものはない。われわれは緑茶抽出物を用いた二重盲検試験 (J-FAPP Study) を実施中であり、2005 年末にはその効果が明らかになる予定である。

将来は長期に服用しても安全で効果的な化学予防剤が開発され、家族性大腸腺腫症患者の大腸切除の手術時期を遅らせることや、手術を回避できるようになることが期待される。

III. 家族性大腸腺腫症の二次予防

1. 大腸癌に対する二次予防

家族性大腸腺腫症の診断がいたら大腸摘出術を検討するが、小さい腺腫のみの例、大きい腺腫の数が少ない例などでは、比較的大きな腺腫を内視鏡的に摘除しながら嚴重な経過観察 (6~8 か月に 1 回の全大腸内視鏡検

査) を行う場合もある。

しかし、嚴重な経過観察をしていても進行癌が発生した報告もあること、頻繁に大きい腺腫を内視鏡的に摘除することにより、手術を回避できるか否かについての知見がまだ得られていないことより、大腸切除術を行わずに経過観察する場合には、その危険性について十分な説明と本人の理解が必要である。また、20 歳ごろの多感な時期に負担の多い大腸内視鏡検査を頻繁に行うため、確実に経過観察を行うためには、医師だけではなく看護師やカウンセラーなどを含めた組織的な受診勧告のシステムを整えることが重要である。

直腸を残す結腸全摘回腸直腸吻合術 (ileorectal anastomosis: IRA) では、直腸の癌を早期に発見するために 6 か月から 1 年ごとに大腸内視鏡検査を行い、大きな腺腫を認めれば内視鏡的に摘除する。大腸全摘回腸肛門吻合術 (ileoanal anastomosis: IAA) や大腸全摘回腸肛門管吻合術 (ileoanalcanal anastomosis: IACA) でも肛門にわずかに直腸粘膜が残存し、そこから大腸癌が発生する可能性もあり、術後長期間経過すると J 型回腸嚢に腺腫が発生することもあるため、IAA 術後でも数年ごとの肛門からの内視鏡検査を行うことが望ましい。

2. 胃癌、十二指腸癌に対する二次予防

20 歳ごろからの定期的な上部消化管内視鏡検査を行う。

胃腺腫は癌化の可能性があるため、比較的大きな腺腫は内視鏡的摘除が必要である。胃癌が発生すれば、通常の胃癌と同様の治療を行う。

比較的大きな十二指腸腺腫は内視鏡的摘除を行うが、屈曲部位で蠕動が強く、腸壁も薄いため、治療が困難なことが多い。開腹下に十二指腸を切開し、腺腫を摘除する場合もある。乳頭部腺腫摘除の際には、膵管狭窄による急性膵炎の発症に注意が必要である。

IV. 遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) に対する一次予防

HNPCC では、まだ発癌前の大腸全摘術は行われていない。しかし、大腸癌を認めた時に残存する大腸を少なくするため、大きく大腸を切除したり併せて子宮を摘除することは検討されている。

生活習慣の指導についても、HNPCC に対する特異的な指導法は確立していない。家族性大腸腺腫症同様、一般人の発癌予防同様、禁煙や運動指導、食事指導を行っている。子宮内膜癌に関しては、一般人のデータから肥満でリスクが上昇することが知られているので、肥満予防は有効かもしれない。

HNPCC 患者の登録などにより知見を積み重ね、

HNPCC に対する発癌予防法の開発が望まれる。

V. 遺伝性非ポリポーシス大腸癌(HNPCC)に対する二次予防

まだ確立した早期発見プログラムはないが、ICG-HNPCC のガイドライン¹⁰⁾では大腸癌に対して20～25歳から2年に1回の大腸内視鏡検査、子宮内膜癌に対して30～35歳から1～2年ごとの婦人科検診、経膈的超音波検査、腫瘍マーカーであるCA 125の血液検査、胃癌に対して30～35歳から1～2年ごとの胃内視鏡検査、尿路系癌に対して30～35歳から1～2年ごとの腹部超音波検査と尿検査を勧めている。

2年ごとの大腸内視鏡検査にて進行した大腸癌が発見された例があり、毎年の大腸内視鏡検査を勧める研究者もいるが、毎年の大腸内視鏡検査は患者に多大な負担になり、長期間の経過観察が困難になることもある。

さらなる検討により適正な検査間隔を見いだすこと、負担の少ない検査法を開発することなどが望まれる。

文 献

1) 早期胃癌研究会・編: 消化管ポリポーシス. 胃と腸(2000

増刊号): 35, 2000.

- 2) Ishikawa H: Chemoprevention of carcinogenesis in familial tumors. *Int J Clin Oncol* 9: 299-303, 2004.
- 3) Kudo T, Narisawa T and Abo S: Antitumor activity of indomethacin on ethylazoxymethanol-induced large bowel tumors in rats. *Gann* 71: 260-264, 1980.
- 4) Suh O, Mettlin C and Petrelli NJ: Aspirin use, cancer, and polyps of the large bowel. *Cancer* 72: 1171-1177, 1993.
- 5) Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, *et al*: Aspirin use and the risk for colorectal cancer and adenoma in male health professionals. *Ann Intern Med* 121: 241-246, 1994.
- 6) Waddell WR and Loughry RW: Sulindac for polyposis of the colon. *J Surg Oncol* 24: 83-87, 1983.
- 7) Steinbach G, Lynch PM, Phillips RKS, *et al*: The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 342: 1946-1952, 2000.
- 8) Sugihara K, Higuchi T, Toyooka M, *et al*: A randomized double blind, placebo-controlled study of selective cyclooxygenase-2 inhibitor on rectal polyp in familial adenomatous coli. *Cancer Sci* 95: 58, 2003.
- 9) Hallak A, Alon-Baron L, Shamir R, *et al*: Rofecoxib reduces polyp recurrence in familial polyposis. *Dig Dis Sci* 48: 1998-2002, 2003.
- 10) URL (<http://www.insight-group.org/>)

大腸がん予防のための腸内環境コントロール

石川秀樹 中村富予 竹山育子 京都府立医科大学
分子標的癌予防医学

Ishikawa, Hideki

Nakamura, Tomiyo

Takeyama, Ikuko

腸内細菌, 大腸がん, 発がん予防

はじめに

大腸には多数の腸内細菌が存在するため、大腸がんの発生に腸内細菌は密接に関与していると考えられているが、その関係についての科学的知見は意外と少ない。

その理由として、培養による腸内細菌叢検査は糞便を採取してから速やかに培養しなくてはならないが、それには膨大な手間がかかるため大規模なコホート研究が困難なこと、大腸がんが存在すると出血などで腸内細菌叢が変化する可能性があるため、腸内細菌叢の変化が原因なのか結果なのか、鑑別が困難なことなどがある。

