

腸がんモデルとして周知されている。この変異マウスが発症する小腸腫瘍への修飾効果を Bcl11b (+/-) 遺伝子型がもつことが本研究により明らかになった。興味深い点は、Bcl11b (+/-) 遺伝子型の野生型アレルが腫瘍で残存していることである。Bcl11b はマウス胸腺リンパ腫のがん抑制遺伝子として単離された遺伝子であるが、すでにハプロ型不全のがん抑制遺伝子であることがわかっている。従って、この結果は予想の範囲内であるが、一方片アレルが消失するだけで発がん修飾効果をもつことを意味する。これは頻度が高く、今後ヒトの大腸がん発症リスク因子を考える上で重要な点である。ヒト Bcl11b 遺伝子座の LOH は進行性の大腸がんでは高頻度に観察されるが、adenoma では LOH の報告はなく、進展に関与すると想像されている。しかし、大腸ポリポーシス患者さんでは adenoma にも LOH が観察されるとの報告があり、APC 遺伝子変異と Bcl11b 遺伝子の修飾効果との深い関連性が示唆される。ヒト小腸および大腸での Bcl11b の発現をパラフィン固定標本で検討したが、明瞭な結果は得られていない。これは次の検討課題である。

E. 結論

放射線4回分割照射および1回照射後の胸腺細胞を解析し、発がん感受性を担う生物学的基盤を明らかにした。照射後早期に現れる大型リンパ球が前リンパ腫細胞であり、細胞成長の制御機構に異常があると考えられた。この大型リンパ球の出現が放射線発がんの鍵となる。予備的な実験では感受性を示すコンジェニックマウス (Mtf-1 遺伝子座領域の) は、抵抗性マウスに比べこの出現頻度が高く、発がん感受性を担う細胞学的基礎が大型リンパ球の形成であると考えられた。感受性遺伝子の本体については Mtf-1 以外の可能性も示唆された。一方、Bcl11b 遺伝子がヒト大腸がんモデル・Min マウスの発症する小腸腫瘍の修飾することが明らか

になった。Bcl11b はハプロ型不全のがん抑制遺伝子であり、野生型アレルの消失がなくても腫瘍発症を促進する。このことは、ヒトの大腸がん発症のリスク因子を考える上で重要な点である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kamimura K, Mishima Y, Obata M, Endo T, Aoyagi Y, Kominami R. Lack of Bcl11b tumor suppressor results in vulnerability to DNA replication stress and amages. *Oncogene* (2007) 26: 5840-5850.

Ohi H, Mishima Y, Kamimura K, Maruyama M, Sasai K, Kominami R. Multi-step lymphomagenesis deduced from DNA changes in thymic lymphomas and atrophic thymuses at various times after γ -irradiation. *Oncogene*. (2007) 26: 5280-5289.

Kamimura K, Ohi H, Kubota T, Okazuka K, Yoshikai Y, Wakabayashi Y, Aoyagi Y, Mishima Y, Kominami R. Haploinsufficiency of Bcl11b for suppression of lymphomagenesis and thymocyte development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2007) 355: 538-542.

Maruyama M, Yamamoto T, Kohara Y, Katsuragi Y, Mishima Y, Aoyagi Y, Kominami R. Mtf-1 lymphoma-susceptibility locus affects retention of large thymocytes with high ROS levels in mice after γ -irradiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2007) 354: 209-215.

2. 学会発表

Kominami R, Ohi H, Maruyama M, Kamimura K, Mishima Y, Niwa O. ROS levels and mutations in atrophic thymuses after γ -irradiation.

(The 13th International Congress of Radiation
Research) at San Francisco, U.S.A, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況
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

消化器がん発生に関与する炎症反応の分子機構の解明

分担研究者 大島 正伸 金沢大学がん研究所 教授

研究要旨

WntシグナルとCOX-2/PGE₂シグナルを活性化させたK19-Wnt1/C2mEマウスに発生する胃がん組織では、発生分子機序から遺伝子発現プロファイルまでヒト胃がんと類似しており、ヒト胃がんを外挿し得るモデルであると考えられた。このモデルを用いた解析により、胃がん組織ではPGE₂依存的にEGFRリガンドやsheddingプロテアーゼの発現誘導が認められ、それによるEGFRシグナル活性化が腫瘍発生に重要である事を明らかにした。また、COX/PGE₂以外にも、炎症性経路として重要なp12-LOXなどの腫瘍発生への重要性も明らかにした。

A. 研究目的

消化器がんの発生過程では、感染などに伴う炎症反応が重要である。とくに胃がん発生過程では*Helicobacter pylori*菌の感染による慢性炎症が関与している。炎症反応では、cyclooxygenase-2 (COX-2)やリポキシゲナーゼの発現誘導により、prostaglandin E₂ (PGE₂)や他の脂質メディエーターが産生される。また浸潤細胞ではケモカインやサイトカインの発現も誘導される。本研究では、これまでに作製した胃腫瘍発生モデルマウス (K19-Wnt1/C2mEマウス)、あるいは腫瘍細胞移植モデルを用いて、これらの炎症性反応が腫瘍発生にどのような影響を及ぼしているかを明らかにする事を目的として行なう。これまでの報告から炎症性PGE₂シグナルがepidermal growth factor受容体 (EGFR)を活性化して消化器がんの発生に関与している可能性が示唆されている。したがって、本研究ではK19-Wnt1/C2mEマウスの胃がん組織を用いて、生体内でのPGE₂あるいは炎症反応によるEGFR活性化と腫瘍発生への影響を解析し、また阻害薬投与実験によりその重要性を明らかにする。

B. 研究方法

(1) 胃がん組織におけるEGFR活性化の解析

WntとPGE₂双方のシグナルを活性化させたK19-Wnt1/C2mEマウス(n=5)の胃がん組織、PGE₂シグナルだけを活性化させたK19-C2mEマウス(n=3)の胃組織、および野生型マウス(n=3)の胃組織それぞれを用いて、EGFRリガンド(EGF、TGF- α 、Amphiregulin、Epiregulin、HB-EGF、betacellulin)、およびADAMファミリープロテアーゼ(Adam1a~Adam32)の遺伝子発現レベルをマイクロアレイにて解析した。発現亢進の見られる遺伝子についてはRT-PCRによる確認を行ない、EGFR活性化は免疫染色により確認した。また、すでに公開されているヒト胃がん組織の遺伝子発現データベースを用いて(Proc Natl Acad Sci USA, 99: 16203, 2002)、マウスとヒトでのEGFR活性化に関わる遺伝子発現変化について比較解析した。

