

ることができた。実験中の体重、摂餌量、全身状態変化においても遺伝子型による差を認めなかった。

これまでの報告と同様にMinマウス血清トリグリセリド値は加齢とともに上昇し、9-12週齢の雄においては 53 ± 23 から 143 ± 39 mg/dlへと上昇した。この12週齢Minマウスのアディポネクチンをヘテロ、ホモ欠損させると血清血清トリグリセリド値は、雄で 371 ± 114 と 282 ± 104 mg/dlになり、明らかな高脂血症を呈した。Minマウスの血清総コレステロール値は週齢にかかわらず、 $100-130$ mg/dlであった。12週齢の雄でアディポネクチンの野生型においては 108 mg/dl、アディポネクチンヘテロ、ホモ欠損Minマウスにおいては、各々、 110 と 130 mg/dlであった。

9、12週齢における雄Minマウスの腸ポリープ数は 40.4 ± 14.5 (SE) 及び 75.7 ± 13.5 個であった。雌においても加齢とともに腸ポリープ数は増加し、 52.0 ± 20.5 及び 76.9 ± 17.7 個であった。アディポネクチンヘテロ欠損Minマウスにおける腸ポリープ数は、9週齢の雄で 96.4 ± 12.3 個 ($p < 0.05$)とコントロールのMinマウスの約2倍に増加していた。また、雌においても 165.7 ± 25.6 個 ($p < 0.01$)とコントロールのMinマウスの約3倍に増加していた。12週齢マウスにおいても腸ポリープは増加しており、雄で 179.2 ± 10.8 個 ($p < 0.01$)とコントロールのMinマウスの約2倍に増加していた。また、雌においても 176.9 ± 22.0 ($p < 0.01$)個とコントロールのMinマウスの約2倍に増加していた。アディポネクチンホモ欠損Minマウスにおける腸ポリープ数は、9週齢雄で 128.0 ± 14.2 個 ($p < 0.01$)とコントロールのMinマウスの約3倍に増加していた。また、雌においても 176.0 ± 5.6 個 ($p < 0.01$)とコントロールのMinマウスの約2倍に増加していた。12週齢マウスにおいては、雄で 156.6 ± 15.3 個 ($p < 0.01$)とコントロールのMinマウスの約2倍に増加していた。また、雌においては 158.1 ± 9.7 個 ($p < 0.01$)とコントロールのMinマウスの約2倍に増加していた。

次に腸ポリープ数への影響のメカニズムを明らかにする目的で、近年、発がん促進に寄与すると考えられているアディポサイトカイン (Pai-1 値、レプチン値、レジスチン値、TNF-alpha 値、IL-6 値、MCP-1 値) に着目し、その発現変化を遺伝子型ごとに検討した。その結果、雄12週齢における血清Pai-1 値はそれぞれ、アディポネクチン(+/+)Minマウスで 5131 pg/ml (mean)、(+/-)で、 7451 pg/ml 及び (-/-)で、 10693 pg/ml ($p < 0.05$)であり、アディポネクチン量が減少するに伴い増加した。その他に

測定したアディポサイトカインに関しては、レプチン値に弱い減少傾向が見られたのみであり、大きな変化は認められなかった。

以上のことより、アディポネクチン遺伝子欠損はApc遺伝子欠損マウスの腸ポリープ生成に深く影響を与えることが明らかとなった。

D. 考察

わが国において食生活の欧米化による大腸がんの増加が指摘されている。また、動物発がん実験においても高脂肪食は大腸発がんを促進する。一方、食生活に起因する高脂血症、糖尿病、肥満等メタボリックシンドロームが大腸がんのリスクとなることが示唆されている。メタボリックシンドロームの原因と考えられる内臓脂肪、インスリン抵抗性や脂肪組織より放出されるアディポサイトカインが大腸発がんに寄与すると考えられているが、その詳細は良く解っていない。我々はこれまでに、2種類のApc遺伝子欠損マウス (Minマウス及びApc1309マウス) の血清脂質、特に血清トリグリセリド値が加齢に伴い急激に上昇することを見出し、アディポサイトカインの一つであるPai-1 (線溶系の阻害因子) も上昇していることを報告した。更に、Pai-1阻害剤の投与によって腸ポリープが減少することを示した。今回の検討により、アディポネクチン遺伝子を欠損させるとMinマウスにおける腸ポリープ生成が亢進することがわかり、Pai-1に加え、アディポネクチンも大腸発がんに寄与すると考えられた。これまでにAMPK活性化により大腸発がんが抑制されることが動物実験によって示されているが、本研究で得られた大腸発がん促進のメカニズムとしてAdipo-R1受容体を介したAMPK活性化がアディポネクチン遺伝子ノックアウトによって解除される機構が考えられる。また、アディポネクチン欠損Minマウスにおける血清Pai-1値の上昇のメカニズムとしてはAdipo-R2受容体を介するPPAR-alphaの活性化が遺伝子ノックアウトにより解除されたことが考えられる。これらの結果はアディポネクチンとともに、Pai-1も腸ポリープ生成に寄与していることを示唆している。今後、アディポサイトカイン、血清脂質と腸管腫瘍生成との相互関係を明らかにすることで、より詳細な大腸発がんの機序や大腸発がん予防方策に資するデータが得られるものと考えられる。

E. 結論

Apc 遺伝子欠損マウスにおいて血清脂質、Pai-1 が上昇するに伴い腸ポリープ生成が亢進する。このマウスのアディポネクチンを Genetic に減少させると腸ポリープ生成が増加した。このことより、アディポネクチンを誘導する薬剤を用いるがん予防方法とともに、肥満を改善することによりアディポネクチンの低下を予防するがん予防方法が重要であると考えられた。食の欧米化や運動の不足にもなって、大腸がん及びメタボリックシンドローム患者が増加している事を考えると、メタボリックシンドローム患者において見られる高脂血症や発現亢進しているアディポサイトカインと大腸発がんとの関連性について今後さらに詳細に機序を解明することにより、肥満、糖尿病、高脂血症と大腸発がんとの関連性について新たな知見が得られるものと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究論文

1. 論文発表

- 1) Mutoh, M., Niho, N., Komiya, M., Takahashi, M., Ohtsubo, R., Nakatogawa, K., Ueda, K., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Plasminogen activator inhibitor-1 (Pai-1) blockers suppress intestinal polyp formation in Min mice. *Carcinogenesis*, 29: 824-829 (2008).
- 2) Takahashi, M., Kitahashi, T., Ishigamori, R., Mutoh, M., Komiya, M., Sato, H., Kamanaka, Y., aka, M., Maruyama, T., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Increased expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis and prevention of cancer development by ONO-1714, an iNOS inhibitor. *Carcinogenesis*, 29: 1608-1613 (2008).
- 3) Hori, Y., Takasuka, N., Mutoh, M., Kitahashi, T., Kojima, S., Imaida, K., Suzuki, M., Kohara, K., Yamamoto, S., Moriyama, N., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Periodic analysis of

urethane-induced pulmonary tumors in living A/J mice by respiration-gated X-ray microcomputed tomography. *Cancer Sci.*, 99: 1774-1777 (2008).

- 4) Kuriki, K., Mutoh, M., Tajima, K., Wakabayashi, K., and Tatematsu, M. Relationships between intestinal polyp formation and fatty acid levels in plasma, erythrocytes, and intestinal polyps in Min mice. *Cancer Sci.*, 99: 2410-2416 (2008).
- 6) Kitahashi, T., Takahashi, M., Yamada, Y., Oghiso, Y., Yokohira, M., Imaida, K., Tsutsumi, M., Takasuka, N., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Occurrence of mutations in the epidermal growth factor receptor gene in X-ray-induced rat lung tumors. *Cancer Sci.*, 99(2): 241-245 (2008).
- 7) Takasuka, N., Takahashi, M., Hori, Y., Kitahashi, T., Iigo, M., Imai, T., Yoshimi, N., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Promotion of mouse two-stage skin carcinogenesis by diacylglycerol-rich edible oil. *Cancer Lett.*, 275(1): 150-157 (2009).

2. 学会発表

- 1) 北橋 宗、高橋真美、武藤倫弘、寺岡直哉、杉村 隆、若林敬二、上田健太郎、中戸川清。Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)の選択的阻害剤による BOP 誘発ハムスター膵管早期病変の抑制 第15回日本がん予防学会、博多(2008年5月)
- 2) 寺岡直哉、武藤倫弘、小宮雅美、大坪理奈、高橋真美、北橋 宗、杉村 隆、若林敬二。HMG-CoA 還元酵素阻害剤ピタバスタチンの Min マウス腸ポリープ生成に対する抑制作用 第15回日本がん予防学会、博多(2008年5月)
- 3) 武藤倫弘、小宮雅美、寺岡直哉、高橋真美、北橋 宗、杉村 隆、若林敬二。Min マウスの腸ポリープにおける LDL 受容体の発現と脂質の蓄積 第15回日本がん予防学会、博多(2008年5月)
- 4) 鈴木雅裕、山本修司、山地大樹、岩崎基、武藤倫弘、若林敬二、森山紀之。マルチスライスボリュームデータを用いた3次元体脂肪測定法の考案とそのソフトウェアの開発 日本放射線技術学会 第64回総会学術大会、パシフィコ横浜会議センター(2008年4月)