しかし、最近では動物実験なども含め、大腸がんと腸内細菌叢の知見がいくつか報告されるようになってきた。ここでは、筆者らの研究を中心に、これまでに得られた大腸がんと腸内細菌の関連についての知見を紹介する。

基礎的検討から考えられる腸内細菌の発がん予防機序

培養細胞を用いた検討により、発酵乳は抗変異原性作用をもつことが報告されている¹⁾。Hosodaら²⁾は、健康成人男性6人に発酵乳を7日間連日投与することにより、糞便中の乳酸桿菌が増加し、変異原性が減少することを見出している。

動物を用いた発がん実験では、乳酸菌やビフィズス菌の生菌製剤やそれらを用いた発酵乳を投与

することにより、大腸発がんを抑制することができるとする報告が数多く出されている³⁾。

Morimotoら⁴⁾は、生活習慣が不良な喫煙男性を対象として二重盲検により乳酸菌飲料の効果を検討し、乳酸菌飲料がNK細胞活性の上昇をもつことを示している。動物実験においても乳酸菌の投与により、各種抗腫瘍作用をもつサイトカイン産生の誘導作用などが報告されている。

これらの成績から、腸内細菌の変化による発がん予防機序として、ヘテロサイクリックアミンなどの変異原物質が腸管内で菌体に結合することにより変異原活性が低下すること、免疫機能が増強すること、などが考えられる。それ以外にも、胆汁酸代謝の変化、腸管内の酪酸など短鎖脂肪酸の増加による腸内pHの減少や酪酸自体の濃度上昇による影響、大腸粘膜細胞のDNA結合体の減少などの効果も検討されている。

乳製品と大腸がんについての観察的疫学研究

フィンランドやアイスランドで高脂肪食にもかかわらず結腸がんが少ないのは、牛乳やヨーグルトなどを多く摂取していることが理由の一つとされている⁵⁾。

米国にて実施された症例対照研究において、ヨーグルト⁶⁾や発酵乳⁷⁾は結腸がんを予防することが示されている。オランダにおけるコホート研究では、有意差はないものの、発酵乳の摂取量と結腸がんの発生が逆相関していることが報告されている⁸⁾。しかし、米国で実施されたコホート研究では、結腸がん発生に乳製品摂取量による有意差は認められていない⁹⁾。

このように、観察的疫学研究では、乳製品と大

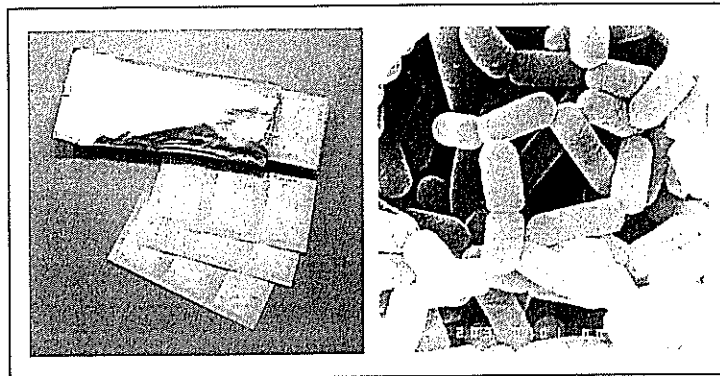


図1 大腸がん発がん予防試験に用いた乳酸菌製剤(左)とL.カゼイ・シロタ株の電子顕微鏡像(右)

腸がんの関係についての確実な効果は示されていない。

介入試験で示された 乳酸菌製剤の効果

腸内細菌叢を変えることにより大腸がんを予防することを試みた臨床試験は、1つだけ実施されている。Roncucciら¹⁰⁾は、ラクツロース(lactulose)を投与する臨床試験を行い、有意差はないものの、腺腫の発生をわずかに抑制する傾向を報告している。

一方、乳酸菌製剤を投与する臨床試験はこれまで報告されていなかった。筆者らは、厚生労働省がん克服新10カ年戦略事業の研究として、世界ではじめて乳酸菌製剤の効果調べる大腸がん発がん予防試験¹¹⁾を実施したので、その成果を紹介する。

対象者は、1993年6月から1997年9月まで、大阪府立成人病センター消化器内科で募集した。目標参加数は400人である。この試験のプロトコルは、大阪府立成人病センターの倫理委員会にて承認を得ている。すべての参加者から書面によるインフォームドコンセントを得ている。

参加条件は40歳から65歳の男女で、2個以上の大腸腫瘍(腺腫または早期がん)をもち、呼びかけの3カ月以内に、それらをすべて内視鏡的に摘除した者である。未治療のがんをもっている者、大腸または胃の切除既往者、家族性大腸腺腫症患者

者などは除外した。

4つの群を設定した。A群は食事指導と小麦ふすまビスケットの摂取、B群は食事指導と乳酸菌製剤の摂取、C群は食事指導と小麦ふすまビスケットと乳酸菌製剤の摂取、D群は食事指導のみである。

食事指導の主体は、脂肪摂取量の適正化である。総摂取エネルギーのうち、脂肪の占める割合を18~22%になるように指導した。面接の前の3日間連続で、食事記録用紙に食事内容を記入させ、栄養士はその記録をもとに総摂取量と脂肪摂取量を算出した。3カ月目と4年目にも食事調査を行い、指導効果を把握した。

小麦ふすまビスケットは小麦ふすまを30%含有するビスケットである。参加者には、毎食前に1日量25gの小麦ふすまビスケット(小麦ふすまとして7.5g)を食べるように指導した。乳酸菌製剤は、生きた乳酸菌(ラクトバチルス カゼイ・シロタ株)を1g当たり約 10^{10} 含む粉末である(図1)。冷蔵にて保管し、毎食後に1gずつ1日3g服用させた。小麦ふすまビスケットや乳酸菌製剤は4年間継続して摂取させた。

この試験の主エンドポイントは、大腸腫瘍の再発の有無である。大腸内視鏡検査を2年目と4年目に実施し、肛門から盲腸までの大腸全体を観察した。内視鏡的に、明らかに過形成性ポリープと判断できるもの以外の病変はすべて摘除し、組織学的検査を行った。エントリー前の大腸内視鏡検