(2) EGFR阻害による胃がん発生への影響の解析

K19-Wnt1/C2mE マウス (各群 n=4) を用いて、EGFR 阻害薬 (gefitinib; 100mg/kg) を、27週齢から30週齢まで3週間連続投与実験を行なった。対照として、COX-2 阻害薬 (NS-398; 10mg/kg) の3週間投与群と薬剤非投与群を設けた。胃がん組織の経時的変化は X 線 CT により解析した。投与終了の30週齢で、腫瘍組織の大きさを比較解析し、EGFR シグナル阻害による作用を、腫瘍組織を用いた RT-PCR および western blotting などにより解析した。

(3) リポキシゲナーゼ (p12-LOX) の作用の解析

アラキドン酸を基質として HETE を合成するリポキシゲナーゼの中で、5-LOX、8-LOX、12-LOX には発がん促進効果が示唆されている。そこで、p12-LOX に着目して、マウス腸管腫瘍、胃がん組織およびヒト大腸癌細胞での遺伝子発現を RT-PCR にて解析した。さらに、表皮由来細胞の JB6 を用いて、p12-LOX 阻害薬存在下および非存在下での軟寒天コロニー形成、および 96 well plate を用いた cloning efficiency 実験を行ない、腫瘍発生プロモーション過程での p12-LOX の作用を解析した。

(4) COX-2 およびケモカインの作用の解析

これまでの解析により、COX-2 の下流では血管新生因子の VEGF-A の発現が誘導されている可能性が示唆されている。また、炎症性ケモカイン受容体 CXCR3 を介したシグナルが悪性黒色腫の転移に重要である事を明らかされているので、同様の効果について大腸癌細胞を使って解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験は金沢大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

(1) 胃がん組織における EGFR シグナル活性化

K19-Wnt1/C2mE マウス胃がん組織では、Eregulin、Amphiregulin、HB-EGF の発現が野生型マウスに比較して顕著に上昇していた。重要な事に、これらの遺伝子発現は K19-C2mE マウス胃粘膜でも誘導されており、PGE₂ シグナルに依存的な発現誘導である事が明らかとなった。これら EGFR リガンドのプロトタイプは膜結合型であり、ADAM ファミリーのプロテアーゼにより膜から遊離し、EGFR に結合してシグナルを伝達する。K19-Wnt1/C2mE マウス胃がん組織では、ADAM ファミリーの中でも ADAM8、ADAM9、ADA10、ADAM17 の発現が亢進していた。以上の ADAM ファミリープロテアーゼは、EGFR リガンドの shedding に関与する事が報告されている。重要な事には、これらの遺伝子も K19-C2mE マウスで同様に発現誘導されており、プロテアーゼの産生も PGE₂ 依存的に誘導されている事が明らかとなった。

以上の発現解析結果を、ヒト胃がん組織の遺伝子発現プロファイルと比較すると、ADAM ファミリーと EGFR リガンドである Eregulin の発現パターンがマウスと極めて類似していた。ヒト胃がんの 70%以上で COX-2 経路が誘導されている事が報告されているので、ヒト胃がん組織では COX-2 誘導にともなう PGE₂ 産生が、EGFR リガンドと ADAM ファミリー双方の発現誘導を介して EGFR シグナルを亢進している可能性が考えられた。K19-C2mE マウスおよび K19-Wnt1/C2mE マウス双方の胃粘膜でリン酸化 EGFR の存在を免疫染色により検出し、EGFR の活性化を確認した。

(2) EGFR 阻害薬投与による胃がん発生への影響

K19-Wnt1/C2mE マウスを用いて、EGFR 阻害薬である gefitinib の3週間連続投与実験を行なった。その結果、胃がん組織の volume は非投与群マウスの10%以下まで減少した。 gefitinib 投与群マウスでの、投与前の胃がんの存在は X 線 CT にて確認している。したがって、Wnt と PGE₂ により発生する胃がん組織では、PGE₂ 依存的に活性化する EGFR シグナルが腫瘍組織の維持・増殖に重要である事が明らかとなった。COX-2 阻害薬によっても腫瘍発生が抑制されたが、 gefitinib の方がより効果的であった。

K19-Wnt1/C2mE マウスの胃がん組織で発現亢進あるいは低下している遺伝子群を抽出し、ヒト胃がんデータベースと比較解析した結果、ほとんどの遺伝子が多くのヒト胃がん組織でも同様の発現変化を示しており、双方の遺伝子発現変化が類似している事も明らかとなった。すなわち、K19-Wnt1/C2mE マウスは発生機序から腫瘍組織の遺伝子発現まで、ヒトの胃がんを外挿するモデルと考えられる。したがって、ヒト胃がん組織でも、PGE₂ 依存的に EGFR シグナルが活性化し、それが胃がん発生に重要である可能性が考えられた。

Western blotting および RT-PCR による解析により、 gefitinib 投与マウスの胃がん組織では、COX-2 発現が低下している事が明らかとなった。また、投与群では Wnt シグナル活性化の指標である、非リン酸化β-catenin 量の有意な減少も認められた。この結果は、PGE₂ 依存的に活性化した EGFR シグナルが、さらに COX-2 を誘導して PGE₂ 経路を亢進し、同時に Wnt シグナルを活性化している可能性を示している (Oshima *et al*, 投稿中)。

(3) リポキシゲナーゼ (p12-LOX) の作用の解析

Apc 遺伝子ノックアウト (*Apc*^{D716}) マウスに発生する腸管腫瘍組織、および

K19-Wnt1/C2mE マウス胃がん組織では、発がんに関与する可能性が示唆されている p12-LOX の発現が誘導されていた。また、大腸癌細胞でも広く p12-LOX の発現誘導が認められた。癌細胞を用いた実験により、p12-LOX 発現は NF-κB シグナルを介した炎症性刺激により発現誘導される事も確認した。

p12-LOX は広く癌組織で発現誘導されており、皮膚癌でも発現亢進が認められる。そこで、発がんのプロモーション過程の研究用ツールとして確立されている、マウス表皮由来の JB6 細胞を用いたアッセイを行なった。JB6 はすでにイニシエーションされた状態のため、TPA や EGF 刺激により軟寒天中でコロニーを形成する。しかし、p12-LOX 阻害薬である baicalein 存在下では TPA 刺激した JB6 によるコロニー形成が抑制された。また、細胞一個からの増殖を解析する、クローニング効率実験でも、baicalein 存在下では増殖が著しく抑制された。すなわち、イニシエーションされた上皮細胞が増殖して腫瘍組織を形成する過程で、炎症に起因した NF-κB が p12-LOX を誘導し、その代謝産物である 12-HETE が何らかの役割を果たしている事が考えられた。したがって、炎症に関与するアラキドン酸カスケードでは、COX-2 経路だけでなく p12-LOX 経路も腫瘍発生には必要である可能性がある (Piao *et al*, *Carcinogenesis*, 2008)。