- 5) 高橋真美、石ヶ守里加子、庄司豊、北橋 宗、武藤倫弘、杉村 隆、若林敬二。Increased expression of osteopontin in azoxymethane-induced colon tumors in rodents 第 67 回日本癌学会総会、名古屋 (2008 年 10 月)
- 6) 野見山玲子、武藤倫弘、寺岡直哉、小宮雅美、高橋真美、北橋 宗、杉村 隆、若林敬二。Expression of low-density lipoprotein receptor and lipid accumulation in intestinal polyps in Min mice 第 67 回日本癌学会総会、名古屋 (2008 年 10 月)
- 7) 北橋 宗、高橋真美、武藤倫弘、寺岡直哉、杉村 隆、若林敬二。Effect of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) blocker on hamster pancreatic ductal lesions induced by BOP 第 67 回日本癌学会総会、名古屋 (2008 年 10 月)
- 8) 寺岡直哉、武藤倫弘、小宮雅美、野見山玲子、高橋真美、北橋 宗、杉村 隆、若林敬二。Role of Angptl-3, internal LPL inhibitor, in development of intestinal polyps in *Apc*-deficient mice 第 67 回日本癌学会総会、名古屋 (2008 年 10 月)

H. 知的所有権の取得状況

1) 特許取得

「腸ポリープ抑制剤」特願 2004-299217、PCT 出願中

「ウーロン茶葉抽出物 OTAC を有効成分とする発癌抑制剤」, 特願 2005-169262 出願中

2) 実用新案登録

なし

1) その他

なし

大腸発がん要因とその抑制物質の検索に関する研究

分担研究者 田中 卓二 金沢医科大学 教授

研究要旨 GSK-3 β 活性を抑制する valproic acid (VA)の大腸発がんへの影響をAOM/DSS誘発マウス大腸発がんモデルで検討した。VAは3用量（125、250、500 ppm）でDSS投与後に15週間混餌投与した。その結果、大腸腺癌発生頻度・発生個数は、VA投与により減少したが、有意差はみなかった。異型陰窩発生個数は、125 ppm及び500 ppm投与で有意に減少した。VAはAOM/DSSマウス大腸発癌に対し抑制的に作用するが、その効果は弱く、用量相関を含めた更なる検討が必要である。

A. 研究目的

癲癇、偏頭痛、双極性障害などの治療薬として使用される valproic acid (VA)は薬剤のうち唯一の histone deacetylase inhibitor であり、GSK-3 β 活性抑制、分化誘導作用、PPAR活性化、PKC活性抑制、AP-1阻害、leptin分泌抑制など多彩な機能を有する。Histone deacetylase inhibitorsはepigenetic remodulationやNotch1機能促進を志向したがん治療の試みが行われている。そこで、本研究では新たながん予防剤開発の基礎研究の一環として、VAの発がん予防（抑制）への応用の可能性を探るため、大腸発がんへの影響を検討した。

B. 研究方法

計86匹の雄性ICRマウスを使用し、AOM（10 mg/kg 体重）を単回腹腔内投与、その後2% DSSを1週間飲水投与して大腸腫瘍を誘発した。VAは、125 ppm、250 ppm、500 ppmの用量にてDSS投与後に15週間混餌投与した。実験群は、AOM/DSS群、AOM/DSS/125 ppm VA群、AOM/DSS/250 ppm VA群、AOM/DSS/500 ppm VA群、AOM群、2% DSS群、500 ppm VA群、無処置群の8群で構成した。実験は18週で終了し、病理組織学的解析を行った。

（倫理面への配慮）動物実験は、金沢医科大学動物実験指針に従い、実験動物委員会の承認に基づき実施し、動物愛護を充分考慮した。

C. 研究結果

大腸腺がん発生頻度（発生個数/大腸）は、AOM/DSS群：64%（2.21 \pm 2.36）、AOM/DSS/125 ppm VA群70%（1.40 \pm 1.51）、AOM/DSS/250 ppm VA群：60%（1.50 \pm 1.72）、AOM/DSS/500 ppm VA

群：45%（0.73 \pm 1.01）とVA投与により減少したが、群間に有意差はみられなかった。一方、大腸当たりの異型陰窩発生個数は、AOM/DSS群：2.21 \pm 1.58、AOM/DSS/125 ppm VA群：0.70 \pm 0.67（ $p<0.05$ ）、AOM/DSS/250 ppm VA群：1.10 \pm 1.29、AOM/DSS/500 ppm VA群：0.45 \pm 0.69（ $p<0.01$ ）と125 ppm及び500 ppm VA投与により有意に減少した。これらの大腸増殖性病変はAOM群、2% DSS群、500 ppm VA群、無処置群に発生をみなかった。粘膜潰瘍の発生個数（/大腸）はAOM/DSS群：1.57 \pm 1.74、AOM/DSS/125 ppm VA群：0.40 \pm 0.52、AOM/DSS/250 ppm VA群：0.30 \pm 0.48（ $p<0.05$ ）、AOM/DSS/500 ppm VA群：0.45 \pm 0.69（ $p<0.01$ ）と250 ppm VA投与により有意に減少した。

D. 考察

本研究結果から、VAはAOM/DSSマウス大腸発がんに対し抑制的に作用するが、その効果は弱かった。しかし、異型陰窩の発症には効果的であったため、用量相関を含めた更なる検討や他臓器での検証が必要と考えられる。

これまで炎症が関連するAOM/DSSマウス大腸発がんモデルを用いて、statin製剤、COX-1/2阻害剤、天然物（auraptene、zerumboneなど）の発がん抑制作用を報告してきた。これらは抗炎症を主要作用として炎症関連大腸発がんを抑制すると考えられたが、いずれも被験物質の発がん修飾効果（抑制あるいは促進）を明らかにするため、DSSの投与量を1%ないし1.5%と設定してきた。今回の実験結果から、AOM/DSS群の大腸腫瘍発生状況をみると、2% DSS投与量は若干高いことが懸念される。さらに、VPの用量を公比2で3用量としたが、公比5程度での3用量設定すればVPの発がん修飾作用の用量相関が明らかとなったかもしれない。今回の実験で、粘膜潰瘍の発生個数がVP投与により減少した結果を得て

いるため、VPの投与時期をAOM/DSS投与と同時にするという工夫も必要であろう。さらに、VPの大腸前がん性病変の抑制作用が観察されたため、他臓器(例えば前立腺)での発がん修飾効果を検討することも考慮する必要があろう。

最近、NF- κ B、AP-1、STAT3、Nfr2などを標的としたがん予防の試みがなされている。実際、発がん物質で誘発した大腸がんや肺腫瘍の腫瘍細胞や周囲の炎症細胞にこれらが高発現していることを確認しているため、今後、NF- κ B、AP-1、STAT3、Nfr2などの発現を阻害する化合物についての検討を考えている。

E. 結論

VAはAOM/DSSマウス大腸発がんに対し抑制的に作用するが、大腸がんの発症に対する効果は弱く、異型陰窩の発症には効果的であった。今後、用量相関を含めた更なる検討が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyamoto, S., Yasui, Y., Kim, M., Sugie, S., Murakami, A., Ishigamori-Suzuki, R., and Tanaka, T. A novel rasH2 mouse carcinogenesis model that is highly susceptible to 4-NQO-induced tongue and esophageal carcinogenesis is useful for preclinical chemoprevention studies. *Carcinogenesis*, 29: 418-426 (2008).
- 2) Shirakami, Y., Shimizu, M., Tsurumi, H., Hara, Y., Tanaka, T., and Moriwaki, H. EGCG and polyphenon E attenuate inflammation-related mouse colon carcinogenesis by AOM and DSS. *Mol. Med. Rep.* 1: 355-361 (2008).
- 3) Miyamoto, S., Yasui, Y., Tanaka, T., Ohigashi, H., and Murakami, A. Suppressive effects of nobiletin on hyperleptinemia and colitis-related colon carcinogenesis in male ICR mice. *Carcinogenesis* 29: 1057-1063 (2008).
- 4) Yasui, Y., Miyamoto, S., Kim, M., Kohno, H., Sugie, S., and Tanaka, T. Aqueous and ethaolic extract fractions from the Brazilian propolis suppress azoxymethane-induced aberrant crypt foci in rats. *Oncol. Rep.*, 20: 493-499 (2008).
- 5) Kim, M., Miyamoto, S., Sugie, S., Yasui, Y., Ishigamori-Suzuki, R., Murakami, A., Nakagama, H., and Tanaka, T. A tobacco-specific carcinogen, NNK, enhances AOM/DSS-induced colon carcinogenesis in male A/J mice. *In Vivo*, 22: 557-564 (2008).
- 6) Shimizu, M., Shirakami, Y., Sakai, H., Adachi, S., Hata, K., Hirose, Y., Tsurumi, H., Tanaka, T., and Moriwaki, H. (-)-Epigallocatechin gallate suppresses azoxymethane-induced colonic premalignant lesions in male C57BL/KsJ-db/db mice. *Cancer Prev. Res.*, 1: 298-304 (2008).
- 7) Miyamoto, S., Epifano, F., Curini, M., Genovese, S., Kim, M., Ishigamori-Suzuki, R., Yasui, Y., Sugie, S., and Tanaka, T. A novel prodrug of 4'-geranyloxy-ferulic acid suppresses colitis-related colon carcinogenesis in mice. *Nutr. Cancer* 60: 675-684 (2008).
- 8) Kim, M., Miyamoto, S., Yasui, Y., Oyama, T., Murakami, A., and Tanaka, T. Zerumbone, a tropical ginger sesquiterpene, inhibits colon and lung carcinogenesis in mice. 2008, *Int. J. Cancer*, 124: 264-271 (2008).
- 9) Yasui, Y., Kim, M., and Takuji Tanaka, T. PPAR ligands for cancer chemoprevention. *PPAR Res.*, 548919 (2008).
- 10) Tanaka, T., Yasui, Y., Ishigamori-Suzuki, R., and Oyama, T. Citrus compounds inhibit inflammation- and obesity-related colon carcinogenesis in mice. *Nutr. Cancer*, 60 (Suppl. 1): 70-80 (2008).