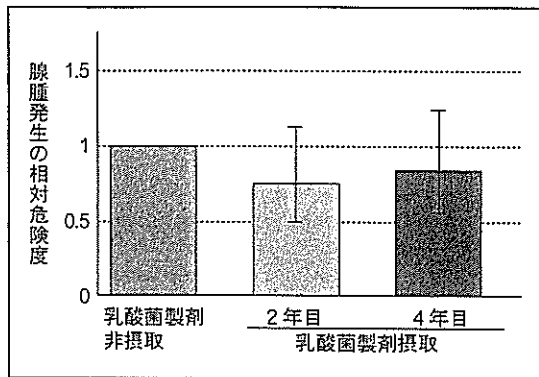


図2 腺腫発生に対する乳酸菌製剤の予防効果

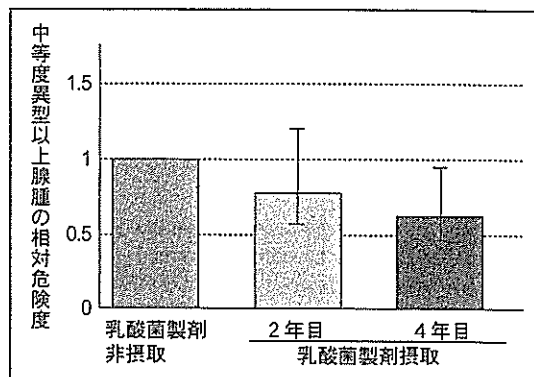


図3 異型の強い腫瘍に対する乳酸菌製剤の予防効果

査にて切除した腫瘍が早期大腸がんであった患者は、試験参加6カ月目に、局所再発の確認のための大腸内視鏡検査を行った。そのときに発見された大腸腫瘍はすべて摘除した。

募集期間内に参加条件に合致した患者が468人受診した。この全員に試験参加を呼びかけたところ、58人(12%)が参加を拒否した。参加を同意した410人中12人が後の見直しでプロトコールに合致せず除外となった。残り398人が4群に割り付けられた。年齢、性、大腸腫瘍数、食事内容などすべての背景で4群間に差を認めなかった。

2年目、4年目の両方またはどちらかの大腸内視鏡検査を受けなかった者は18人(5%)であった。内視鏡検査を受けなかった理由は、死亡(肺がん、脳出血)2人、重篤な病氣(急性虫垂炎による腹膜炎、くも膜下出血、膝関節炎、心筋梗塞、胃がん)5人、転勤1人、注腸造影検査での検査を希望2人、試験中止を希望8人であった。脱落した18人を除外した380人を解析対象とした。

4年目の大腸内視鏡検査では、小麦ふすまを摂取している者(A群とC群)は、摂取していない者に比して、3mm以上や10mm以上の腺腫の発生が有意に増えた。

乳酸菌製剤の効果では、非摂取群に対する摂取群(B群とC群)の2年目の相対リスク(RR)は0.76(95%信頼区間0.50-1.15)、4年目のそれは0.85(95%信頼区間0.56-1.27)であり、有意差はないものの、2年目、4年目、ともに相対リス

クが減少する傾向を認めた(図2)。中等度以上の異型の強い腫瘍が発生した割合は、非摂取群に対する摂取群の2年目の相対リスクは0.80(95%信頼区間0.52-1.22)、4年目のそれは0.65(95%信頼区間0.43-0.98)と、4年目で有意な減少を認めた(図3)。すなわち乳酸菌製剤を摂取している者は、摂取していない者に比して、発がんリスクの高い中等度異型以上の腺腫の発生が抑制されたため、乳酸菌製剤の服用が大腸がんを予防できる可能性が高いと考えられた。

おわりに

乳酸菌製剤を用いた大腸がん予防を検討する臨床試験は、筆者らの研究がはじめての報告であるため、今後、外国でも同様の臨床試験を行い、同じ結果が出ることを確認すること、さらには、乳酸菌製剤を服用している集団を長期間追跡し大腸がんの発生が減少することを確認することなどが必要である。しかし、乳酸菌飲料や乳酸菌製剤は、きわめて安全で安価なため、大腸腺腫や大腸がんの既往者や家族に大腸がん罹患が多い者など大腸がん高危険度群では、現時点でも乳酸菌製剤を服用してよいと考える。

文献

- 1) 細野明義：動物系。In：大澤俊彦監修：癌予防食品開発の新展開。CMC, 2005, p.311-320.
- 2) Hosoda, M. et al.: Effect of administration of milk fermented



- with *Lactobacillus acidophilus* LA-2 on fecal mutagenicity and microflora in the human intestine. *J. Dairy Sci.*, 79: 745-749, 1996.
- 3) Goldin, B.R. et al.: Effect of *Lactobacillus acidophilus* dietary supplements on 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride-induced intestinal cancer in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 64: 263-265, 1980.
 - 4) Morimoto, K. et al.: Modulation of natural killer cell activity by supplementation of fermented milk containing *Lactobacillus casei* in habitual smokers. *Prev. Med.*, 40: 589-594, 2005.
 - 5) McKeown-Eyssen, G.E., et al.: Dietary factors in colon cancer: international relationships. *Nutr. Cancer*, 6: 160-170, 1984.
 - 6) Peters, R.K. et al.: Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. *Cancer Causes Control.*, 3: 457-473, 1992.
 - 7) Young, T.B. et al.: Case-control study of proximal and distal colon cancer and diet in Wisconsin. *Int. J. Cancer*, 42: 167-175, 1988.
 - 8) Kampman, E. et al.: Fermented dairy products, calcium, and colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Cancer Res.*, 54: 3186-3190, 1994.
 - 9) Kampman, E. et al.: Calcium, vitamin D, dairy foods, and the occurrence of colorectal adenomas among men and women in two prospective studies. *Am. J. Epidemiol.*, 139: 16-29, 1994.
 - 10) Rontucci, L. et al.: Antioxidant vitamins or lactulose for the prevention of the recurrence of colorectal adenomas. *Dis. Colon. Rectum.*, 36: 227-234, 1993.
 - 11) Ishikawa, H. et al.: Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors. *Int. J. Cancer*, 116: 762-767, 2005.

食品交換表による
料理交換カード

らくらく選べる

3 連式 **糖尿病の献立** 第2版

■鈴木吉彦 監修 ■忍田聡子 著

■B5変型判・132頁 定価3,465円(本体3,300円 税5%)

「第6版 糖尿病食品交換表」
「五訂・食品成分表」対応

- 糖尿病の食事療法を、より容易にするための3品料理交換カード
- 主菜60品、副菜60品、その他の献立60品のカードがフデイルされており、めくるだけで10数万種類の組み合わせ献立がつかれる。
- 1200、1400、1600、1800kcalのエネルギーに応じて、食品交換表を使っている人も、そうでない人も、簡単にエネルギー、たんぱく質、塩分管理が可能。

●弊社の全出版物の情報はホームページでご覧いただけます。 <http://www.ishiyaku.co.jp/>

MFJ 医歯薬出版株式会社 / ☎113-8612 東京都文京区本駒込1-7-10 / TEL. 03-5395-7610
FAX. 03-5395-7611

2005年8月作成 IS

Influence of the C161T but not Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma on colorectal cancer in an Indian population

Jing Jiang,¹ Vendhan Gajalakshmi,² Jingweng Wang,¹ Kiyonori Kuriki,^{1,3} Sadao Suzuki,¹ Seiichi Nakamura,⁴ Susumu Akasaka,⁵ Hideki Ishikawa⁶ and Shinkan Tokudome^{1,7}

