

C. 研究結果

【脂肪滴及びLDL受容体発現の検討】

Min マウスとその野生型マウスに基礎飼料 AIN-76A を給餌した。両マウスの摂餌量はほぼ同様であり、最終体重もそれぞれ 26.3 g と 28.7 g であった。15 週齢雄 Min マウスにおける腸ポリープはすべてのマウスに認められ（平均値は 70.6 個）、部位別では小腸の遠位の腸ポリープ数が最も多く、大腸における腸ポリープの発生頻度は少なかった。野生型マウスに腸ポリープは発生しなかった。

解剖時に摘出された中位部と遠位部の小腸はスイスロール状に巻き凍結切片を作成し、脂肪を赤色に染色する Oil-red O 染色にて脂質の有無を検討した。すると Min マウスの腸ポリープ上皮部に多数の大きな赤に染まる点（脂肪滴）を観察することができた。大腸ポリープも同様に観察したところ、得られたポリープ 3 個中 2 個に脂肪滴の存在を確認することができた。一方、Min マウスの小腸の非ポリープ部及び野生型マウスの小腸絨毛においては絨毛の頂上部において微細な赤色に染まる点を観察するに留まった。野生型マウスの大腸、胃、食道上皮に赤色に染まる点は見られなかった。電子顕微鏡を用いて Min マウスの腸ポリープの上皮部を観察すると細胞質内の大部分を占める脂肪滴が観察され、融合して大きくなり、核を圧迫変形させている像も見られた。一方、Min マウスの非ポリープ部の小腸絨毛では小さい脂肪滴が観察され、核やミトコンドリアは正常像を呈した。

脂肪の蓄積が消化管腔内の脂肪吸収に由来する可能性が考えられたため、次に Min マウスの腸ポリープ部位及び非ポリープ部位における LDL 受容体の局在とその発現量を検討した。免疫組織化学染色を行うと腸ポリープの外側上皮に強い LDL 受容体の発現を認めた。LDL 受容体の認められた部位は、脂肪滴のある腸ポリープの部位とほぼ一致していた。一方、Min マウスの非腸ポリープ部の小腸絨毛において LDL 受容体の発現は認められなかった。さらに、LDL 受容体の発現量を定量化する目的で近位小腸のポリープ部位、非ポリープ部

位、及び野生型マウスの小腸絨毛部より mRNA を抽出し、real-time PCR を行った。その結果、Min マウスのポリープ部位の LDL 受容体発現量は非ポリープ部位より約 4 倍高く、野生型マウスの小腸絨毛部と比べ約 10 倍高いことがわかった。

脂肪滴の腸ポリープ増殖に対する役割を検討する目的で腸ポリープにおける cyclooxygenase-2 (COX-2) の発現とリン酸化 Akt の発現を免疫組織学的に検討した。その結果、COX-2 は主に Min マウス腸ポリープの間質に発現していた。また、上皮細胞間質にも COX-2 は発現していた。また、リン酸化 Akt は上皮において瀰漫性に発現していた。

【LDL受容体欠損 Min マウスの作成とその評価】

LDL 受容体を欠損した *Apc* 遺伝子欠損マウスにおいて産児数の減少等はみられず、メンデルの法則にほぼ従った遺伝子型を得ることができた。実験中の体重、摂餌量、全身状態変化においては遺伝子型による差を認めなかった。

10 週齢の雄 Min マウスにおいて LDLR を欠損させると、LDL の取り込みが減少するため血清 LDL 値が上昇し、野生型の 51.2 mg/dl とくらべてホモ欠損においては 131.4 mg/dl にまで上昇することがわかった。また、LDLR をヘテロ、ホモ欠損させた雄 Min マウスでは、1 匹当たりの腸ポリープ数はそれぞれ 98.6 ± 18.9 個、 50.0 ± 4.3 個 ($p < 0.05$) となり、野生型の 85%、40% にまで減少することがわかった。また、雌においても 1 匹当たりの腸ポリープ数はそれぞれ野生型の 60%、49% に減少した。さらに、腸ポリープサイズを 0.5 mm ごとに測定すると、いずれの大きさにおいても野生型、ヘテロ欠損、ホモ欠損の順にサイズが小さくなることがわかった。現在、7 週齢のマウスの腸ポリープ生成数を評価中である。以上のことより、*LDLR* 遺伝子欠損は *Apc* 遺伝子欠損マウスの腸ポリープ生成に明らかに影響を与えることがわかった。