2. 学会発表

- 1) 金 美慧、杉江茂幸、宮本真吾、安井由美子、甲野裕之、鈴木里加子、中釜 斉、田中卓二. AOM/DSS誘発大腸発がんに対するNNKの影響. 第24回日本毒性病理学会、名古屋(2008年2月).
- 2) 甲野裕之、宮本真吾、安井由美子、金 美慧、杉江茂幸、村上 明、大東 肇、田中卓二. Lauric acidによるAOM誘発ACFへの影響. 第24回日本毒性病理学会、名古屋(2008年2月).
- 3) 安井由美子、宮本真吾、金 美慧、甲野裕之、杉江茂幸、村上 明、大東 肇、田中卓二: Chrysinによるazoxymethane誘発aberrant crypt fociの抑制作用. 第24回日本毒性病理学会、名古屋(2008年2月).
- 4) 杉江茂幸、安井由美子、金 美慧、甲野裕之、田中卓二. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)誘発ラット乳腺発癌における基礎食、高脂肪食の影響. 第24回日本毒性病理学会、名古屋(2008年2月).
- 5) Shimizu, M., Shirakami, Y., Hata, K., Hirose, Y., Tanaka, T., and Moriwaki, H. EGCG suppresses obesity-related colonic preneoplastic lesions in C57BUKsJ-dbl/db mice. 2008 AACR Annual Meeting, San Diego, CA (2008年4月).
- 6) Shirakami, Y., Shimizu, M., Sakai, H., Tatebe, H., Hara, Y., Tanaka, T., and Moriwaki, H. EGCG suppresses tumor growth by inhibiting activation of the VEGF/VEGFR axis in the xenograft model of human colon cancer and hepatoma. 2008 AACR Annual Meeting, San Diego, CA (2008年4月).
- 7) 杉江茂幸、田中卓二: シンポジウム4(S-4)発

- がん研究の基軸を求めて-遺伝子改変動物を用いた研究-, rasH2 を用いた発がんの検討。第 97 回日本病理学会総会、金沢、(2008 年 5 月)。
- 8) Mihe Kim, 安井由美子, 杉江茂幸, 田中卓二. A novel prodrug of ferulic acid suppresses AOM/DSS-induced mouse colon carcinogenesis. 第 97 回日本病理学会総会、金沢、(2008 年 5 月)
 - 9) 安井由美子, 金 美慧, 杉江茂幸, 田中卓二. Pitavastatin inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. 第 97 回日本病理学会総会、金沢、(2008 年 5 月)
 - 10) 金 美慧, 安井由美子, 杉江茂幸, 田中卓二, 甲野裕之, 宮本真吾. Pitavastatin による 4-NQO 誘発 rasH2 マウス舌・食道発がん抑制。がん予防大会 2008 福岡 (第 15 回日本がん予防学会、第 9 回日本がん分子疫学研究会、第 31 回がん疫学研究会)、福岡、(2008 年 5 月)
 - 11) 田中卓二. 合同シンポジウム (2) 食物・栄養とがん予防-天然化合物を用いた炎症関連、肥満関連大腸発がん抑制の試み。がん予防大会 2008 福岡 (第 15 回日本がん予防学会、第 9 回日本がん分子疫学研究会、第 31 回がん疫学研究会)、福岡、(2008 年 5 月)
 - 12) 安井由美子, 金 美慧, 杉江茂幸, 田中卓二, 細川雅史, 宮下和夫. 炎症関連大腸発がんに対する 9c,11t,13c-CLN 含有ザクロ種子油の抑制効果。がん予防大会 2008 福岡 (第 15 回日本がん予防学会、第 9 回日本がん分子疫学研究会、第 31 回がん疫学研究会)、福岡(2008 年 5 月)
 - 13) 杉江茂幸, 金 美慧, 安井由美子, 尾山 武, 田中卓二, 嶋田昇二, 増田佳史. パン酵母の AOM 誘発ラット大腸発がんにおける修飾効果。がん予防大会 2008 福岡 (第 15 回日本がん予防学会、第 9 回日本がん分子疫学研究会、第 31 回がん疫学研究会)、福岡、(2008 年 5 月)
 - 14) 宮本真吾, 村上 明, 田中卓二. 脂肪細胞のレプチン分泌に対するノピレチンの抑制メカニズム。がん予防大会 2008 福岡 (第 15 回日本がん予防学会、第 9 回日本がん分子疫学研究会、第 31 回がん疫学研究会)、福岡、(2008 年 5 月)
 - 15) Oyama, T., Yamada, Y., Hirata, A., Yasui, Y., Kim, M., Kohno, H., Hara, A., Sugie, S., Tanaka, T., and Mori, H. The epigenetic transcriptional repression of Wnt antagonist genes in the development of colon tumors of *Apc*^{Min/+} mouse. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 16) Katsurano, M., Niwa, T., Yamashita, S., Tanaka, T., and Ushijima, T. Identification of five CpG islands methylated in mouse colonic epithelia that underwent ulcerative colitis. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 17) Toyoda, T., Tsukamoto, T., Takasu, S., Tanaka, T., and Tatematsu, M. Effect of HMG-CoA reductase inhibitor (pitavastatin) on gastric cancer in *Helicobacter pylori*-induced Mongolian gerbils. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 18) Kim, M., Yasui, Y., Ishigami-Suzuki, R., Miyamoto, S., Sugie, S., and Tanaka, T. A novel prodrug of 4'-geranyloxy-ferulic acid suppresses colitis-related colon carcinogenesis in mice. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 19) Yamaguchi, K., Kohno, H., Wakabayashi, K., and Tanaka, T. Suppression of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by a cyclooxygenase-1 selective inhibitor. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 20) Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., Kim, M., Sugie, S., and Tanaka, T. Pomegranate seed oil containing 9c,11t,13c-CLN inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 21) Tanaka, T., Miyamoto, S., Yasui, Y., Oyama, T., Kim, M., Akira Murakami, and Sugie, S. Dietary zerumbone inhibits colon and lung carcinogenesis in mice. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 22) Sugie, S., Yasui, Y., Kim, M., Oyama, T., Kohno, H., Masuda, Y., Shimada, S., and Tanaka, T. Chemopreventive effects of zinc on AOM-induced colon carcinogenesis in rats. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年 10 月)
 - 23) Shirakami, Y., Shimizu, M., Adachi, S., Tanaka, T., and Moriwaki, H. EGCG suppresses tumor growth by inhibiting the VEGF/VEGFR axis in the xenograft model of human colon cancer and hepatoma. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), (2008 年 10 月)
 - 24) Shimasaki, T., Ishigaki, Y., Nakaya, N., Nakajima, H., Tomosugi, N., Tanaka, T., Mai, W., Kawakami, K., Minamoto, T., and Motoo, Y. Combined effect of gemcitabine and GSK3b inhibitor against pancreatic cancer: Basic analysis for future clinical trial. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (第 67 回日本癌学会学術総会), Nagoya, (2008 年

10月).

- 25) 宮本真吾、安井由美子、村上 明、大東 肇、田中卓二. 遺伝性肥満 db/db マウスにおける大腸前がん病変の生成に対する quercetin の抑制作用. 第 13 回日本フードファクター学会学術集会、東京、(2008 年 11 月)
- 26) 安井由美子、尾山 武、杉江茂幸、田中卓二、細川雅史、宮下和夫. 9c, 11t, 13c-CLN 含有ザクロ種子油による炎症関連マウス大腸発がんの化学予防. 第 13 回日本フードファクター学会学術集会、東京、(2008 年 11 月)
- 27) Yasui, Y., Miyamoto, S., Kim, M., Oyama, T., Sugie, S., Murakami, A., and Tanaka, T. Zerumbone, a tropical ginger sesquiterpene, inhibits colon and lung carcinogenesis in mice. 4th International Niigata Symposium on Diet and Health - "Integrative Functions of Diet in

Anti-aging and Cancer Prevention", Niigata, (2008 年 11 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

アンギオテンシン受容体ブロッカーによるラット前立腺発がん抑制作用に関する研究

分担研究者 高橋 智 名古屋市立大学大学院医学研究科共同研究教育センター 准教授

研究要旨 アンギオテンシン受容体ブロッカー(ARB)であるカンデサルタンおよびテルミサルタンの前立腺発がんに対する化学予防効果を前立腺発がんモデル動物である Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP)を用いて検討した。3週齢のTRAPラットにカンデサルタン(2, 10 mg/kg/day)あるいはテルミサルタン(10mg/kg/day)を12週間飲料水投与した後、全動物を屠殺剖検した。前立腺癌の発生頻度は側葉では高濃度カンデサルタンおよびテルミサルタン投与群で有意な抑制を認めた。腹葉では群間で差はみられなかったが、前癌病変から腺癌への進展過程を抑制することが明らかとなった。以上の結果からARBは前立腺癌に対する化学予防剤として有望であることが明らかとなった。