¹Department of Health Promotion and Preventive Medicine, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Mizuho-ku, Nagoya 467-8601, Japan; ²Epidemiological Research Center, Chennai, India; ³Aichi Cancer Center Research Institute, Division of Cancer Epidemiology and Prevention, Nagoya; ⁴Health Research Foundation, 103-5 Tanaka-Monzen-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8225; ⁵Osaka Prefectural Institute of Public Health, 3-69, Nakamichi 1-chome, Higashinari-ku, Osaka 537-0025; and ⁶Hyogo College of Medicine, 1-1 Mukogawa-cho, Nishinomiya, Hyogo 663-8501, Japan

(Received February 17, 2005/Revised April 1, 2005/2nd Revised May 6, 2005/Accepted May 11, 2005/Online publication August 15, 2005)

The aim of the present study was to investigate associations between Pro12Ala and C161T polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (*PPAR-γ*) gene and colorectal cancer (CRC) risk. We recruited 301 newly diagnosed CRC patients and 291 healthy control subjects at the Madras Cancer Institute in Chennai, India, from 1999 to 2001. Genotypes of the Pro12Ala and C161T polymorphisms were determined using the PCR-RFLP method. After adjustment for age, sex, smoking habit, family history and family income, an increased risk of CRC was observed for the C/T + T/T genotype compared to the C/C genotype of the C161T polymorphism (odds ratio = 1.61, 95% confidence interval: 1.10–2.36), whereas no significant association was found for Pro12Ala (odds ratio = 1.06, 95% confidence interval: 0.70–1.61). Analysis with estimated haplotypes showed a significant difference in haplotype frequencies between cases and controls ($\chi^2 = 11.62$, $P = 0.009$, d.f. = 3). The relationship between the two polymorphisms and CRC risk was not significantly modified by dietary intake of fish. Although the biological mechanisms of the observed association remain to be elucidated, our findings suggest that the C161T polymorphism of the *PPAR-γ* gene is related to risk of CRC. Further research is needed to investigate functional implications of polymorphisms of the *PPAR-γ* gene in CRC development. (*Cancer Sci* 2005; 96: 507–512)

The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (*PPAR-γ*), a member of the nuclear hormone receptor super family, plays an important role in differentiation of adipocytes, lipid metabolism, insulin sensitivity, atherogenesis and immune regulation.^(1–4) Recently, *PPAR-γ* has been implicated in the pathogenesis of colorectal cancer (CRC) in animal models and clinical studies. Colon cancer cells have been shown to express *PPAR-γ* at high levels, and somatic loss-of-function mutations have been identified.^(5,6) *In vitro* studies have shown that ligand activation of *PPAR-γ* could inhibit the nuclear factor kappa B (NF-κB) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) inflammation pathways and cell growth, induce apoptosis and promote differentiation in colon, breast

and prostate cell lines.^(7–10) Furthermore, a *PPAR-γ* ligand was found to inhibit tumor growth in a xenograft model of colon cancer, and decrease premalignant intestinal lesions in mice treated with the chemical carcinogen azoxymethane.^(11,12) In addition, increased susceptibility of *PPAR-γ* heterozygote knockout mice to colorectal carcinogenesis has been reported.⁽¹³⁾ These observations raise the exciting hypothesis that *PPAR-γ* is a tumor suppressor gene in colorectal carcinogenesis. However, one study failed to find any *PPAR-γ* mutations in colon cancer samples, and another showed that administration of *PPAR-γ* ligands to Min mice resulted in development of more advanced colon cancers.^(14,15)

The human *PPAR-γ* gene exists in three isoforms due to alternative promoters and differential splicing. *PPAR-γ1* and *PPAR-γ3* proteins are almost identical and are encoded by exons 1–6, whereas *PPAR-γ2* has 28 additional amino acids at its N-terminus, encoded by the *PPAR-γ2*-specific exon B. The *PPAR-γ1* and *PPAR-γ3* isoforms are expressed in large intestinal, kidney and adipose tissues, while *PPAR-γ2* exists exclusively in adipose tissue.^(16,17) Common structural polymorphisms that have been detected in the *PPAR-γ* gene include a proline to alanine substitution (34C > G), located at codon 12 (Pro12Ala) of *PPAR-γ2*-specific exon B,⁽¹⁸⁾ which reduces the promoter affinity by approximately 50%, and both ligand-independent and ligand-dependent *PPAR-γ* transactivation.⁽²⁾ Another common polymorphism in exon 6 at nucleotide 161 results in a silent substitution from C to T (C161T).⁽³⁾

Recently, Landi *et al.* showed the Pro12Ala polymorphism to be related to a reduced CRC risk in a Spanish population.⁽¹⁹⁾ Gong *et al.* also reported a decreased risk of colorectal adenomas associated with the 12Ala allele in *PPAR-γ*, with marginal significance.⁽²⁰⁾ Siezen *et al.* demonstrated a protective effect of the C/T genotype of the C161T polymorphism with reference to colorectal adenomas.⁽²¹⁾ On the one hand, recent studies found

⁷To whom correspondence should be addressed.
E-mail: tokudome@med.nagoya-cu.ac.jp

no association between the Pro12Ala polymorphism and the risk of colorectal adenomas, prostate cancers or breast cancers, and there is some evidence that the C161T polymorphism may in fact be related to an increased risk of endometrial and prostate cancers, as well as glioblastoma multiforme.^(21–25) Thus, the two common polymorphisms in the *PPAR-γ* gene may play a role in the etiology of cancer, but the results have been equivocal.

We therefore conducted the present study in an Indian population. Moreover, previous studies have shown that n-3 polyunsaturated fatty acids from fish may induce apoptosis in colon cells, and *PPAR-γ* mRNA expression levels were found to be elevated in fish oil-fed animals.^(26,27) However, it has remained unclear whether fish consumption mediates effects on CRC development through interactions with *PPAR-γ*. We also investigated potential interactions between the two polymorphisms of the *PPAR-γ* gene and fish consumption with regard to CRC risk.

Methods

Subject selection and data collection

The case-control study was conducted with 301 colorectal cancer patients and 291 controls. All subjects were residents of Chennai and the surrounding area in south-eastern India. Cases were recruited between 1999 and 2001 at the Madras Cancer Institute in Chennai, India, with all patients with a first diagnosis of histologically confirmed colorectal cancer being enrolled. Control subjects were cancer-free individuals, selected among visitors who were attending with patients admitted for having cancers other than CRC during the time period of case collection. They were frequently matched to case patients by sex and age (within 5 years). Informed consent was obtained from all study subjects. Trained interviewers collected information on the socioeconomic status, medical histories, alcohol drinking habit, and smoking and tobacco-chewing habits using a standard questionnaire. A 114 food and beverage item food-frequency questionnaire (FFQ) specific to this population was used to measure long-term intake of foods and food groups. Interviewers asked the subjects about the average frequency of consumption of food items per week over the past 1-year period (for cancer cases, this was 1 year before the diagnosis of CRC). Foods and food groups were categorized as follows: cereals and breads ($n = 11$ food items), beans ($n = 6$), vegetables ($n = 22$), meats ($n = 4$, including mutton, beef, pork and chicken), fish ($n = 7$, including river fish, sea fish and shellfish), fruit ($n = 13$), dairy products and eggs ($n = 10$), beverages ($n = 6$), snacks and desserts ($n = 18$), spices ($n = 7$) and oil ($n = 10$). After the interview, 7 mL blood from each fasting subject was collected and stored at -80°C . The internal review board of the Madras Cancer Institute in Chennai approved the study.