(4) COX-2 およびケモカインの作用の解析

COX-2 の下流では VEGF-A の発現が誘導されて血管新生が亢進している可能性が示唆されている。そこで、マウス生体内で COX-2 発現を誘導させる負荷を与えると、実際に血中 VEGF-A 濃度の上昇が認められた (Oshima *et al*, *Exp Anim*, 2007)。この結果は、炎症に起因した COX-2/PGE₂ 経路が腫瘍組

織内の血管申請に関与している可能性を示している。

また、炎症性ケモカインの受容体である CXCR3 を強制発現させた大腸癌細胞の DLD-1 を免疫不全マウスの結腸に移植した際に、親株の癌細胞を移植した時と比較して、マウス個体内での肝臓や肺への転移が有意に亢進した (Kawada *et al*, *Oncogene*, 2007)。K19-Wnt1/C2mE マウスの胃がん組織でのケモカインプロファイルは未だ明らかにしていないが、この結果は、CXCR3 などの炎症性ケモカイン受容体を介した刺激が、胃発がん過程にも関与する可能性を示唆している。

D. 考察

これまでのマウスモデルの解析から、大腸がんや胃がんなどの消化器がん発生過程では Wnt シグナルなどの oncogenic な経路の亢進と、COX-2 などの炎症性反応の誘導の双方が関与している事が明らかとなっている (Oshima *et al*, *Biology of Gastric Cancer*, 2008)。今年度の研究成果により、炎症性刺激の中心的役割を担う PGE₂ シグナルが、遺伝子発現誘導を介して EGFR シグナルを活性化し、それが発がんに関与する可能性を示す事が出来た。COX-2 あるいは PGE₂ 依存的な EGFR 活性化機序について複数の報告があるが、EGFR リガンドと ADAM ファミリーの発現誘導を網羅的に解明したのは本研究が初めてである。腸管腫瘍モデルである *Apc* 遺伝子変異マウスを用いた解析により、腸管腫瘍でも EGFR シグナルが活性化しており、EGFR 阻害薬の投与や EGFR 遺伝子変異により、腸管腫瘍発生が有意に減少する事が報告されている。さらに COX-2 阻害薬との併用により顕著に腫瘍発生を抑制する事から、COX-2 阻害薬と EGFR 阻害薬のコンビネーションによる新たな大腸がん予防方法が提唱されている。本研究

成果は、大腸がんと同様に胃がんの化学予防薬の標的としての EGFR の可能性を、マウスモデルを用いて初めて明らかにするものである。また、COX-2 阻害薬による腫瘍抑制効果も認められているので、COX-2 阻害薬と EGFR 阻害薬のコンビネーションによる投薬は胃がん予防に対しても有効である可能性を示している。

さらに、本研究では EGFR シグナルがさらに COX-2 発現を誘導し、また Wnt シグナル活性を亢進する事を明らかにした。この結果は、Wnt と COX-2/PGE₂、そして EGFR の各シグナル経路がポジティブフィードバックにより相互に制御し合っており、それが発がんに関与する可能性を示している。

遺伝子発現解析を行なう過程で、K19-Wnt1/C2mE マウスの遺伝子発現プロファイルが多くのヒト胃がん組織と類似している事が明らかとなった。ヒト胃がん発生原因は未だ不明な点が多いが、30~50%で Wnt シグナル亢進が認められ、70%以上で COX-2 発現誘導が認められる。したがって、K19-Wnt1/C2mE マウスは少なくとも一部のヒト胃がんを、発生分子機序から腫瘍組織の遺伝子発現パターンを忠実に再現したモデルであると考えられる。将来的に、このモデルを用いた解析結果はヒト胃がん発生を解明するために重要な知見となる事が期待できる。

炎症反応では、COX-2 だけでなく LOX 経路も誘導されて、様々な脂質メディエーターが誘導される。本研究結果から、消化器がん発生過程での p12-LOX の役割が示唆されたが、genetic な実験結果は得られていない。Wnt と PGE₂ の活性化に起因して発生する胃がんや大腸癌組織で、炎症反応に由来する EGFR 活性化や p12-LOX 誘導、そしてサイトカイン、ケモカインネットワークの活性化などが発がんにどのように関与している

のか、今後、マウスモデルを用いて明らかにしていく。

E. 結論

WntシグナルとCOX-2/PGE₂シグナルの活性化により発生したK19-Wnt1/C2mEマウス胃がん組織では、ヒト胃がんと類似した遺伝子発現プロファイルが認められ、このマウスモデルはヒト胃がんを外挿するモデルと考えられる。このモデルを用いた解析により、胃がん組織ではPGE₂依存的にEGFRシグナルが活性化しており、その活性化が腫瘍発生に重要である事が明らかになった。この結果は、EGFRが胃がん予防薬の重要な標的である事を示唆している。また、COX/PGE₂以外にも、炎症性経路としてp12-LOXやCXCR3などの腫瘍発生への重要性も明らかにした。

G. 研究発表

1. 論文発表

Piao Y-S, Du Y-C, Oshima H, Jin J-C, Nomura M, Yoshimoto T, and Oshima M.

Platelet-type 12-lipoxygenase accelerates tumor promotion of mouse epidermal cells through enhancement of cloning efficiency. *Carcinogenesis* 29: 440-447, 2008.

Oshima M, Suzuki H, Guo X, and Oshima H. Increased level of serum vascular endothelial growth factor by long-term exposure to hypergravity. *Exp Anim*, 564: 309-313, 2007.

Kawada K, Hosogi H, Sonoshita M, Sakashita H, Manabe T, Shimahara Y, Sakai Y, Takabayashi A, Oshima M, and Taketo MM. Chemokine

receptor CXCR3 promotes colon cancer metastasis to lymph nodes. *Oncogene*, 26: 4679-4688, 2007.

Kojima Y, Miyoshi H, Clevers HC, Oshima M, Aoki M, and Taketo MM. Suppression of tubulin polymerization by the LKB1-MAPK signaling. *J Biol Chem*, 282: 23532-23540, 2007.

Oshima M, Oshima H, and Taketo MM. Prostaglandin and TGF- β signaling in gastric cancer. In: *Biology of Gastric Cancer*, ed. by Wang T, Springer, in press.