A. 研究目的

高血圧症を合併した前立腺再燃癌患者に対して降圧剤であるアンギオテンシン受容体ブロッカー(ARB)を投与すると血中PSAの低下および骨転移による骨痛が改善したという報告が臨床的になされている。そこで我々は当教室で作出した前立腺発がんモデル動物である Transgenic Rat with Adenocarcinoma of Prostate (TRAP)モデルを用いてARBであるテルミサルタンの前立腺癌の発生・増殖に対する影響を検討した結果、前癌病変から腺癌への進展過程を抑制することを昨年度の研究で明らかにした。テルミサルタンはアンギオテンシン受容体(AT1)阻害作用を有するとともにPPAR γ アゴニスト作用も持ち合わせていることが知られており、ラット前立腺癌に対す

る抑制効果がどちらの作用に起因したものか確認する必要性が生じた。そこで今年度はテルミサルタンと異なってPPAR γ アゴニスト作用を持たないARBであるカンデサルタンのTRAPラット前立腺発がんに対する抑制効果を検討した。

B. 研究方法

離乳直後の3週齢TRAP雄ラット48匹を4群に分け、2,3群にはカンデサルタン(2, 10 mg/kg/day)、4群にはテルミサルタン(10mg/kg/day)を飲料水投与し、1群はARBを投与しない対照群とした。実験期間12週間で全動物を屠殺剖検し、前立腺を中心に病理組織学的検索を行った。飼育期間中、体重測定および被検物質の摂取量測定を週1回、血圧

測定を第 4,7,11 週に実施した。病理組織学的検索として、H&E 染色による腫瘍発生頻度および前癌病変・腺癌の占有率を解析した。ARB による細胞増殖抑制効果の機序を解明する目的で、組織標本を用いた Ki-67 labeling index、apoptotic index を計測したほか、腹葉前立腺組織を用いてアポトーシス関連因子および細胞増殖関連因子についてウエスタン解析を行った。また被検物質による性ホルモンに対する影響を確認するため、血清中テストステロンおよびエストラジオール(E2)濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

テルミサルタン投与群(4 群)では対照群(1 群)に比較して有意な体重増加抑制がみられたのに対し、カンデサルタン投与群(2,3 群)では体重抑制はみられたものの有意差は認められなかった。肝、腎および腹葉前立腺の絶対重量、血清中のテストステロン、エストラジオール値は各群間で差はみられなかった。血圧は ARB 投与群(2-4 群)で投与量に依存した有意な低下がみられた。前立腺癌は腹葉および側葉に認められ、その発生頻度は腹葉では群間で有意差はみられなかったが、側葉では高濃度カンデサルタン(3 群)およびテルミサルタン投与群(4 群)で有意な低下が観察された。腹葉前立腺内の各腺房を Low grade PIN、High grade PIN および腺癌に分類し、それぞれの病変の占有率を定量化した結果、3,4 群では腺癌、High grade PIN が減少する一方、Low grade PIN が増加し、前立腺病変のプロGRESSIONに

対する抑制効果が明らかとなった。腹葉における Ki-67 labeling index は群間で差はみられなかったのに対し、apoptotic index は 3,4 群で有意な増加が観察された。腹葉前立腺組織を用いてウエスタン解析した結果、活性化カスパーゼ 3 および 7 の発現増加、リン酸化 p38 MAPK の低発現が 3,4 群で観察された。ヒト前立腺がん細胞株である LNCaP に対して 10 μ M テルミサルタンあるいはカンデサルタンを 24 時間曝露するとアンドロゲンレセプター(AR)タンパク発現が低下し、それと同時に PSA タンパクの低下も観察された。定量的 RT-PCR では AR mRNA 発現は変化がみられなかったため ARB による AR タンパク発現低下は翻訳後レベルでの影響が考えられたことから MG132 によってプロテアソームを阻害したところテルミサルタンあるいはカンデサルタンによる AR タンパク発現抑制効果は消失した。TRAP ラット腹葉前立腺においても ARB による AR mRNA 発現低下はみられなかったが AR タンパク発現の低下は LNCaP 細胞と同様に観察された。

D. 考察

PPAR γ アゴニスト作用を持たないカンデサルタンによってもテルミサルタンと同様に TRAP ラット前立腺発がんを抑制することから、この抑制効果に PPAR γ の関与は低く、アンジオテンシン受容体阻害を介した作用であることが示唆された。カンデサルタン投与群で体重減少などの毒性変化は見られなかったのに対しテルミサルタン投与群では体重減少が観察されたが、この現象は昨年度の実験でも認められており、ARB 全般の毒性変化ではなくテルミサルタンが有する PPAR γ アゴニス

ト作用によるものであると考えられた。今回の TRAP ラット前立腺発がんの抑制メカニズムは p38 MAPK シグナル伝達経路を抑制することによるカスパーゼ 3,7 活性化を介したアポトーシスの亢進が考えられ、ユビキチン・プロテアソーム系の活性化による AR タンパク発現低下も発がん抑制に関与しているものと考えられた。LNCaP 細胞では ARB によって AR タンパク発現低下と同時に PSA 発現も低下するが、これは前立腺進行がん患者に ARB を投与することにより PSA 値が低下することと合致した所見であり、ヒト前立腺がん組織中においても今回の実験で観察された増殖抑制メカニズムが深く関与している可能性が示唆された。

E. 結論

アンジオテンシン受容体ブロッカーであるカンデサルタンおよびテルミサルタンの TRAP ラット前立腺発がんに対する影響を検討した結果、側葉では前立腺癌発生頻度が抑制され、腹葉では前癌病変から腺癌への進展が抑制されることを明らかにした。その発がん抑制の主たる作用機序はアポトーシスの亢進によるものであると考えられ、このアポトーシスの惹起は p38 MAPK 活性化を抑制することによるカスパーゼ 3,7 活性化を介したものと推察された。また、AR タンパク発現低下も発がん抑制に関与している可能性が示唆された。今回使用したカンデサルタン、テルミサルタンの投与量は臨床的に使用されている 2, 10 倍量に相当するにもかかわらず明らかな毒性変化を認めなかったことから、ARB はヒト前立腺癌に対する化学予防剤として極めて有望であると思われる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Uemura, H., Ishiguro, H., Ishiguro, Y., Hoshino, K., **Takahashi, S.**, and Kubota, Y.: Angiotensin II induces oxidative stress in prostate cancer. *Mol. Cancer Res.*, 6:250-258, 2008.

Seeni, A., **Takahashi, S.**, Takeshita, K., Tang, M., Sato, S., and Shirai, T.: Suppression of prostate cancer growth by resveratrol in the Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) model. *Asian Pac J. Cancer Prev.*, 9:7-14, 2008.

Yamashita, S., **Takahashi, S.**, McDonnell, N., Watanabe, N., Niwa, T., Hosoya, K., Tsujino, Y., Shirai, T., and Ushijima, T.: Silencing of Tgfb2 in rat prostate cancers due to dense methylation of its promoter CpG island. *Cancer Res.*, 68:2112-2121, 2008.

Takahashi, S., Takeshita, K., Seeni, A., Sugiura, S., Tang, M., Sato, S., Kuriyama, H., Nakadate, M., Abe, K., Maeno, Y., Nagao, M., and Shirai, T.: Suppression of prostate cancer in a transgenic rat model via gamma-tocopherol activation of caspase signaling. *Prostate*, (in press).

2. 学会発表

高橋智、白井智之、動物モデルを用いた前立腺癌発生・進展に関連する諸要因の解析：ヒト前立腺癌組織への応用（ワークショップ）、第 97 回日本病理学会総会、金沢（2008 年 5

月)。

高橋智、白井智之、ラット前立腺癌モデルを用いた化学予防物質の検討 (合同シンポジウム)、がん予防大会 2008、福岡 (2008 年 5 月)。

高橋智、シーニアズマン、佐藤慎哉、小宮雅美、唐明希、白井智之、アンギオテンシン受容体阻害剤によるラット前立腺癌発生抑制 (腫瘍別シンポジウム)、第 67 回日本癌学会学術総会、名古屋 (2008 年 10 月)。

Takahashi, S., Seeni, A., Komiya, M., Sato, S., Shirai, T. Suppression effect of prostate carcinogenesis by angiotensin II receptor blocker in Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) model. American Association for Cancer Research Special Conference in Cancer Research. "Advances in Prostate Cancer Research". San Diego, USA, January, 2009.