Genotyping

DNA samples of subjects were extracted from peripheral blood leukocytes. To assess *PPAR-γ* genotypes, we used polymerase chain reaction to amplify the regions of the *PPAR-γ* gene that contain the Pro12Ala substitution and the C161T transition.^(3,18) A 270-bp fragment including Pro12Ala was amplified using forward primers (5'-GCCAATTCAAGCCCAGTC-3') and reverse primers (5'-GATATGTTTGCAGACAGTGTATCAGT-GAAGGAATCGCTTCCG-3'), the Pro12Ala change creating

a restriction site for the BstU-I enzyme. The expected products after digestion with BstU-I were 270 bp for Pro/Pro, 227 and 43 bp for Ala/Ala, and 270, 227 and 43 bp for Pro/Ala. A 200-bp fragment of C161T was amplified using forward and reverse primers (5'-CAAGACAACCTGCTACAAGC-3' and 5'-TCCTTGATAGATCTCCTGCAG-3', respectively), then digested with the PmlI restriction endonuclease. This resulted in two fragments (120 bp and 80 bp) for the wild type and one fragment (200 bp) when the restriction site was eliminated by the C161T transition. For quality control purposes, negative and positive controls were processed with each batch of samples. In addition, 10% of the subjects had their samples rerun to ensure agreement with the initial results.

Statistical analysis

We investigated the relationship between *PPAR-γ* genotypes and risk of CRC with the STATA statistical package (version 8.0; Stata Corporation, College Station, TX, USA). Differences of characteristics between cases and controls were assessed using the χ^2 -test, as well as disparities of genotype and allele frequencies between the two groups. The Hardy-Weinberg equilibrium was checked using the χ^2 -test. Unconditional logistic regression analysis was employed to estimate the odds ratios (OR) and confidence intervals (95% CI) for the association between genotypes and risk of CRC. Adjustments were made for matching variables (age, sex) and for possible confounders. Covariates were identified as potential confounders by examining their distribution by case-control status. As body mass index (BMI) in some cases were affected by the cancer, BMI was excluded from covariates to avoid information bias. The covariates were included in the model if they changed the OR by more than 20% or significantly changed the likelihood ratio statistic ($P < 0.05$) on univariate analysis. For all associations of genotypes with CRC, those subjects who were homozygous for the wild-type allele served as a reference. To increase statistical power, rare homozygotes were combined with heterozygotes assuming a dominant effect as their risk estimates were similar. To estimate linkage disequilibrium between *PPAR-γ* variants, pairwise linkage disequilibrium coefficients (D') were calculated with the LINKAGE program.⁽²⁸⁾ The 'hapipf' command within STATA, which uses the expectation-maximization algorithm to resolve phase combined with a log-linear model, was used to estimate haplotype frequencies.⁽²⁹⁾ The χ^2 -test was used to compare the distribution of haplotypes between cases and controls. The likelihood ratio test was used to examine the interaction among variables with respect to the risk of CRC. All statistical tests were two-sided and differences were considered to be statistically significant at $P < 0.05$.

Results

Demographic and lifestyle characteristics for the 301 colorectal cancer and 291 control subjects are shown in Table 1. In general, the CRC cases had a smaller BMI, a lower family income, and a higher prevalence of family history of CRC, and smoked more tobacco than the controls. In our population, after adjustment for sex, age, smoking habit, family history and family income, consumption of vegetables and fruit yielded a significant reduction of CRC risk ($P_{\text{trend}} = 0.001$ for vegetable intake, and $P_{\text{trend}} = 0.01$ for fruit intake). Fish intake

Table 1. Characteristics of the colorectal cancer (CRC) patients and control subjects

	Cases (%) (n = 301)	Controls (%) (n = 291)	P*
Male	196 (65.1)	183 (62.9)	NS
Age (years)			
20–44	107 (35.6)	111 (38.1)	NS
45–59	109 (36.2)	121 (41.6)	
60–75	85 (28.2)	59 (20.3)	
BMI (kg/m ²)			
< 20.0	153 (50.8)	109 (37.5)	< 0.01
20.0–24.9	110 (36.6)	111 (38.1)	
≥ 25.0	38 (12.6)	71 (24.4)	
Education (years)			
< 5	104 (34.5)	88 (30.2)	NS
5–11	155 (51.5)	163 (56.0)	
> 11	42 (14.0)	40 (13.8)	
Religion			
Hindu	265 (88.0)	256 (88.0)	NS
Muslim	23 (7.7)	27 (9.3)	
Christian	13 (4.3)	8 (2.7)	
Family income (rupees/week)			
< 500	143 (47.5)	97 (33.3)	< 0.05
501–1300	69 (22.9)	101 (34.7)	
> 1300	89 (29.6)	93 (32.0)	
Smoking habit (pack-years)			
0	240 (79.7)	227 (78.0)	< 0.01
≤ 10	41 (13.6)	58 (19.9)	
> 10	20 (6.7)	6 (2.1)	
Drinking habit	56 (18.6)	56 (19.2)	NS
Tobacco chewing habit	39 (13.0)	28 (9.6)	NS
Family history of CRC	4 (1.3)	0	< 0.05
Vegetable intake (servings/day)			
< 2	117 (38.9)	65 (22.3)	< 0.01
2–3	109 (36.2)	111 (38.2)	
> 3	75 (24.9)	115 (39.5)	
Fruit intake (servings/week)			
< 4	132 (43.8)	102 (35.1)	< 0.05
4–8	126 (41.9)	129 (44.3)	
> 8	43 (14.3)	60 (20.6)	
Meat intake (servings/week)			
< 2	236 (78.4)	237 (81.4)	NS
≥ 2	65 (21.6)	54 (18.6)	
Fish intake (servings/week)			
< 2	251 (83.4)	219 (75.3)	< 0.05
≥ 2	50 (16.6)	72 (24.7)	

*Examined using the χ^2 -test. BMI, body mass index; NS, not significant.

was related to a decreased risk of 0.63 (95% CI: 0.42–0.95), when comparing subjects who consumed two servings per week with those consuming less than two servings per week. In contrast, high meat intake (two servings per week) relative to low meat intake (less than two servings per week) conferred an increased risk (OR = 1.45, 95% CI: 0.92–2.35).