2. 学会発表

Oshima M, Oshima H and Taketo MM. Mouse model of gastric cancer by simultaneous activation of Wnt and PGE₂ pathways. Annual Meeting of AACR, Los Angeles, Apr, 2007

大島正伸、大島浩子、武藤 誠「WntシグナルとPGE₂経路の活性化による胃がん発生モデルマウス」第66回日本癌学会学術総会、横浜、2007年10月

大島正伸「消化器がん発生におけるPGE₂とマクロファージの役割の解析」第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会合同大会、横浜、2007年12月

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

遺伝子改変技術を用いたがんモデルラットの開発

分担研究者 庫本 高志 京都大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨 Apc delta ラット(F344-Apc^{A2522})に対して、AOM と DSS 投与による大腸がん誘発試験を実施した。全ての Apc delta ホモラットに大腸腫瘍が誘発された。その数は1頭当たり平均 24.8 個であり、ヘテロ比有意に大きかった。異形性腺窩数、腺腫数、腺癌数においても、ホモラットはヘテロラットに比べ有意に大きな値を示した。Apc delta ホモラットは、AOM と DSS 投与による大腸発がんを高感受性を示すと結論した。

A. 研究目的

Apc delta ラットは、APC 蛋白質 2843 残基の C 末側 321 残基を欠失している。Apc delta ホモラット、ヘテロラットともに、1年以上生存可能である。また、ホモラット、ヘテロラットとも、小腸腫瘍や大腸腫瘍を自然発症することはない。

本研究では、Apc delta ラットにアゾキシメタン(AOM)とデキストラン硫酸(DSS)を投与することにより、大腸がんを誘発し、Apc delta ラットの大腸がん感受性を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

大腸がん誘発試験

9 週齢の Apc delta ホモラット(n=9)とヘテロラット(n=9)に AOM を 20mg/kg, bw 皮下投与した。AOM 投与後 1 週目から、2% DSS を 1 週間飲水投与した。実験開始後 20 週目に剖検し、大腸を摘出し、腫瘍のサイズと個数を測定した。

遺伝子変異の検索

64 個 (ホモ ; 38 個、ヘテロ ; 26 個) の腫瘍を対象に、DNA を抽出し、beta-カテニンと K-ras 遺伝子について変異の有無をシーケンス法により検索した。

病理検査

結腸、直腸の HE 染色標本を作製し、異形性腺窩、腺腫、腺癌を検索した。また、免疫組織学的検索により、

beta-カテニンの細胞内局在を検討した。

倫理面への配慮

本動物実験は、「京都大学における動物実験の実施に関する規程」に基づき実施された。動物実験計画書は、京都大学医学研究科・医学部動物実験委員会により承認されている(MedKyo07001)。

C. 研究結果

大腸がん誘発試験

ホモ、ヘテロとも全ての個体で、少なくとも 4 個以上の腫瘍が観察された。

腫瘍の体積 (平均値±SD) は、ホモで 53.5±15.1 mm³、ヘテロで 50.8±48.7 mm³であり有意差はなかった。

一頭あたりの腫瘍数は (平均値±SD) は、ホモで 24.8±12.4 個、ヘテロで 11.3±6.1 個であり、ホモは有意に高い値(P<0.01)を示した。

誘発腫瘍の遺伝子変異

K-ras 遺伝子の変異は、ホモ、ヘテロとも検出されなかった。

beta カテニン遺伝子の変異は、ホモでは 28 個(73.7%)の腫瘍で検出された。一方、ヘテロでは、23 個(88.5%)の腫瘍で検出された。beta カテニン遺伝子の変異は、コドン 32,33,34,37,41,44,45 に局在していた。

病理検査

一頭あたりの異形性腺窩、腺腫、腺癌の平均個数を以下の表にまとめる。

	ホモ	ヘテロ	
異形性腺窩 (個)	15.78 ± 8.21	4.89 ± 2.32	P<0.002
腺腫 (個)	9.11 ± 5.64	3.56 ± 3.78	P<0.05
腺癌 (個)	20.67 ± 10.56	6.33 ± 2.87	P<0.002
全腫瘍 (個)	29.78 ± 15.46	9.87 ± 6.13	P<0.005

Apc delta ホモラットの直腸、結腸に誘発される大腸腫瘍は、ヘテロラット比べ、有意に多いことが病理検査レベルで明らかとなった。

腺癌において beta カテニンの核内移行が観察された。

D. 考察

AOM と DSS の投与による大腸がん誘発試験において、Apc delta ホモラットは、ヘテロラットと比べ、高感受性を示した。マクロレベルの観察において、腫瘍の大きさに差異はなかったものの、腫瘍数はホモが有意に多かった。また、ミクロレベルの観察において、異形性腺窩数、腺腫数、腺癌数は、いずれも、ホモが有意に多かった。

野生型 F344 ラットを対象とした AOM と DSS による発がん実験が報告されている。そこに示されている値を参考にすると、腫瘍の大きさは、F344、Apc delta ヘテロ、ホモともに差異はなかった。腫瘍数は、F344 と Apc delta ヘテロが同等であり、ホモラットはそれらに比べ有意に多かった。従って、Apc delta ホモラットは、AOM と DSS の投与による大腸がん誘発試験に対し、高感受性を示すと考えられた。

Apc delta ラットに誘発された大腸腫瘍では、beta カテニン遺伝子に高頻度に遺伝子変異があった。また、Beta カテニンが核内に移行していた。つまり、Wnt シグナル系が昂進していることが示唆された。

Wnt シグナル系の昂進は、ヒト大腸腫瘍の発生においても、重要な役割を果たすことが知られている。従って、Apc delta ラットを用いた AOM+DSS 大腸発がん系は、ヒト大腸腫、特に、Wnt シグナル系昂進による大腸腫瘍の新たなモデルになる可能性が高い。

我が国で毎年新しく大腸がん罹患する人は 6 万人。2015 年には罹患率で胃がんを追い越し 1 位となり、死

亡率でも肺がんに次いで第 2 位になると予測されている。このような状況のもと、新規抗ガン剤の開発、大腸がんの早期診断法や効果的予防法の開発などが進められている。抗ガン剤、診断法、予防法の開発を効果的に進めるには、優れた大腸がんモデル動物の利用が欠かせない。

Apc delta ホモラットを用いた AOM+DSS 大腸発がん系は、上記の目的に合致した優れたモデル系になる可能性を秘めている。すなわち、短期間 (約 20 週) で高頻度 (100%) に多数 (約 25 個) の大腸がんが誘発できる。AOM と DSS 投与から一定の時期に、多数の胆がん動物を準備できるので、新規薬剤のスクリーニングに適している。

また、適当な大きさがあるので、内視鏡を用いて直腸および結腸の観察ができる。つまり、腫瘍発生の過程を経時的に、動物を殺すことなく、観察できる。腫瘍のバイオプシーができる。蛍光ラベルした腫瘍マーカーによる早期診断ができる。ラットの疾患モデルとしての特性を最大限に利用すれば、ヒトの大腸腫瘍の診断、治療に用いられている手技の多くが利用できる。

以上のように、Apc delta ラットを用いた AOM+DSS 大腸発がん実験系は、大腸がんに対する抗ガン剤、診断法、予防法の開発を効果的に進める優れたモデルとして位置付けられる。

E. 結論

Apc delta ホモラットは、AOM と DSS 投与による大腸発がんを高感受性を示す。疾患モデル動物としてのラットの特性を考慮すると、Apc delta ホモラットは、大腸がんに対する抗ガン剤、診断法、予防法の開発を効果的に進めるための優れたモデルとなる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Voigt B, Kuramoto T, Mashimo T, Tsurumi T, Sasaki Y, Hokao R, Serikawa T

Evaluation of LEXF/FXLE rat recombinant inbred strains for the genetic dissection of complex traits.