高橋智、佐藤慎哉、小宮雅美、小川久美子、白井智之、TRAP ラットの前立腺癌の去勢による退縮とテストステロン再負荷による腫瘍発生、第 25 回日本毒性病理学会、浜松 (2009 年 1 月)。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

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

前立腺癌に対するアンジオテンシン II 受容体ブロッカーの
化学予防効果：臨床解析を中心に

分担研究者 上村博司 横浜市立大学附属病院泌尿器科 准教授

研究要旨

前立腺癌に対して、アンジオテンシン II レセプターブロッカーが
癌発生を予防するかどうか、臨床的に検討する。

A. 研究目的

我々は、アンジオテンシン II レセプターブロッカー (ARB) が、前立腺癌細胞の増殖や血管新生を抑えることを証明してきた。ARB が前立腺癌の発生や進展を抑制するのではないかという仮説に基づき、再燃前立腺癌患者に ARB を投与して、PSA 変動などを観察した。

B. 研究方法

ホルモン療法抵抗性の前立腺癌患者にプロブレス 8-12mg/日を投与し、PSA を測定した。前立腺組織から RNA を抽出し、real-time PCR で AT1 レセプター・ACE・アンジオテンシノーゲンの発現を定量した。前立腺癌細胞にアンジオテンシン II や抗アンドロゲン剤などで刺激し、AT1 レセプターのタンパク発現を調べた。

(倫理面への配慮)

症例は全て高血圧を合併しており、この臨床試験は附属病院 IRB にて認可を受けている。

C. 研究結果

ARB としてカンデサルタン 8-12mg を投与し、PSA や全身状態 (PS) の変化を調べた。23 例中 8 例 (34.8%) に PSA の減少が見られ、とくに 6 例は 50% 以上の PSA 低下があった。また、半数に PS の改善が認められた。正常前立腺、未治療前立腺癌および再燃癌組織における AT1 レセプター、ACE、アンジオテンシノーゲンの mRNA 発現はどれも再燃癌組織で有意差をもって高いことを認めた。前立腺癌細胞をエストロゲン、デキサメタゾン、抗アンドロゲン剤などで刺激すると、AT1 レセプターの発現は亢進していた。

D. 考察

ARB は前立腺でのアンドロゲンレセプター (AR) 発現を抑制することが分かった。再燃前

立腺癌はアンドロゲン非依存性であるが、AR は依然と発現しており、さらに増幅している場合もある。再燃癌では AT1 レセプターを強く発現していることから、ARB がより一層反応しやすい環境にあり、その結果として AR 発現を抑えることが考えられる。

E. 結論

ARB の薬理作用に、臓器保護、抗炎症と血管新生抑制がある。前立腺癌に対して ARB が持つ抗炎症と血管新生抑制の両作用のほかに AR 発現を抑制する作用で、抗腫瘍効果を来していると思われ。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) H Uemura, H Ishiguro, Y Ishiguro, K Hoshino and Y Kubota. Angiotensin II Plays a Potential Role in Prostatic Carcinogenesis by Inducing Oxidative Stress. Mol Cancer Res. 6:250-258 (2008).

2. 学会発表

(1) 上村博司、前立腺癌に対するアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の臨床応用、前立腺癌 基礎から臨床へ 新たな治療法の探索 シンポジウム、第 67 回日本癌学会 学術総会、名古屋 (2008 年 10 月)

(2) Hiroji Uemura, Chemopreventive activity with angiotensin II receptor blocker for prostate cancer. UICC 08, world congress, Geneva, (2008 年 8 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他 なし

胃発がん抑制物質の検索

分担研究者 塚本徹哉 愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部 室長

研究要旨

Nuclear factor κ B (NF- κ B)あるいは cyclooxygenase-2 (COX-2)は、炎症や発がんに中心的な役割を果たしており、その阻害剤によるがんの抑制が試みられている。今回、*N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU)誘発 *Helicobacter pylori* 感染スナネズミ腺胃発がん系を用いて、Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) と aspirin の胃発がん抑制効果を検討した。胃がん発生率は、対照群が 53.7% (29/54)に対して、0.1% CAPE 群、400 ppm aspirin 群では、それぞれ、26.9% (7/26)、22.6% (7/31)と有意な低下（それぞれ、 $P < 0.05$, $P < 0.01$ ）が観察されたが、0.05% CAPE+200 ppm aspirin 群[37.5% (12/32)]では減少傾向にあったが統計学的に有意では無かった。0.1% CAPE 群では、抗 *H. pylori* 抗体価の低下及び組織学的に好中球及び単核球浸潤の軽快が見られ、胃粘膜の UreA、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、COX-2 mRNA 発現の低下が認められた。400 ppm aspirin 群においても好中球浸潤が低下し、COX-2 に対する転写抑制作用も確認された。NF- κ B あるいは COX 経路を標的とした胃発がん予防が効果的である可能性が示された。

A. 研究目的

1983年の Warren and Marshalによる報告以来、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)感染は、慢性胃炎、腸上皮化生、胃がんあるいは胃悪性リンパ腫 (MALT lymphoma) の発生に大きく関わっていることが明らかにされてきた。1994年には、World Health Organization (WHO) / International Agency for Research on Cancer (IARC)によって、動物モデルによる確認が必要としながらも、*H. pylori*は胃がんの“definite carcinogen”と報告され注目された。2000年には、*H. pylori*除菌療法が保険適応となり、治療に大きく貢献した。また、除菌は二次性がんの予防にも効果的との報告がなされた。しかし、近年では、抗生物質耐性の出現や副作用等が臨床上大きな問題となってきている。また、萎縮の進行例ほど発がんのリスクが高く、その対応も重要であるが、進行した萎縮性胃炎には、除菌は効果的な胃がん予防法とはならない事も示されてきている。この様に、胃発がんを予防し得る安価かつ安全な化学物質の開発が急務である。

Nuclear factor kappa B (NF- κ B)は、炎症性サイトカインや細胞増殖因子の発現に中心的な役割を果たしているが、近年、がん治療の標的として注目されている。プロポリスの活性

成分であるCaffeic acid phenethyl ester (CAPE)は、NF- κ Bの選択的阻害剤であり、抗炎症作用や抗がん効果が報告されている。また、aspirinは、cyclooxygenase阻害作用を持つ抗炎症剤で、古くから用いられており、その安全性から長期投与による発がん予防が注目されている。今回、*N*-methyl-*N*-nitroso-urea (MNU)誘発 *H. pylori*感染スナネズミ腺胃発がん系を用いて、CAPEとaspirinの単独及び複合投与の胃発がん抑制効果を検討した。

B. 研究方法

6週齢♂スナネズミ (Seac Yoshitomi) を5群 (A、B、C、D、E群) に分け、A、B、C、D群に *H. pylori* (ATCC43504株) 約 1×10^8 cfu を強制胃内投与し、2週間後から 10 ppm MNU を20週間飲水投与した。E群にはbrothのみ投与した。第2週より、0.1% CAPE (A群)、400 ppm aspirin (B群)、0.05% CAPE + 200 ppm aspirin (1/2 combination 群、C群) を混餌投与、D群は基礎食 (CE-2、クレア) のみ投与し対照群とした。実験52週で屠殺し、腺胃における炎症細胞浸潤の程度の検討、発がん率、血清総コレステロール (T-choI)、トリグリセリド (TG)、及び遊離脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 値の検討を行った。また、胃粘膜を採取し、

ピロリ菌感染の指標として Urease A (Urea)、炎症の指標として、interleukin-1 β (IL-1 β)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、inducible nitric oxide synthase (iNOS)、cyclooxygenase-2 (COX-2)の mRNA の発現量を相対的定量的に検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、動物の適正な実施に向けたガイドライン (日本学術会議、2006年) 及び愛知県がんセンター動物実験施設の実験動物取り扱い規定を遵守し、愛知県がんセンター動物委員会の承認のもと遂行した。

C. 研究結果

- 1) 胃がん発生率: 各群の胃がん発生率は、コントロール群 (D群) が 53.7% (29/54) に対して、0.1% CAPE 群 (A群)、400 ppm aspirin 群 (B群) では、それぞれ、26.9% (7/26)、22.6% (7/31) と有意な低下 (それぞれ、 $P<0.05$, $P<0.01$) が観察された。0.05% CAPE+200 ppm aspirin 群 (C群) では、統計学的に有意な結果ではなかったが、37.5% (12/32) と低下傾向が見られた。MNU 非投与の E 群には腫瘍の発生は見られなかった。
- 2) 抗 *H. pylori* 抗体価: *H. pylori* を感染させた A、B、C、D 群の抗体価は、それぞれ、 230.0 ± 31.3 、 301.7 ± 57.6 、 322.5 ± 63.9 、 352.4 ± 41.6 (Arbitrary Index, AI、平均 \pm SE) と A 群では、D 群に比較して有意な低下 ($P<0.05$) が見られた。非感染群の E 群では、 1.9 ± 0.7 であった。
- 3) 血清脂質の変化: 未処置群 (E 群) の血清 T-chol 162.0 ± 19.5 mg/dl (平均 \pm SE) に対して、A~D 群では 157.8 ± 8.7 、 170.6 ± 14.1 、 125.3 ± 5.4 、 136.6 ± 7.9 と B 群の方が D 群より有意 ($P<0.05$) に高値であった。TG は、A~E 群それぞれ、 1120 ± 153 、 989 ± 130 、 680 ± 105 、 632 ± 69 、 1172 ± 310 (mg/dl) と A ($P<0.01$)、B ($P<0.05$) 群が D 群より高値であった。FFA は、それぞれ、 1316 ± 81 、 1501 ± 103 、 1903 ± 160 、 1280 ± 85 、 1449 ± 245 (μ EQ/L) と C 群が D 群より高値であった ($P<0.01$)。
- 4) 組織学的炎症所見: 組織学的に、好中球、単核球、粘膜過形成及び異所性増殖性腺管の増生の所見を幽門部、胃体部に分けて、スコア 0~3 にスコアリングし、Mann-