The genotype frequencies and association between the two polymorphisms and risk of CRC are shown in Table 2. The distribution of the observed genotypes did not deviate from the Hardy–Weinberg equilibrium for either the Pro12Ala ($P = 0.77$ in cases, and $P = 0.83$ in controls) or C161T ($P = 0.33$ in cases, and $P = 0.71$ in controls) polymorphisms. For the Pro12Ala polymorphism, the Pro/Pro, Pro/Ala and Ala/Ala genotype frequencies were 79.7%, 18.9%, and 1.3%,

respectively, in the cancer cases compared with 79.0%, 19.6%, and 1.4%, respectively, for the controls. For the C161T polymorphism, the C/C, C/T and T/T genotype frequencies were 69.8%, 26.6% and 3.6%, respectively, in the cancer cases compared with 76.0%, 22.7% and 1.3%, respectively, for the controls. No significant differences in the genotype distribution of the Pro12Ala and C161T polymorphisms were observed between the cases and controls ($P = 0.98$ and $P = 0.09$). The T allele frequency for the C161T polymorphism was greater among cancer patients than controls (0.169 vs 0.127, $P = 0.04$), but no difference in the Ala allele frequency with the Pro12Ala polymorphism was found (0.108 vs 0.112).

After adjustment for sex, age, smoking habit, family history and family income, the OR was 1.52 (95% CI: 1.02–2.25) for the C/T genotype, and 2.71 (95% CI: 0.82–8.99) for the T/T genotype compared to the C/C genotype with the C161T polymorphism. When the C/T genotype and T/T genotypes were grouped, the OR was 1.61 (95% CI: 1.10–2.36). This association was essentially the same when colon and rectal cancers were analyzed separately. Compared to the Pro/Pro genotype, the OR was 1.07 (95% CI: 0.70–1.63) for the Pro/Ala genotype, and 1.02 (95% CI: 0.25–4.28) for the Ala/Ala genotype. When the Pro/Ala and Ala/Ala genotypes were grouped, the OR was 1.06 (95% CI: 0.70–1.61). Calculations based on the prevalence of the two polymorphisms and the size of our study population suggested an 80% power to detect an association at the 5% significance level (two-sided test) if the Pro12Ala and C161T polymorphisms conferred at least a two-fold increased risk (carriers of at least one variant allele vs no variant allele).

The haplotype frequency was computed from genotype data and the results are presented in Table 3. Linkage disequilibrium between Pro12Ala and C161T polymorphisms was observed ($D' = 0.69$, $\chi^2 = 234$ and $P < 0.001$ in controls; $D' = 0.88$, $\chi^2 = 282$ and $P < 0.001$ in cancer cases). A significant difference in haplotype frequencies between cancer cases and controls was found ($\chi^2 = 11.62$, $P = 0.009$, d.f. = 3). The frequency of the Pro-T haplotype (Pro allele for Pro12Ala and T allele for C161T) was higher in cancer cases than in controls (7.6 vs 3.9%). In contrast, the frequency of the Ala-C haplotype was lower (1.1% vs 2.7%).

Table 4 presents data for associations between the two polymorphisms in the *PPAR- γ* gene and CRC risk stratified for fish intake. A significant association between the C/T + T/T genotype in the C161T polymorphism and CRC risk limited to the subgroup of those who had a low fish intake was found. For the C/T + T/T genotype, high fish intake decreased the risk from 1.85 (95% CI: 1.20–2.89) to 0.69 (95% CI: 0.32–1.50). The P -value for the interaction was 0.10. There were no significant interactions between fish intake and the Pro12Ala polymorphism with regard to CRC risk.

Discussion

The present investigation, conducted to explore associations between the Pro12Ala and C161T polymorphisms in the *PPAR- γ* gene and CRC in an Indian population, showed the C/T + T/T genotype to be associated with a significant 1.61-fold increase in the OR compared with the C/C genotype with the C161T polymorphism. Analysis of the Pro-T haplotype

Table 2. Odds ratios (OR) for colorectal cancer (CRC) with reference to the *PPAR-γ* genetic polymorphisms

Variable	All cases		Colon cancer		Rectal cancer		Controls n
	n	OR [†] (95% CI)	n	OR [†] (95% CI)	n	OR [†] (95% CI)	
Pro12Ala							
Pro/Pro	240	1.00 (reference)	46	1.00 (reference)	194	1.00 (reference)	230
Pro/Ala	57	1.07 (0.70–1.63)	13	1.36 (0.66–2.78)	44	0.99 (0.63–1.57)	57
Ala/Ala	4	1.02 (0.25–4.28)	0	NA	4	1.27 (0.30–5.36)	4
Pro12Ala (grouped)							
Pro/Pro	240	1.00 (reference)	46	1.00 (reference)	194	1.00 (reference)	230
Pro/Ala + Ala/Ala	61	1.06 (0.70–1.61)	13	1.20 (0.59–2.43)	48	1.01 (0.65–1.58)	61
C161T							
C/C	210	1.00 (reference)	37	1.00 (reference)	173	1.00 (reference)	221
C/T	80	1.52 (1.02–2.25)	19	1.95 (0.99–3.81)	61	1.42 (0.96–2.18)	66
T/T	11	2.71 (0.82–8.99)	3	3.09 (0.53–18.06)	8	2.61 (0.75–9.07)	4
C161T (grouped)							
C/C	210	1.00 (reference)	37	1.00 (reference)	173	1.00 (reference)	221
C/T + T/T	91	1.61 (1.10–2.36)	22	2.00 (1.05–3.81)	69	1.50 (1.01–2.26)	70

[†]Adjusted for sex, age, smoking habit, family history and family income. CI, confidence interval; NA, not available.

Table 3. Haplotype frequencies for the *PPAR-γ* gene in the colorectal cancer patients and control subjects

	Frequency among cases	Frequency among controls	<i>P</i> [§]
<i>PPAR-γ</i> haplotype [†]			
Pro-C	0.816	0.849	0.009
Pro-T	0.076	0.039	
Ala-C	0.011	0.027	
Ala-T	0.097	0.085	
Disequilibrium			
D ^{**}	0.881	0.686	
χ ²	282	234	
P	0.0001	0.0001	

[†]The order of single-nucleotide polymorphisms in the haplotypes is Pro12Ala-C161T. ^{**}Pair-wise linkage disequilibrium coefficients. [§]The χ²-test was used to compare the distribution of *PPAR-γ* haplotypes between cases and controls.

strengthened the relationship in our study population, and this proved consistent for both the colon and rectum.

However, evidence concerning the relationship between the C61T polymorphism and cancer is still limited and controversial. A protective effect on colorectal adenomas was earlier found for the C/T genotype of the C161T polymorphisms in

PPAR-γ,⁽²¹⁾ but other studies have shown an increased risk.^(24,25) Clearly, functional aspects require further assessment.