Physiol. Genomics 32(3):335-342,2008

Kuramoto T, Nakanishi S, Serikawa T

Functional polymorphisms in inbred rat strains and their allele frequencies in commercially available outbred stocks.

Physiol. Genomics (in press), 2008

2. 学会発表

庫本高志, 芹川忠夫

毛胞と乳腺の発育不全を示す Sparse and wavy hair ラットの原因遺伝子の同定

第54回日本実験動物学会総会、東京、2007.5.23-25

Voigt B, Mashimo T, Kuramoto T, Takizawa A, Ya-

masaki K, Nakanishi S, Serikawa T.

Genetic dissection of the LEXF/FXLE recombinant inbred strains: A SNP based QTL study.

The 2007 meeting on Rat Genomics & Models, Dec 6 - 9, 2007. Cold Spring Harbor, New York, USA.

H. 知的財産の出願・登録状況

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

コンソミックマウスを用いたDSS/PhIP大腸発がんの研究

分担研究者 杉江茂幸 金沢医科大学 教授

研究要旨

雌雄コンソミックマウス 2番C(2C)及び2番T(2T)に対して、PhIP-DSS炎症性大腸発がんモデルを用い、発がん感受性実験を自家繁殖によって暫時行っている。2Tに比し、2Cは、肥満傾向にあった。大腸腫瘍は、2T雄PhIP-DSS群2/6 (0.67 ± 1.21)、2T雄PhIP群0/2、2T雌PhIP-DSS群0/14、2T雌PhIP群0/3、2T雌DSS群0/3、2T雌陰性対照群0/3、2C雄PhIP-DSS群2/3 (2.33 ± 2.08)、2C雄DSS群2/3 (1.00 ± 1.00)、2C雌PhIP-DSS群6/7 (2.86 ± 1.77)であった。2C雌が最も腫瘍発生が効率であった。これらの結果から、2Tよりも2Cが高感受性であり、雌が高感受性の傾向と推定された。

A. 研究の目的

死亡原因の第1位であるがんの制圧は、国民的課題であり、発がん物質、特に環境中発がん物質のヘテロサイクリックアミンに対する感受性要因の解明は重要である。中でもPhIP、MeIQxは、動物実験において多臓器に発がん性が確認されている。このような環境中発がん物質に対する発がん感受性や抵抗性遺伝子の同定、解析を行うことは発がんの機序、種差、個体差の原因解明に必須であり、得られる成果はがん予防、治療に有用と考えられる。今回、新たに開発したdextran sulfate sodium (DSS)発癌剤併用短期マウス大腸発がんモデルを用いて、ヘテロサイクリックアミンによる種々の異なる系統のマウスでの発癌感受性の差異を検討し、発癌感受性遺伝子、発癌抵抗性遺伝子の同定のための動物実験を行う。特に、ヘテロサイクリックアミンに関する感受性遺伝子の同定、解明を最終目標とする。

B. 研究の方法

雄雌雄コンソミックマウス 2番C(2C)及び2番T(2T)に対して発がん感受性実験を自家繁殖によって暫時行っている途上である。8週齢雄雌雄コンソミックマウス2番C及び2番Tを各4群に分け、第1群にPhIP 200mg/kg体重胃内強制投与し、1週間後から5日間1.5% DSSを飲水投与し、PhIP投与後4週間後、同処置を再度繰り返した。第2群には、PhIP 2回投与のみ、第3群には、DSS 2回投与のみ、第4群は、無処置群とした。実験開始20週間後実験終了し、安楽死、剖検した。2T雄1群6匹、2群2匹、2T雌1群14匹、2群3匹、3群3匹、4群3匹、2C雄1群3匹、3群3匹、2C雌1群7匹が終了した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、金沢医科大学動物実験指針のガイドラインに準拠して行う。動物愛護の精神に則って動物飼育を行い、動物の処置においては倫理基準を遵守し、安楽死は、深麻酔下、苦痛に配慮する。倫理基準による医学生物学

実験法に関する分類におけるカテゴリ C (脊椎動物を用いた実験で、動物に対して軽微なストレスあるいは痛み (短時間持続する痛み) を伴う実験) の範囲内の実験である。

C. 研究結果

2T に比し、2C は、肥満傾向にあった。大腸に過形成、腫瘍が発見された。各群の大腸過形成、腺腫、腺癌、全腫瘍の発生率、平均個数は、2T 雄 PhIP-DSS 群 1/6 (0.67±0.41)、2/6 (0.67±1.21)、0/6、2/6 (0.67±1.21)、2T 雄 PhIP 群 0/2、0/2、0/2、0/2、2T 雌 PhIP-DSS 群 7/14 (0.50±0.52)、0/14、0/14、0/14、2T 雌 PhIP 群 2/3 (0.67±0.58)、0/3、0/3、0/3、2T 雌 DSS 群 1/3 (0.33±0.58)、0/3、0/3、0/3、2T 雌陰性対照群 0/3、0/3、0/3、0/3、2C 雄 PhIP-DSS 群 1/3 (0.33±0.58)、2/3 (1.00±1.00)、2/3 (1.33±1.53)、2/3 (2.33±2.08)、2C 雄 DSS 群 2/3 (0.67±0.58)、2/3 (0.67±0.58)、1/3 (0.33±0.58)、2/3 (1.00±1.00)、2C 雌 PhIP-DSS 群 3/7 (0.43±0.53)、3/7 (0.57±0.79)、6/7 (2.29±1.50) 7、6/7 (2.86±1.77) であった。2C 雌が最も腫瘍発生が効率であった。

D. 考察

まだ実験途上であり、断定はできないが、以上の結果から 2 つの系統間で明らかな感受性の違いが認められた。このコンソミックマウスは、27 系統あり、その中でも同じ染色体上のみ差異のある系統間でこれほどの感受性の違いが発見されたことは、染色体、遺伝子の解析のターゲットの範囲は、絞られてきたことを意味し、今後の遺伝子解析において PhIP 誘発炎症性大

腸発がんの責任遺伝子の発見に近づいたものと考えられる。

E. 結論

大腸過形成は、2T、2C2 系統共に発生し、有意な差はなかった。2T 雄では PhIP-DSS 処置群で腺種のみ発生し、2T の他群での腫瘍発生はなかった。2C 雌雄では、施行した処置群すべて、腺種、腺癌が発生し、2C がより大腸癌感受性が高いことが推定される。今後の結果の蓄積が必要である。

G. 研究発表

BOOK

1. Tanaka T., Miyamoto S., Yausi Y., Kohno H., Sugie S., Obesity: a risk for hepatocellular carcinoma. In: Tanaka, T. (Ed.), *Cancer: Disease Progression and Chemoprevention*, Chapter 1. Disease Progression, pp. 57-74, Research Signpost, Kerala (India), 2007.