Whitney *U* test にて統計学的に検討した。幽門部の好中球浸潤の程度は、A、B、C、D、E 群それぞれ、 1.5 ± 0.9 、 2.0 ± 0.7 、 2.1 ± 0.8 、 2.4 ± 0.6 、 0.0 ± 0.0 と、D 群に比較して A ($P<0.01$)、B ($P<0.01$) 群で、有意にそのスコアが低下した。単核球浸潤の程度は、それぞれ、 1.6 ± 0.7 、 2.3 ± 0.7 、 2.4 ± 0.6 、 2.4 ± 0.6 、 0.3 ± 0.5 と、D 群に比較して A 群で有意に減少した ($P<0.01$)。粘膜過形成及び異所性増殖性腺管 (Heterotopic proliferating glands, HPG) の出現に関しては、それぞれの群で、 1.8 ± 0.9 、 1.9 ± 0.7 、 2.3 ± 0.8 、 2.2 ± 0.8 、 0.0 ± 0.0 と、D 群に比して A ($P<0.01$)、B ($P<0.01$) 群で過形成が抑制された。胃底腺でもほぼ同様な結果で、好中球浸潤の程度は、A~E 群それぞれ、 1.7 ± 1.1 、 2.1 ± 0.7 、 2.3 ± 0.7 、 2.5 ± 0.6 、 0.0 ± 0.0 と、D 群に比して A ($P<0.01$)、B ($P<0.05$) 群で、有意にそのスコアが低下した。単核球浸潤の程度は、それぞれ、 1.7 ± 0.7 、 2.1 ± 0.7 、 2.4 ± 0.6 、 2.4 ± 0.6 、 0.0 ± 0.0 と、D 群に比較して A ($P<0.01$)、B ($P<0.05$) 群で有意に減少した。HPG に関しては、 1.8 ± 0.9 、 2.0 ± 0.8 、 2.3 ± 0.7 、 2.1 ± 0.7 、 0.0 ± 0.0 と、D 群に比して A 群で過形成が抑制された ($P<0.05$)。

- 5) 胃粘膜における *H. pylori* 由来 UreA 遺伝子及び炎症性サイトカイン遺伝子の発現変化: 幽門腺における UreA、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、COX-2 の mRNA の発現量を GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) を内部標準として相対的定量的 RT-PCR 法により解析し、E 群を 1 とした時の相対値 (平均 \pm SE) で示した。その結果、A~E 群の UreA の値は、 15.9 ± 12.2 、 79.4 ± 48.3 、 41.0 ± 14.0 、 120 ± 49.3 、 1.0 ± 0.9 で D 群に比較して A 群で有意に減少した ($P<0.05$)。IL-1 β は、それぞれ、 6.1 ± 1.3 、 10.0 ± 1.9 、 12.5 ± 2.3 、 11.2 ± 2.2 、 1.0 ± 0.3 で D 群に比較して A 群で有意に低下した ($P<0.05$)。TNF- α は、それぞれ、 6.0 ± 1.7 、 7.7 ± 0.9 、 9.8 ± 1.3 、 7.4 ± 1.1 、 1.0 ± 0.3 と各群に有意な差は見られなかった。iNOS は、それぞれ、 171.0 ± 54.8 、 288.6 ± 44.6 、 295.5 ± 47.6 、 343.1 ± 53.8 、 1.0 ± 0.2 と D 群に比較して A 群で有意に減少した ($P<0.01$)。COX-2 は、それぞれ、 3.3 ± 1.5 、 1.6 ± 0.5 、 4.4 ± 1.1 、 5.6 ± 1.7 、 1.0 ± 0.7 で D 群に比較して A、B 群で有意に低下した (いずれも $P<0.05$)。胃底腺組織においてもほぼ同様の

結果を示した。A~E群のUreAの値は、 $4.6 \times 10^4 \pm 2.3 \times 10^4$ 、 $12.5 \times 10^4 \pm 6.1 \times 10^4$ 、 $10.5 \times 10^4 \pm 3.7 \times 10^4$ 、 $17.1 \times 10^4 \pm 5.1 \times 10^4$ 、 1.0 ± 0.1 で幽門腺に比べて全体に高値であったが、D群に比較してA群で有意に減少した($P < 0.05$)。IL-1 β は、それぞれ、 117.8 ± 24.5 、 179.2 ± 29.0 、 192.8 ± 31.2 、 164.7 ± 17.3 、 1.0 ± 0.2 でD群に比較してA群で有意に低下した($P < 0.05$)。TNF- α は、それぞれ、 42.0 ± 8.3 、 57.9 ± 9.9 、 62.0 ± 7.8 、 60.8 ± 5.1 、 1.0 ± 0.1 とD群に比較してA群で有意に低下した($P < 0.05$)。iNOSは、それぞれ、 215.1 ± 48.2 、 312.9 ± 60.8 、 398.9 ± 59.3 、 392.4 ± 44.4 、 1.0 ± 0.1 とD群に比較してA群で有意に減少した($P < 0.01$)。COX-2は、それぞれ、 2.8 ± 0.5 、 5.0 ± 1.4 、 7.7 ± 1.8 、 5.1 ± 1.2 、 1.0 ± 0.3 とその差は統計学的に有意ではなかった。

D. 考察

胃がんの予防には、プロトンポンプ阻害剤と抗生物質(amoxicillinとclarithromycin)による除菌が非常に効果的であることが明らかになってきている。しかし、耐性菌出現の問題や、除菌治療による副作用の問題等、多くの課題が残されている。また、ある程度進行した萎縮性胃炎では、除菌による胃がん発生の抑制効果が薄いことも明らかになってきている。

我々は、ヒト胃がん細胞株AGS培養液中に*H. pylori*を添加するとNF- κ Bシグナル経路の活性化が起こり、NF- κ Bの選択的阻害剤であるCAPEはそれを抑制する事を見いだした。また、スナネズミを用いた短期動物実験で、CAPEは、*H. pylori*誘発胃炎を有意に抑制する事も示している。そこで、今回、我々は、*H. pylori*感染MNU誘発スナネズミ腺胃発がんモデルを用いて、*in vivo*でCAPEの胃発がん抑制効果を検討した。

その結果、対照群(D群)に比して、0.1%CAPEを混餌投与した群(A群)で有意に腺胃発がん率の低下が見られた。また、400 ppm aspirin投与群(B群)においても、同様に有意に減少した。単一薬剤を高濃度長期間投与する事による副作用の軽減を目指して、CAPEとaspirinの半量ずつ(0.05%CAPE+200 ppm aspirin)を投与した群(C群)では、胃発がんの減少傾向は見られたが有意な低下は得られず、両薬剤の相乗あるいは相加的效果は伺わ

れなかった。すなわち、単独の薬剤で効果の得られる濃度を維持する必要性が考えられた。

組織学的な炎症所見を見ると、幽門腺、胃底腺共に、0.1%CAPE投与(A群)により、好中球浸潤、単核球浸潤の程度が減り、HPGに関しても、コントロール群より減少した。400 ppm aspirin群(B群)では、胃底腺、幽門腺共に好中球浸潤が軽快したが、単核球浸潤については、胃底腺では有意な低下が見られたが、幽門腺では明らかな低下は確認されなかった。C群(1/2 combination群)では、有意な炎症所見の軽快は見られず、発がん率と相関する結果となった。

*H. pylori*抗体価を見ると、対照群(D群)に比較してB、C群でも減少傾向にあったが、0.1%CAPE(A群)によって有意に抗体価の低下が見られた。*H. pylori*由来UreA遺伝子発現についても、A群で大きな低下が見られた。*H. pylori*菌量の低下、UreA遺伝子発現の減少あるいはその両者の要因が考えられたが、組織学的な炎症所見の改善や発がん率の低下と一致する結果となった。

炎症性サイトカイン発現の変化を見ると、0.1%CAPE(A群)により、IL-1 β (幽門腺、胃底腺共)、TNF- α (胃底腺)、iNOS(幽門腺、胃底腺共)、COX-2(幽門腺)の有意な低下が確認され、胃発がん制御に対するNF- κ Bシグナルの抑制による効果が示された。400 ppm aspirin(B群)により、幽門腺でCOX-2発現の有意な低下が見られており、cyclooxygenase酵素活性の阻害だけでなく、転写レベルでの制御も示された。

植物性リグナンや菜種油中の抗酸化物質であるcanololを用いた胃がんの予防の検討では、UreA量や組織学的炎症所見に群間に著変なく、炎症に伴って発生する酸化ラジカル等の制御が発がん抑制に働くと考えられたが、今回用いたCAPEは、*H. pylori*に対する直接的な作用あるいは炎症反応自体を抑制する事により、発がん抑制に貢献したと考えられた。

E. 結論

*H. pylori*感染は、ヒト慢性胃炎、腸上皮化生、あるいは胃がん、悪性リンパ腫発生に大きく関わっている。実験動物を用いた研究においても、*H. pylori*感染とそれに伴う炎症は腺胃発がんのプロモーターであり、その除菌は胃炎や胃がんの抑制に非常に効果的である。しかし、除菌を行わなくても、炎症を抑制する事

で、胃がんの予防になる事も実験的に証明されてきている。*H. pylori* 感染者全てが胃がんを発生する訳ではなく、また、進行した萎縮性胃炎では除菌による胃がん抑制効果が薄い事も考慮すると、今後、除菌以外の胃がん予防戦略が不可欠であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Cao, X., Tsukamoto, T., Seki, T., Tanaka, H., Morimura, S., Cao, L., Mizoshita, T., Ban, H., Toyoda, T., Maeda, H., and Tatematsu, M. 4-Vinyl-2,6-dimethoxyphenol (canolol) suppresses oxidative stress and gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected carcinogen-treated Mongolian gerbils. *Int. J. Cancer*, 122: 1445-1454 (2008)
- (2) Toyoda, T., Tsukamoto, T., Hirano, N., Mizoshita, T., Kato, S., Takasu, S., Ban, H., and Tatematsu, M. Synergistic upregulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric mucosa of Mongolian gerbils by a high-salt diet and *Helicobacter pylori* infection. *Histol. Histopathol.*, 23: 593-599 (2008)
- (3) Takasu, S., Tsukamoto, T., Cao, X. Y., Toyoda, T., Hirata, A., Ban, H., Yamamoto, M., Sakai, H., Yanai, T., Masegi, T., Oshima, M., and Tatematsu, M. Roles of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase-1 expression and beta-catenin activation in gastric carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea-treated K19-C2mE transgenic mice. *Cancer Sci.*, 99: 2356-2364 (2008)
- (4) Ogasawara, N., Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Inada, K. I., Ban, H., Kondo, S., Takasu, S., Ushijima, T., Ito, K., Ito, Y., Ichinose, M., Ogawa, T., Joh, T., and Tatematsu, M. RUNX3 expression correlates with chief cell differentiation in human gastric cancers. *Histol. Histopathol.*, 24: 31-40 (2009)
- (5) Zhang, X., Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Ban, H., Suzuki, H., Toyoda, T., and Tatematsu, M. Expression of osteopontin and CDX2: Indications of phenotypes and prognosis in advanced gastric cancer. *Oncol. Rep.*, 21: 609-613 (2009)