Three hypotheses may be proposed for how CRC might be affected by the polymorphisms examined here. First, a new cryptic splice donor, acceptor or enhancer may be created by this C/T substitution, with decreased expression of the variant bearing the T allele, thus leading to a low level of functional activity. Alternatively, the substitution may influence the stability of the mRNA species. Second, it is reported that the T allele of the C161T polymorphism is associated with elevated plasma levels of leptin,⁽³⁰⁾ a 16 kDa adipokine that regulates proinflammatory immune responses,⁽³¹⁾ and may be a growth factor for colonic epithelial cells.⁽³²⁾ Case-control studies have in fact suggested that leptin is a risk factor for colorectal cancer.^(33,34) Third, C161T polymorphism may be in linkage disequilibrium with functional mutations in other *PPAR-γ* gene exons, or other unidentified genes near the *PPAR-γ* gene. Controversial results have been obtained for the associations between the C161T polymorphism and risk of colorectal adenomas.⁽²¹⁾ Reasons for disagreements may be due in part to differences in study populations.

Analysis with estimated haplotypes showed the Pro-T haplotype to be more prevalent in cancer cases than in controls (7.6% vs 3.9%). Although relatively uncommon because

Table 4. Odds ratios for interactions between *PPAR-γ* genotypes and colorectal cancer stratified by fish intake

	Low fish intake [†]		<i>P</i>	High fish intake [†]	
	Cases/controls (n)	OR [†] (95% CI)		Cases/controls (n)	OR [†] (95% CI)
Pro12Ala					
Pro/Pro	197/176	1.00 (reference)		43/54	0.74 (0.46–1.18)
Pro/Ala + Ala/Ala	54/43	1.14 (0.72–1.81)		7/18	0.51 (0.20–1.27)
Interaction			0.36		
C161T					
C/C	171/173	1.00 (reference)		39/48	0.83 (0.51–1.36)
C/T + T/T	80/46	1.85 (1.20–2.89)		11/24	0.69 (0.32–1.50)
Interaction			0.10		

[†]Low fish intake, less than two servings per week; high fish intake, greater than two servings per week. [†]Adjusted for sex, age, smoking habit, family history, family income and consumption of meat, vegetables and fruit. CI, confidence interval; OR, odds ratio.

of linkage disequilibrium between the two polymorphisms, its importance was also reported in two other studies regarding bodyweight and colorectal adenomas.^(21,35) The validity of haplotype inference varied, depending on a number of factors, including sampling error, sample size, number of loci studied, allele frequencies, locus-specific allelic departures from the Hardy–Weinberg equilibrium and the linkage-disequilibrium structure of the region.⁽³⁶⁾ In the present study, to prevent genotyping bias, negative and positive controls were processed with each batch of samples, and 10% of the subjects had their samples rerun to ensure agreement with the initial results. Haplotype block predictions were based on all the complete genotype data available for the cases and controls with use of the expectation-maximization algorithm. In addition, the state of sample size (cases = 301, controls = 291), number of loci studied (two loci), allele frequencies (minor allele of the two polymorphisms < 0.17), Hardy–Weinberg equilibrium ($P = 0.83$ for Pro12Ala and $P = 0.71$ for C161T in controls; $P = 0.77$ for Pro12Ala and $P = 0.33$ for C161T in cancer cases), and linkage disequilibrium ($D' = 0.69$ in controls, and $D' = 0.88$ in cancer cases) in our study also supported the validity of haplotype estimation.⁽³⁶⁾ Certainly, more detailed investigations will be necessary to allow accurate haplotype inferences in future.

The Pro12Ala polymorphism in the *PPAR-γ* gene has been investigated in breast, prostate, lung and endometrial cancers and colorectal adenomas, but no significant associations were detected.^(21–23,37,38) Landi *et al.* have reported the Ala allele to be related to a reduced risk of CRC in a hospital-based case-control study.⁽¹⁹⁾ We could not confirm this finding in our study population. Tomita *et al.* have reported that the Pro12Ala polymorphism might be implicated in development of CRC in which the *K-ras* gene is not mutated.⁽³⁹⁾ Variation in lifestyle patterns or genetic background among the Indian and Spanish populations may explain to some extent the observed differences in risk. Our study used population-based controls,

whereas Landi *et al.* adopted hospital controls, among which the Ala allele frequency was greater than in the Spanish general populace (0.11 vs 0.09).⁽⁴⁰⁾ In present study, the frequency of the Ala allele was similar to that in the general population in a diabetes study of Singapore Indians (0.112 vs 0.119).⁽⁴¹⁾

Epidemiological studies have shown that fish consumption is protective against CRC,⁽⁴²⁾ and the risk-reducing effects were also found in the present study. However, there were no significant interactions between the two polymorphisms and fish consumption in CRC development. Because only 20% of the study subjects consumed more than two servings of fish per week, this combined with the low allele frequency of the two polymorphisms may account for the non-significant results. In addition, as exposure information was collected after the diagnosis of CRC, differential dietary recall between cases and controls could yield biased results. Further larger studies in future are clearly warranted. While it is known that two polymorphisms in the *PPAR-γ* gene can affect the susceptibility to diabetes,^(2,18) we failed to collect data on this disease in the present study.

In conclusion, our investigation here indicated that the *PPAR-γ* gene C161T substitution might be associated with an increased CRC risk, but no significant link was observed for the Pro12Ala polymorphism. As little is known about the underlying physiology, further genetic and epidemiological studies of the *PPAR-γ* gene loci and other associated genes should be conducted with an emphasis on functional aspects.

Acknowledgments

This work was supported in part by the International Scientific Research Program, Special Cancer Research from the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology. We thank Drs V. Shanta and T. Rajkumar at Cancer Institute, Chennai, India for their cooperation.