Journal

1. Hayashi K., Suzuki R., Miyamoto S., Yoshitani S., Kohno H., Sugie S., Takashima S., Tanaka T., Citrus auraptene suppresses azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Nutr. Cancer*, 58: 75-84, 2007.
2. Suzuki R., Miyamoto S., Yasui Y., Sugie S., Tanaka T., Global gene expression analysis of the mouse colonic mucosa treated with azoxymethane and dextran sodium sulfate. *BMC Cancer*, 7: 84, 2007.
3. Kohno H., Totsuka Y., Yasui Y., Suzuki R., Sugie S., Wakabayashi K., Tanaka T., Tumor-initiating potency of a

novel heterocyclic amine, aminophenylnorharman in mouse colonic carcinogenesis model. *Int. J. Cancer*, 121: 1659-1664, 2007.

4. Yasui Y., Suzuki R., Miyamoto S., Tsukamoto T., Sugie S., Kohno H., Tanaka T., A lipophilic statin, pitavastatin, suppresses inflammation-associated mouse colon carcinogenesis. *Int. J. Cancer*, 121: 2331-2339, 2007.
5. Tanaka T., Sugie S., Inhibition of colon carcinogenesis by dietary non-nutritive compounds. *J. Toxicol. Pathol.*, 20: 215-235, 2007.
6. Miyamoto S., Suzuki R., Yasui Y., Kohno H., Sugie S., Murakami A., Ohigashi H., Tanaka T., Lack of Enhancing Effect of Lauric Acid on the Development of Aberrant Crypt Foci in Male ICR Mice Treated with Azoxymethane and Dextran Sodium Sulfate. *J. Toxicol. Pathol.*, 20: 93-100, 2007.

学会発表

国際学会・外国学会

1. 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 *Apc^{Min/+}* mice. The 2nd Biennial Scientific Meeting of International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (The 2nd InSiGHT). Yokohama, March 27-30, 2007.
2. Miyamoto S, Hayashi K, Suzuki R, Kohno H, Sugie S., Takashima S, Murakami A, Ohigashi H, and Tanaka T.: Citrus auraptene suppresses azoxymethane-induced colonic preneoplasia in *db/db* mice. 98th Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Los Angeles, April 14-18, 2007.
3. Kohno H, Suzuki R, Yasui Y, Miyamoto S, Sugie S., Tanaka T.: Ursodeoxycholic acid inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. The 8th Japan-Korea Joint Symposium on Cancer and Ageing Research, Gifu, August 10-11, 2007.
4. Yasui Y, Suzuki R, Kohno H, Miyamoto S, Sugie S., Tanaka T.: A lipophilic statin, pitavastatin inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. The 8th Japan-Korea Joint Symposium on Cancer and Ageing Research, Gifu, August 10-11, 2007.
5. Tatematsu K, Mori Y, Sugie S., Tanaka T, and Mori H.: Tissue-specific modification by curcumin of mutagenic activation of carcinogenic *N*-nitroso compounds by CYP2B1 and 2E1 in rats. 3rd International Conference on Polyphenols and Health (ICPH2007), Kyoto, November 25-28, 2007.
6. Yasui Y, Kim M, Miyamoto S, Ishigamori-Suzuki R, Sugie S., and Tanaka T.: The inhibitory effect of pitavastatin on colitis-related colon carcinogenesis in mice. 9th International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (ICMAA-2007), Jeju Island, Korea, December 1-5, 2007.
7. Kim M, Yasui Y, Miyamoto S, Sugie S.

S, Murakami A, Ishigamori-Suzuki R, and Tanaka T,: Dietary pitavastatin inhibits

4-nitroquinoline-1-oxide-induced carcinogenesis in the upper-digestive organs of *rasH2* mice. 9th International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (ICMAA-2007), Jeju Island, Korea, December 1-5, 2007.

国内学会

1. 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、1月30-31日、2007年。
2. 甲野裕之、安井由美子、鈴木里加子、杉江茂幸、田中卓二：APNH/DSS 誘発大腸発がん と DNA adduct 形成との関連性。第23回日本毒性病理学会、東京、1月30-31日、2007年。
3. 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：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、1月30-31日、2007年。
4. 田中卓二、甲野裕之、杉江茂幸、：CB6F1-Tg-rasH2 マウスにおける4-NQO 誘発舌発がん感受性。第96回日本毒病理学会、大阪、3月13-15日、2007年。
5. 杉江茂幸、甲野裕之、田中卓二：rasH2 マウスにおける DEN と MeIQx の発がん性の検討。第96回日本病理学会、大阪、3月13-15日、2007年。
6. 甲野裕之、高橋真美、安井由美子、鈴木里加子、杉江茂幸、若林敬二、田中卓二：AOM/DSS 誘発マウス大腸発がんに対する iNOS 阻害剤 ONO-1714 による修飾効果。がん予防大会 in TOKYO 2007 (第14回日本がん予防学会、第8回日本がん

- 子疫学研究会、第30回がん疫学研究会)、東京、7月12-13日、2007。
7. 杉江茂幸、甲野裕之、安井由美子、宮本真吾、田中卓二：BBN 誘発マウス膀胱発がんにおける β -cryptoxanthin の抑制効果。がん予防大会 in TOKYO 2007 (第14回日本がん予防学会、第8回日本がん分子疫学研究会、第30回がん疫学研究会)、東京、7月12-13日、2007。
8. 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抑制。第18回西日本臨床胆汁酸研究会、大阪、7月21日、2007。
9. Sugie S, Miyamoto S, Yasui Y, Kohno H, Suzuki R, Nakagama H, Tanaka T, : Modifying effects of NNK on AOM/DSS colon carcinogenesis model in A/J mice. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2007.
10. Tanaka T, Suzuki R, Miyamoto S, Yasui Y, Kohno H, Sugie S, : Global gene expression analysis of the mouse colonic mucosa treated with azoxymethane and dextran sodium sulfate. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2007.
11. 安井由美子、甲野裕之、杉江茂幸、田中卓二：プロポリスの水抽出物およびエタノール抽出物による AOM 誘発ラット大腸 aberrant crypt foci の抑制効果。第18回日本消化器癌発生学会総会、札幌、11月8-9日、2007。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(なし)