2. 学会発表

- (1) 塚本徹哉、立松正衛、*Helicobacter pylori* 感染と高食塩食による N-methyl-N-nitrosourea 誘発マウス腺胃発癌促進効果、がん予防大会 2008 福岡 (第 15 回日本がん予防学会総会) 抄録集、p. 94、福岡、(2008 年 5 月)
- (2) 豊田武士、塚本徹哉、高須伸二、田中卓二、立松正衛、Effect of HMG-CoA reductase inhibitor (pitavastatin) on gastric cancer in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils、第 67 回日本癌学会学術総会、67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association -Proceeding-, p. 380、名古屋、(2008 年 10 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

乳腺発がん抑制物質の検索に関する研究
分担研究者 今岡達彦 放射線医学総合研究所 主任研究員

研究要旨

ラット乳腺発がん実験モデルにおいて、食餌誘発性肥満が乳がんの発生を促進することが示唆された。アンジオテンシン II 受容体拮抗薬による肥満関連乳がんの予防効果を検証する実験を開始した。

A. 研究目的

肥満に関連するがんの新しい化学予防物質を検索するため、食餌誘発性肥満モデルと乳腺発がんモデルを複合した動物実験系を確立し、アンジオテンシンII受容体拮抗薬（ARB）の肥満関連乳がん予防効果を検証する。

B. 研究方法

3週齢雌ラットに高脂肪あるいは低脂肪飼料を与え、7週齢でγ線4Gyを照射し、照射後30週まで観察した。ARB（ロサルタンおよびカンデサルタン）は照射直後より持続的に飲水投与した。

（倫理面への配慮）

放射線医学総合研究所の動物実験安全・倫理に関する諸規定を遵守した。

C. 研究結果

高脂肪摂取ラットは、7週齢時点で易肥満群および抗肥満群に分かれた。γ線照射後、易肥満群では抗肥満群と比べ、2.4倍の個数の乳がんが発生し、触診されるまでの期間が6週間短かった。ロサルタンおよびカンデサルタンの投与により個体内のフィードバック機構が作動していることを確認した。ロサルタン（150ppm）飲水投与が易肥満群の担腫瘍個体の割合を非投与群（40%）の半分に抑制するという途中結果を得た。

D. 考察

本実験モデルは、肥満関連乳がんの予防物質の検索に有用な実験系である。途中結果により、肥満関連乳がんの発生をロサルタンによって低減できる可能性が示唆されている。観察の継続と、別種のARB（カンデサルタン等）の効果の確認が必要である。

E. 結論

肥満関連乳がん実験モデルを確立した。ARBの乳がん予防効果を検証する実験を開始し、ロサルタンの投与によって肥満個体の乳がん発生を低減できる可能性を示唆する途中結果を得た。

G. 研究発表

1. 論文発表

Imaoka T et al. J Radiat Res 49:349-360 (2008)
Yamauchi K et al. Proc First Int Symp Nagasaki Univ Global COE Prog 227-231 (2009)
今岡他, 乳癌基礎研究, 17: 31-36 (2008)
今岡他, 放射線生物研究, 44 (印刷中)

2. 学会発表

今岡他, 第67回日本癌学会学術総会
今岡他, 日本放射線影響学会第51回大会
今岡他, 京都大学原子炉実験所専門研究会
Imaoka T. Workshop Radiat Risk Breast Cancer
Nishimura et al. 26th Cong Int Assoc Breast Cancer Res
飯塚他, 京都大学原子炉実験所専門研究会
岡本他, 第23回発癌病理研究会
柿沼他, 京都T細胞会議第18回学術研究集会
柿沼他, 日本宇宙生物科学学会第22回大会
柿沼他, 日本放射線影響学会第51回大会
島田他, 日本放射線影響学会第51回大会
高橋他, 日本宇宙生物科学学会第22回大会
甘崎他, 日本放射線影響学会第51回大会
古渡他, 日本放射線影響学会第51回大会
Shimada Y et al. Int Symp Genotoxic Carcinog Thresholds
Shimada Y et al. Int Symp Carcinog Genet Effects Low Dose Radiat Exposure

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

脂肪細胞とアディポカイン

分担研究者 窪田 直人 東京大学 助教

研究要旨 抗糖尿病作用・抗腫瘍作用が報告されているアディポネクチンが、選択的 CB1 受容体阻害薬であるリモナバンの糖脂質代謝改善作用において、どの程度寄与しているかについて検討を行った結果、リモナバンによるインスリン抵抗性改善作用にはアディポネクチン依存的なパスウェイと非依存的なパスウェイがあることが明らかとなった。リモナバンは、アディポネクチンを上昇させるとともにリモナバン自身によっても、肝臓の AMPK を活性化し、肝臓の糖産生を抑制した。

A. 研究目的

抗肥満薬である CB1 受容体 (CB1R) 阻害薬リモナバンは、食欲抑制、体重減少のみならず、糖脂質代謝異常などの代謝病態も改善することが報告されている。またリモナバンにはアディポネクチン増加作用もあり、その代謝改善作用の一部を担っていると考えられている。そこで本研究ではリモナバンの代謝改善作用において抗糖尿病作用・抗腫瘍作用をもつアディポネクチンが、どの程度、またどのように寄与しているのかについて検討した。

B. 研究方法

ob/ob マウスとアディポネクチン欠損 (adipo(-/-))ob/ob マウスに対して、リモナバン 30mg/kgBW を 1 日 1 回、3 週間経口投与し、体重、摂餌量、血中パラメーターやインスリン抵抗性の評価等を行った。

(倫理面への配慮) 動物実験は、東京大学動物実験委員会ならびに東京大学組換え DNA 実験安全委員会の承認を得て実施し、動物愛護を十分に考慮した。

C. 研究結果

ob/ob マウス、adipo(-/-)ob/ob マウスともに、リモナバン投与群で有意な体重、脂肪量の低下と食欲抑制が認められたが、両群間でその程度に差は認められなかった。また酸素消費量はリモナバン投与群で両群マウスいずれにおいても同程度増加しており、リモナバンによる体重・摂食抑制、エネルギー代謝増加作

用はアディポネクチン非依存的であることが明らかとなった。血清アディポネクチンはリモナバン投与により ob/ob マウスで約 2 倍に増加し、特に high-molecular-weight(HMW)のアディポネクチンが有意差をもって増加していた。次にインスリン抵抗性改善作用を検討したところ、リモナバン投与により ob/ob マウス、adipo(-/-)ob/ob マウスともに有意なインスリン抵抗性の改善が認められたが、adipo(-/-)ob/ob マウスではその程度が有意に減弱していた。骨格筋における糖取り込みには両群間で差は認められなかったが、肝糖産生はリモナバン投与により ob/ob マウス、adipo(-/-)ob/ob マウスともに有意に抑制されたが、adipo(-/-)ob/ob マウスではその程度が有意に減弱しており、アディポネクチン依存性のパスウェイが存在することが明らかになった。またリモナバン投与群では両群マウスとも肝臓の AMPK 活性化の亢進、CPT-1 の発現上昇、TG 含量の低下が認められたが、adipo(-/-)ob/ob マウスではその程度が有意に障害されていた。

D. 考察

選択的 CB1R 阻害薬であるリモナバンの糖脂質代謝改善作用において、リモナバンのアディポネクチン上昇作用がどの程度寄与しているかはこれまで不明であった。今回の研究により、リモナバンによるインスリン抵抗性改善作用にはアディポネクチン依存的なパスウェイと非依存的なパスウェイがあることが明らかとなった。すなわちリモナバンは、HMW のアディポネクチンを上昇させ、肝臓の AMPK を活性化し、肝臓の糖産生を抑制す

る経路と、直接肝臓の CB1R に作用し AMPK を活性化し、肝臓の糖産生を抑制する経路があることが示唆された。また、リモナバンの体重減少作用は、アディポネクチン非依存的なパスウェイによる食欲抑制、エネルギー消費の増加によるものと考えられた。

リモナバンは、これまで肥満モデル動物や肥満・2型糖尿病患者での臨床研究から、肥満の改善や糖尿病の改善が報告され、新規の抗肥満薬・糖尿病治療薬として期待されていたが、中枢に作用しうつ病を発症する可能性があることから現在大規模臨床試験が中止となっている。しかし、本研究からわかるようにリモナバンは中枢作用のみならず、抹消においてもアディポネクチン依存的パスウェイとアディポネクチン非依存的パスウェイにより、インスリン抵抗性を改善する作用を有しており、今後、中枢に作用せず末梢のみ作用する選択的 CB1R 阻害薬が開発されれば、糖尿病や肥満・メタボリックシンドロームの有効な治療薬となる可能性が示唆された。