References

- Auwerx J, Martin G, Guerre-Millo M, Staels B. Transcription, adipocyte differentiation, and obesity. *J Mol Med* 1996; 74: 347–52.
- Deeb SS, Fajas L, Nemoto M *et al.* A Pro12Ala substitution in *PPARγ2* associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 1998; 20: 284–7.
- Wang XL, Oosterhof J, Duarte N. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma C161→T polymorphism and coronary artery disease. *Cardiovasc Res* 1999; 44: 588–94.
- Wada K, Nakajima A, Blumberg RS. *PPARγ* and inflammatory bowel disease: a new therapeutic target for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Trends Mol Med* 2001; 7: 329–31.
- DuBois RN, Gupta R, Brockman J, Reddy BS, Krakow SL, Lazar MA. The nuclear eicosanoid receptor, *PPARγ*, is aberrantly expressed in colonic cancers. *Carcinogenesis* 1998; 19: 49–53.
- Sarraf P, Mueller E, Smith WM *et al.* Loss-of-function mutations in *PPARγ* associated with human colon cancer. *Mol Cell* 1999; 3: 799–804.
- Auwerx J. Nuclear receptors. I. *PPARγ* in the gastrointestinal tract: gain or pain? *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G581–5.
- Sarraf P, Mueller E, Jones D *et al.* Differentiation and reversal of malignant changes in colon cancer through *PPARγ*. *Nat Med* 1998; 4: 1046–52.
- Mehta RG, Williamson E, Patel MK, Koeffler HP. A ligand of peroxisome proliferator-activated receptor gamma, retinoids, and prevention of preneoplastic mammary lesions. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 418–23.
- Kubota T, Koshizuka K, Williamson EA *et al.* Ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (troglitazone) has potent antitumor effect against human prostate cancer both *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res* 1998; 58: 3344–52.
- Niho N, Takahashi M, Shoji Y *et al.* Dose-dependent suppression of hyperlipidemia and intestinal polyp formation in Min mice by pioglitazone, a *PPARγ* ligand. *Cancer Sci* 2003; 94: 960–4.
- Brockman JA, Gupta RA, Dubois RN. Activation of *PPARγ* leads to inhibition of anchorage-independent growth of human colorectal cancer cells. *Gastroenterology* 1998; 115: 1049–55.
- Gimun G, Smith W, Drori S *et al.* APC-dependent suppression of colon carcinogenesis by *PPAR-γ*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13 771–6.
- Ikezo T, Miller CW, Kawano S *et al.* Mutational analysis of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene in human malignancies. *Cancer Res* 2001; 61: 5307–10.
- Saez E, Tontonoz P, Nelson MC *et al.* Activators of the nuclear receptor *PPARγ* enhance colon polyp formation. *Nat Med* 1998; 4: 1058–61.
- Fajas L, Auboeuf D, Raspe E *et al.* The organization, promoter analysis, and expression of the human *PPARγ* gene. *J Biol Chem* 1997; 272: 18 779–89.
- Fajas L, Fruchart JC, Auwerx J. *PPARγ3* mRNA: a distinct *PPARγ* mRNA subtype transcribed from an independent promoter. *FEBS Lett* 1998; 438: 55–60.
- Yen CJ, Beamer BA, Negri C *et al.* Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala *PPAR gamma 2* missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 270–4.
- Landi S, Moreno V, Gioia-Patricola L *et al.* Association of common polymorphisms in inflammatory genes interleukin (IL)6, IL8, tumor necrosis factor alpha, NFκB1, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma with colorectal cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 3560–6.

- 20 Gong Z, Xie D, Deng Z *et al.* The PPAR γ Pro12Ala polymorphism and risk for incident sporadic colorectal adenomas. *Carcinogenesis* 2005; 26: 579–85.
- 21 Siezen CL, van Leeuwen AI, Kram NR, Luken ME, van Kranen HJ, Kampman E. Colorectal adenoma risk is modified by the interplay between polymorphisms in arachidonic acid pathway genes and fish consumption. *Carcinogenesis* 2005; 26: 449–57.
- 22 Memisoglu A, Hankinson SE, Manson JE, Colditz GA, Hunter DJ. Lack of association of the codon 12 polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene with breast cancer and body mass. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 597–603.
- 23 Paltoo D, Woodson K, Taylor P, Albanes D, Virtamo J, Tangrea J. Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) gene and risk of prostate cancer among men in a large cancer prevention study. *Cancer Lett* 2003; 191: 67–74.
- 24 Smith WM, Zhou XP, Kurose K *et al.* Opposite association of two PPAR γ variants with cancer: overrepresentation of H449H in endometrial carcinoma cases and underrepresentation of P12A in renal cell carcinoma cases. *Hum Genet* 2001; 109: 146–51.
- 25 Zhou XP, Smith WM, Gimm O *et al.* Over-representation of PPAR γ sequence variants in sporadic cases of glioblastoma multiforme: preliminary evidence for common low penetrance modifiers for brain tumour risk in the general population. *J Med Genet* 2000; 37: 410–4.
- 26 Cheng J, Ogawa K, Kuriki K *et al.* Increased intake of n-3 polyunsaturated fatty acids elevates the level of apoptosis in the normal sigmoid colon of patients polypectomized for adenomas/tumors. *Cancer Lett* 2003; 193: 17–24.
- 27 Fan YY, Spencer TE, Wang N, Moyer MP, Chapkin RS. Chemopreventive n-3 fatty acids activate RXR α in colonocytes. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1541–8.
- 28 Ott J. Predicting the range of linkage disequilibrium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2–3.
- 29 Mander AP. Haplotype analysis in population-based association studies. *The Stata J* 2001; 1: 58–75.
- 30 Meirhaeghe A, Fajas L, Helbecque N *et al.* A genetic polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene influences plasma leptin levels in obese humans. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 435–40.
- 31 Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ *et al.* Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J* 1998; 12: 57–65.
- 32 Hardwick JC, Van Den Brink GR, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ, Peppelenbosch MP. Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2001; 121: 79–90.
- 33 Stattin P, Lukanova A, Biessy C *et al.* Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? *Int J Cancer* 2004; 109: 149–52.
- 34 Stattin P, Palmqvist R, Soderberg S *et al.* Plasma leptin and colorectal cancer risk: a prospective study in Northern Sweden. *Oncol Rep* 2003; 10: 2015–21.
- 35 Doney A, Fischer B, Frew D *et al.* Haplotype analysis of the PPAR γ Pro12Ala and C1431T variants reveals opposing associations with body weight. *BMC Genet* 2002; 3: 21.
- 36 Fallin D, Schork NJ. Accuracy of haplotype frequency estimation for biallelic loci, via the expectation-maximization algorithm for unphased diploid genotype data. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 947–59.
- 37 Campa D, Zienolddiny S, Maggini V, Skaug V, Haugen A, Canzian F. Association of a common polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene with risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2004; 25: 229–35.
- 38 Paynter RA, Hankinson SE, Colditz GA, Hunter DJ, De Vivo I. No evidence of a role for PPAR γ Pro12Ala polymorphism in endometrial cancer susceptibility. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 851–6.
- 39 Tomita S, Kawamata H, Imura J, Omotehara F, Ueda Y, Fujimori T. Frequent polymorphism of peroxisome proliferator activated receptor gamma gene in colorectal cancer containing wild-type K-ras gene. *Int J Mol Med* 2002; 9: 485–8.
- 40 Gonzalez Sanchez JL, Serrano Rios M, Fernandez Perez C, Laakso M, Martinez Larrad MT. Effect of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 gene on adiposity, insulin sensitivity and lipid profile in the Spanish population. *Eur J Endocrinol* 2002; 147: 495–501.
- 41 Tai ES, Corella D, Deurenberg-Yap M *et al.* Differential effects of the C1431T and Pro12Ala PPAR γ gene variants on plasma lipids and diabetes risk in an Asian population. *J Lipid Res* 2004; 45: 674–85.
- 42 Yang CX, Takezaki T, Hirose K, Inoue M, Huang XE, Tajima K. Fish consumption and colorectal cancer: a case-reference study in Japan. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12: 109–15.