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん戦略研究事業）

分担研究報告書

大腸発がんにおける炎症の関与とその分子機構の解明

分担研究者 中島 淳 横浜市立大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨 脂肪細胞の分化誘導因子として研究されてきた PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated-Receptor gamma)は脂肪細胞や腸管およびほとんどすべての癌において高発現していることが報告されており、PPAR γ が癌に対し何らかの作用を有することが示唆されている。われわれはこれまで PPAR γ の活性化が抗炎症作用・発癌抑制作用を示すことを報告してきた。またマウス発癌モデルにおいて PPAR γ リガンド投与が大腸癌の発生のみならず大腸前癌病変である Aberrant Crypt Foci (ACF)の発生を抑制することを報告したが、拡大内視鏡の進歩により観察が可能となったヒト ACF をメルクマールとし、PPAR γ リガンド投与でヒト ACF が消退・消失することをパイロットスタディーで確認した。さらに dysplastic ACF は内臓脂肪と相関があり内臓脂肪を減少させることで大腸前癌病変を減少させることが示唆され、詳細な検討が課題となった。ACF の個数と年齢、身長、体重、ウエスト、BMI、糖尿病罹患歴、HbA1c、血糖、HOMA-IR、Tcho、TG、CRP、L/S 比、内臓脂肪、皮下脂肪の相関を、さらに IGF-1、レプチン、アディポネクチンなどとのアディポサイトカインに対し相関を解析した。dysplastic ACF と肥満、特に内臓脂肪型肥満は特に強い相関を認めた。このメカニズムとして内臓脂肪の分泌するアディポネクチンや IGF-1 の関与、さらにこれらが細胞増殖に積極的に関与している可能性が示唆された。今後、既存の抗癌剤との併用による相乗効果、副作用の軽減、QOL の維持、癌死の減少など PPAR γ リガンドの臨床応用が期待される。

A. 研究目的

核内受容体型転写因子である PPAR γ は脂肪細胞や大腸癌細胞などに多く発現しており、大腸癌細胞では細胞増殖抑制・分化誘導・アポトーシス誘導作用などが明らかにされている。我々はこれまで PPAR γ リガンドは NF- κ B の活性化を抑制して腸管の炎症を抑え、マウス・アゾキシメタン化学発癌モデルにおいて発癌を

抑制し、PPAR γ 阻害剤が培養がん細胞の増殖を抑制することを最近発見した。これまで PPAR γ を抑制した場合の細胞に与える影響に関する報告はなく、PPAR γ 阻害剤および siRNA の大腸癌培養細胞に対する作用を検討した。さらに大腸癌と関連が指摘されている肥満や糖尿病など生活習慣病の因子と拡大内視鏡の進歩により観察可能となったヒト ACF との相関を検討する。

また、ACFをメルクマールとし、PPAR γ リガンドの作用を検討する。

B. 研究方法

平成16年4月より当院で下部消化管内視鏡を行い500例に対しdysplastic ACFを観察した。そのうち同意の得られた80例に対し問診、採血、腹部CT検査を行い、ACFの個数と年齢、身長、体重、ウエスト、BMI、糖尿病罹患歴、HbA1c、血糖、HOMA-IR、Tcho、TG、CRP、L/S比、内臓脂肪、皮下脂肪の相関を、さらにIGF-1、レプチン、アディポネクチンなどとのアディポサイトカインについても相関を解析した。同意の得られた対象患者に対し1～8ヶ月間PPAR γ リガンドであるpioglitazoneを投与しACFの変化を解析した。

(倫理面への配慮)

内視鏡検査は横浜市立大学附属病院定める規約を遵守し、検査による苦痛に対して十分な配慮を払った。pioglitazone投与は十分にその有用性、危険性を説明し同意の得られた場合のみ投与を行った。

C. 研究結果

拡大内視鏡を用いヒト大腸のdysplastic aberrant crypt foci (ACF)を観察しこれを大腸前がん病変のメルクマールとし生活習慣病を起こしうる各因子との相関を検討したところ内臓脂肪と有意な相関を認めた。この分子機構としてアディポネクチンが逆相関をIGF-1が正相関認め、これらが大腸発癌に関わるが示唆された。同意の得られた14症例に対しPioglitazone1～8ヶ月投与した。ACFは拡張した異型腺管の集簇であるが、これらの減

少する傾向を認めた。

D. 考察

PPAR γ 阻害剤およびsiRNAにより、接着していた大腸癌培養細胞はアクチンファイバーの消失を伴った形態変化を起こした後剥離し、アポトーシスに至った。また、PPAR γ 阻害剤は細胞浸潤能を有意に低下させ、大腸癌マウス肝転移モデルにおいて転移巣の数・体積を減少させた。PPAR γ は抑制することによりアポトーシスを誘導することが明らかとなった。一般に大腸癌化学発癌予防は癌発生の現象をメルクマールに行うため長い時間と費用を必要とする研究になる。与えられた短期間で臨床研究成果を出すためメルクマールとしてACFを用いたのは大変有用であった。大腸がんはこれまで多段階発育するがんとして特に遺伝的な関与が強く考えられていたが、内臓脂肪など内的環境も発癌を促進する因子として考えることが必要となることが本研究で明らかにされつつある。詳細なメカニズムの解析により今後大腸化学発癌予防などへの応用が期待される。今後ヒトACFにおいてpioglitazone投与前後の発現遺伝子の網羅的解析をレーザーキャプチャーマイクロダイセクション(LCM)により得られたサンプルから作用メカニズムの解析、さらには新しい化学発癌予防の分子標的の同定を目指すことを検討する。

E. 結論

大腸癌は生活様式の欧米化により本邦においても増加している。その早急な対策は重要かつ社会の要求の高い問題である。現在、大腸癌の二次予防として免疫学的便潜血法によるスクリーニングとハイリスクグループの内視鏡によるサーベイランスが行われているが、