E. 結論

リモナバンによるインスリン抵抗性改善作用には、アディポネクチン依存的なパスウェイと非依存的なパスウェイがあることが明らかとなった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okamoto M, Ohara-Imaizumi M, Kubota N, Hashimoto S, Eto K, Kanno T, Kubota T, Wakui M, Nagai R, Noda M, Nagamatsu S, Kadowaki T: Adiponectin induces insulin secretion in vitro and in vivo at a low glucose concentration. *Diabetologia*. 2008; 51:827-835
- 2) Oishi Y, Manabe I, Tobe K, Ohsugi M, Kubota T, Fujiu K, Maemura K, Kubota N, Kadowaki T, Nagai R: SUMOylation of Krüppel-like transcription factor 5 acts as a molecular switch in transcriptional programs of lipid metabolism involving PPAR-delta. *Nat Med*. 2008; 14:656-666
- 3) Arai T, Hashimoto H, Kawai K, Mori A, Ohnishi Y, Hioki K, Ito M, Saito M, Ueyama Y, Ohsugi M, Suzuki R, Kubota N, Yamauchi T, Tobe K, Kadowaki T, Kosaka K: Fulminant type 1 diabetes mellitus observed in insulin receptor substrate 2 deficient mice. *Clin. Exp. Med*. 2008; 8:93-99
- 4) Yano W, Kubota N, Itoh S, Kubota T, Awazawa M, Moroi M, Sugi K, Takamoto I, Ogata H, Tokuyama K, Noda T, Terauchi Y, Ueki K, Kadowaki T: Molecular Mechanism of Moderate Insulin Resistance in

Adiponectin-Knockout Mice. *Endocr J*. 2008; 55:515-522

- 5) Kubota N, Kubota T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Mineyama T, Ogata H, Tokuyama K, Ohsugi M, Sasako T, Moroi M, Sugi K, Kakuta S, Iwakura Y, Noda T, Ohnishi S, Nagai R, Tobe K, Kadowaki T: Dynamic Functional Relay between Insulin Receptor Substrate 1 and 2 in Hepatic Insulin Signaling during Fasting and Feeding. *Cell Metab*. 2008; 8:49-64
- 6) Hashimoto H, Eto T, Kamisako T, Hoya N, Hatakeyama T, Arai T, Yokosuka M, Ohnishi Y, Ito M, Hioki K, Suzuki R, Ohsugi M, Saito M, Ueyama Y, Yamauchi T, Kubota N, Tobe K, Kadowaki T, Tamaoki N, Nomura T: An Efficient reproductive method for Irs2^{-/-} mice with C57BL/6J genetic background. *Exp. Anim*. 2008; 57(4):407-411
- 7) Takasawa K, Kubota N, Terauchi Y, Kadowaki T: Impact of increased PPAR γ activity in adipocytes in vivo on adiposity, insulin sensitivity and the effects of rosiglitazone treatment. *Endocrine J*. 2008; 55:767-776
- 8) Takamoto I, Terauchi Y, Kubota N, Kubota T, Ohsugi M, Ueki K, Kadowaki T: Crucial role of IRS-2 in compensatory β -cell hyperplasia in response to high-fat-diet-induced insulin resistance. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2008; 10 Suppl 4:147-156.
- 9) Fujisawa T, Endo H, Tomimoto A, Sugiyama M, Takahashi H, Saito S, Inamori M, Nakajima N, Watanabe M, Kubota N, Yamauchi T, Kadowaki T, Wada K, Nakagama H, Nakajima A: Adiponectin Suppresses Colorectal Carcinogenesis under the High-fat Diet Condition. *Gut*. 2008; 57:1531-1538
- 10) Watanabe T, Kubota N, Ohsugi M, Kubota T, Takamoto I, Iwabuchi M, Awazawa M, Katsuyama H, Hasegawa C, Tokuyama K, Moroi M, Sugi K, Yamauchi T, Noda T, Nagai R, Terauchi Y, Tobe K, Ueki K, Kadowaki T: Rimonabant ameliorates insulin resistance via both adiponectin-dependent and adiponectin-independent pathways. *J. Biol. Chem*. 2009; 284(3):1803-1812

2. 学会発表

- 1) 高橋雄大, 窪田直人, 窪田哲也, 伊藤晋介, 高本偉碩, 橋本信嗣, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: チアゾリジン誘導体の抗動脈硬化作用におけるアディポネクチンの役割の解明. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会. 2008. 05. 22, 東京

- 2) 伊藤晋介, 窪田直人, 窪田哲也, 高橋雄大, 高本偉碩, 山内敏正, 植木浩二郎, 寺内康夫, 戸辺一之, 門脇孝: アディポネクチン欠損マウスのインスリン抵抗性のメカニズムの解明. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会. 2008.05.22, 東京
- 3) 渡辺拓, 窪田直人, 窪田哲也, 大杉満, 戸辺一之, 門脇孝: 抗肥満薬 Rimonabant における Adiponectin の役割. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会. 2008.05.22, 東京
- 4) 高本偉碩, 窪田直人, 橋本信嗣, 峯山智佳, 窪田哲也, 伊藤晋介, 山内敏正, 植木浩二郎, 宮崎純一, 門脇孝: IRS-2 欠損膵 β 細胞株の樹立. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会. 2008.05.22, 東京
- 5) 橋本信嗣, 窪田直人, 高本偉碩, 窪田哲也, 藤本和歌子, 野田光彦, 清野進, 植木浩二郎, 門脇孝: 血管内皮細胞におけるインスリン受容体基質(IRS)-2 のインスリン分泌における役割の解析. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会. 2008.05.22, 東京
- 6) 窪田哲也, 窪田直人, 熊谷洋紀, 小園秀樹, 高橋雄大, 杉薫, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: インスリン抵抗性発症における血管と骨格筋のネットワーク機構の解明. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会. 2008.05.22, 東京
- 7) 窪田直人, 窪田哲也, 山内敏正, 植木浩二郎, 箕越靖彦, 門脇孝: アディポネクチンの摂食・エネルギー調節における役割. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会. 2008.05.22
- 8) 窪田直人, 窪田哲也, 高橋雄大, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: 血管内皮細胞におけるインスリン受容体基質(IRS)2 の役割の解明. 第1回日本肥満症治療学会学術集会. 2008.06.14, 東京
- 9) 窪田直人, 窪田哲也, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: 血管内皮細胞におけるインスリンシグナルと骨格筋インスリン抵抗性. 第14回成人病の病因・病態の解明に関する研究会. 2008.07, 長野
- 10) Kubota N, Kubota T, Kumagai H, Yamauchi T, Ueki K, Kadowaki T: Insulin signaling defect in endothelial cells causes skeletal muscle insulin resistance. 第40回日本動脈硬化学会総会・学術集会. 2008.07.11, 茨城
- 11) 窪田直人, 窪田哲也, 伊藤晋介, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: 肝臓の糖代謝における IRS-1、IRS-2 の役割の検討. 第26回日本内分泌学会内分泌代謝学サマーマナー. 2008.07.12, 愛知
- 12) 窪田直人, 窪田哲也, 伊藤晋介, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: 肝臓の糖代謝における IRS-1、IRS-2 の役割の検討. 第13回アディポサイエンス研究会. 2008.08.22, 大阪
- 13) 窪田直人, 大杉満, 植木浩二郎, 野田光彦, 門脇孝: 膵 β 細胞量調節機構と2型糖尿病. 第8回 Islet Biology 研究会. 2008.08, 東京
- 14) 窪田直人, 門脇孝: アディポカイン異常とメタボリックシンドローム. 第16回日本ステロイドホルモン学会学術集会. 2008.11.22, 福井
- 15) 窪田直人, 門脇孝: インスリン抵抗性とメタボリックシンドローム. 第6回徳島大学疾患酵素研究センターシンポジウム. 2008.12, 徳島
- 16) 山口真一, 窪田直人, 窪田哲也, 熊谷洋紀, 小園秀樹, 高橋雄大, 高本偉碩, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: 血管内皮機能低下は骨格筋のインスリン抵抗性を惹起する. 第12回日本病態栄養学会年次学術集会. 2009.01.22, 京都
- 17) 窪田哲也, 窪田直人, 山口真一, 井上真理子, 植木浩二郎, 門脇孝: 血管内皮細胞におけるインスリン受容体基質(IRS)2 の役割の解明—血管内皮細胞特異的 IRS2 欠損マウスを用いて—. 第23回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会. 2009.02.13, 岡山
- 18) 窪田直人, 窪田哲也, 山口真一, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝: インスリン感受性調節における血管内皮細胞インスリンシグナルの役割. 第23回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会. 2009.02.13, 岡山
- 19) 窪田直人, 窪田哲也, 門脇孝: 肝臓の糖・脂質代謝における IRS-1、IRS-2 の機能的な役割分担. 第43回糖尿病学の進歩レクチャー. 2009.02.20, 長野
- 20) 窪田直人, 窪田哲也, 山口真一, 山内敏正, 植木浩二郎, 鎌田勝雄, 門脇孝: 血管内皮細胞のインスリンシグナル障害は骨格筋インスリン抵抗性を引き起こす. 第129年会日本薬学会. 2009.03.26, 京都
- 20) Kubota T, Kubota N, Kozono H, Takahashi T, Itoh S, Ueki K, Kadowaki T: Insulin signaling in endothelial cells participates in the regulation of skeletal muscle insulin sensitivity. Scientific Sessions 68th American Diabetes Association. 2008.06, San Francisco
- 21) Kubota N, Kubota T, Itoh S, Terauchi Y,