米国ではこれに加え化学発癌予防の大規模治験が進行中である。これにはアスピリンやスリンダクなどNSAIDsが多く用いられているがCOX-2阻害薬による大規模臨床治験がその重篤な副作用のため頓挫したことは記憶に新しく、PPAR γ リガンドは安全性が確立しておりこれに変わる有望な候補として期待される。生活習慣病は社会問題となっているが大腸前がん病変がこれと関連があり、内臓脂肪が鍵を握るそのメカニズムを解明することで大腸癌の罹患率・死亡率を低下しうる可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ihara A, Wada K, Yoneda M, Fujisawa N, Takahashi H, Nakajima A. Blockade of leukotriene B4 signaling pathway induces apoptosis and suppresses cell proliferation in colon cancer. **J Pharmacol Sci.** 2007;103(1):24-32.
2. Wada K, Sakamoto H, Nishikawa K, Sakuma S, Nakajima A, Fujimoto Y, Kamisaki Y. Life style-related diseases of the digestive system: endocrine disruptors stimulate lipid accumulation in target cells related to metabolic syndrome. **J Pharmacol Sci.** 2007;105(2):133-7.
3. Takahashi H, Yoneda K, Tomimoto A, Endo H, Fujisawa T, Iida H, Mawatari H, Nozaki Y, Ikeda T, Akiyama T, Yoneda M, Inamori M, Abe Y, Saito S, Nakajima A, Nakagama H. Life style-related diseases of the digestive system: colorectal cancer as a life style-related disease: from carcinogenesis to medical treatment. **J Pharmacol Sci.** 2007;105(2):129-32.
4. Nakajima A, Wada K. Life style-related diseases of the digestive system: from molecular mechanisms to therapeutic strategies: preface. **J Pharmacol Sci.** 2007;105(2):127-8.
5. Ikeda I, Tomimoto A, Wada K, Fujisawa T, Fujita K, Yonemitsu K, Nozaki Y, Endo H, Takahashi H, Yoneda M, Inamori M, Kubota K, Saito S, Nagashima Y, Nakagama H, Nakajima A. 5-Aminosalicylic Acid Given in the Remission Stage of Colitis Suppresses Colitis-Associated Cancer in a Mouse Colitis Model. **Clin Cancer Res.** 2007;13(21):6527-6531.
6. Shimamura T, Royal RE, Kioi M, Nakajima A, Husain SR, and Ouri RK. Interleukin-4 cytotoxic therapy synergizes with gemcitabine in a mouse model of pancreatic ductal adenocarcinoma. **Cancer Res**, 67: 9903-9912, 2007.
7. Yoneda M, Saito S, Ikeda T, Fujita K, Mawatari H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Akiyama T, Takahashi H, Abe Y, Kubota K, Iwasaki T, Terauchi Y, Togo S, and Nakajima A. Hepatitis C virus directly associates with insulin resistance independent of the visceral fat area in nonobese and nondiabetic patients. **J Viral Hepat**, 14: 600-607, 2007.
8. Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Abe Y, Kubota K, Saito S, Iwasaki T, Terauchi Y, Togo S, Maeyama S, and Nakajima A. High-sensitivity C-reactive protein is an in-

dependent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol*, 42: 573-582, 2007.

9. Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Yonemitsu K, Kato S, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Abe Y, Kubota K, Saito S, Iwasaki T, Terauchi Y, Togo S, Maeyama S, and Nakajima A. Type IV collagen 7s domain is an independent clinical marker of the severity of fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis before the cirrhotic stage. *J Gastroenterol*, 42: 375-381, 2007.

10. Kobayashi N, Hiraoka N, Yamagami W, Ojima H, Kanai Y, Kosuge T, Nakajima A and Hirohashi S. FOXO3+ regulatory T cell affect the development and progression of hepatocarcinogenesis. *Clin Cancer Res*, 13: 902-911, 2007

2. 学会発表

1. Ayako Tomimoto, Toshio Fujisawa, Hirokazu Takahashi, Hitoshi Nakagama, Atsushi Nakajima PPAR γ attenuates cancer cell migration and invasion through activation of small GTPase protein, Cdc42/Rac1 in pancreatic cancer. AACR Annual Meeting 2007 Los Angeles, USA. 2007 Jan.

2. Toshio Fujisawa, Ayako Tomimoto, Hirokazu Takahashi, Kyoko Yonemitsu, Atsushi Nakajima. Adiponectin prevents colorectal carcinogenesis through suppressing mTOR signaling pathway

stimulated by high fat diet. AACR Annual Meeting 2007 Los Angeles, USA. 2007 Jan.

3. Hirokazu Takahashi, Toshio Fujisawa, Kyoko Yonemitsu, Ayako Tomimoto, Hiroki Endo, Atsushi Nakajima. Visceral fat obesity increase dysplastic aberrant crypt foci. AACR Annual Meeting 2007 Los Angeles, USA. 2007 Ja

4. Hirokazu Takahashi, Toshio Fujisawa, Kyoko Yonemitsu, Ayako Tomimoto, Hiroki Endo, Atsushi Nakajima Visceral fat obesity increase dysplastic aberrant crypt foci AACR Annual Meeting 2007 April 14-18, 2007 Los Angeles Convention Center Los Angeles, CA

5. 富本 彩子、藤澤 聡郎、米満 恭子、高橋 宏和、藤田 浩司、遠藤 宏樹、野崎 雄一、秋山 智之、馬渡 弘典、飯田 洋、米田 正人、廣川 智、後藤 歩、阿部 泰伸、稲森 正彦、小林 規俊、桐越 博之、窪田 賢輔、齊藤 聡、中島 淳 メトフォルミンによる APC Min マウスのポリープの形成抑制効果の検討 JDDW2007 ポスターセッション (消化器病学会) 大腸ポリープ 神戸 10月19日(金)

6. 富本 彩子、藤澤 聡郎、遠藤 宏樹、野崎 雄一、米田 恭子、秋山 智之、高橋 宏和 齊藤 聡、中島 淳 高脂肪食による大腸発生癌促進と、mTOR 経路を介したアディポネクチンの発癌抑制作用の検討 第18回日本消化器癌発生学会総会 札幌 平成19年11月8日(木)、9日(金)

7. 高橋 宏和、米田 恭子、富本

8. 彩子、遠藤 宏樹、稲森 正彦、阿部 泰伸、中島 淳 メタボリック シンドロームと aberrant crypt foci について 2007 AACR frontiers in cancer prevention research Philadelphia 2007 Dec.5-8

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Tanaka T., Miyamoto S., Yausi Y., Kohno H., <u>Sugie S.</u>	Obesity: a risk for hepatocellular carcinoma.	Tanaka, T.	Cancer: <i>Disease Progression and Chemoprevention</i> , Chapter 1. Disease Progression	Research Signpost	Kerala (India)	2007	57-74

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fukuda T, Kondo Y, and <u>Nakagama H.</u>	The anti-proliferative effects of the CHFR depend on the Forkhead associated domain, but not E3 ligase activity mediated by Ring Finger domain	PLoS ONE	3	e1776	2008
Fukuta K, Kohri K, Fukuda H, Watanabe M, Sugimura T and <u>Nakagama H.</u>	Induction of multinucleated cells and apoptosis in PC-3 prostate cancer cell line by low concentration of polyethylene glycol 1000	Cancer Sci	99	1055-1062	2008
Wang R, Dashwood WM, Lohr CV, Fischer KA, Pereira CB, Louderback M, <u>Nakagama H.</u> , Bailey GS, Williams DE, and Dashwood RH.	Protective versus promotional effects of white tea and caffeine on PhIP-induced tumorigenesis and β -catenin expression in the rat	Carcinogenesis	29	834-839	2008
Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, and <u>Nakagama H.</u>	Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of E2F pathway in human colon cancer cells	Proc Natl Acad Sci USA	104	15472-15477	2007