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の原因と考えられる内臓脂肪量と大腸腺腫数及びアディポサイトカインが相関することも報告されるとともに、高トリグリセリド血症が大腸粘膜内がん、腺腫、腺がんの発症リスクを上昇させることもわかってきた。我々はこれまでに2種類の *Apc* 遺伝子欠損マウスの血清トリグリセリド値が経時的に急激に上昇することを見出した。更に、peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) リガンドや NO-1886 (LPL 誘導剤) を用い、*Apc* 遺伝子欠損マウスでみられる高脂血症状態を改善すると、腸ポリープ生成が抑制できることを見出してきた。今回、Min マウスの腸ポリープ表層部の上皮細胞において多数の大きな脂肪滴を認めた。そして、同様な部位に LDL 受容体が強く発現していた。Min マウスの腸ポリープの間質には COX-2 が強発現しており、その周囲の上皮細胞は瀰漫性に Akt が活性化していた。

これまでに、動物発がんモデルにおいて腸ポリープに脂肪滴が蓄積しているという報告はない。一方、近年、ヒト大腸がん手術検体において、がん細胞に脂肪滴の蓄積が報告された。

Min マウスの腸ポリープ頂上部位及び非ポリープ部位における絨毛の頂上部位に脂肪滴が観察されたのは摂餌飼料が腸管と接しながら通過するためと考えられる。飼料内の脂肪、また胆汁中の LDL 等のコレステロールが腸管粘膜に直接接触し、それらが吸収されるために腸上皮間質の管腔側に脂肪が蓄積したものと考えられ、血液を介した脂肪運搬の可能性は低いと考えられた。他方、脂肪滴の蓄積機序としては、吸収された脂質の運搬阻害も考えられる。腸ポリープにおいては構造異型があり、脂質を吸収してもその後の運搬が阻害されると考えられる。

ところで、脂質の吸収には受動拡散

による吸収以外に受容体を介した吸収が考えられる。我々は LDL 受容体に注目し、脂肪蓄積と一致する部位におけるその発現を確認した。さらに、腸ポリープに脂肪滴が蓄積することによる腸ポリープの進展促進効果として、COX-2 を介する機序や Akt を介する機序が関与している可能性が考えられた。LDL 受容体の構造には NPxY ドメインがあり、受容体の刺激が Akt を活性化する可能性も考えられる。これまでに家族性高脂血症患者のリポ蛋白を用いて、血管内皮細胞や平滑筋細胞に対する増殖作用が検討され、多くの転写因子 (CREB、AP-1、NF- κ B 等) や MAPK 経路が活性化されることが報告されている。

以上の結果より、LDL 受容体の Min マウスの腸ポリープ生成における役割を検討した。その結果、LDL 受容体を欠損させると Min マウスの腸ポリープ生成が抑制されることがわかった。LDL 受容体の2つの機能 (脂質の取り込みと生存シグナル伝達) を阻害することが腸ポリープ生成に影響を与えたと考えられる。詳細なメカニズムや7週齢マウスにおける腸ポリープの評価等、まだ実験途中ではあるが、今後、脂肪滴の蓄積と腸ポリープの進展との関連が明らかになると考えられる。これらの成果より、今後、血清脂質と腸ポリープ生成との相互関係が明らかになり、より詳細な大腸発がんの機序や大腸発がん予防方策のデータが得られるものと考えられる。

E. 結論

Apc 遺伝子欠損マウスにおいて血清脂質が上昇するに伴い腸ポリープ生成が亢進する。この生成亢進機序に腸ポリープそのものの脂質吸収機序の亢進と脂肪滴そのものの影響が寄与している可能性が考えられる。したがって、食生活習慣の改善や高脂血症改善薬を用いるがん予防方法とともに脂質吸収を抑制するがん予防方法も可能であると考えられる。現在、

食の欧米化や運動の不足にともなって、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、脂肪蓄積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、大腸がん予防方法の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., Komiya, M., Teraoka, N., Ueno, T., Takahashi, M., Kitahashi, T., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. Overexpression of low-density lipoprotein receptor and lipid accumulation in intestinal polyps in Min mice. *Int. J. Cancer*, 125: 2505-2510 (2009).
- 2) Yamaji, T., Iwasaki, M., Sasazuki, S., Kurahashi, N., Mutoh, M., Yamamoto, S., Suzuki, M., Moriyama, N., Wakabayashi, K., and Tsugane, S. Visceral fat volume and the prevalence of colorectal adenoma. *Am. J. Epidemiol.*, 170: 1502-1511 (2009).
- 3) Mutoh, M., Takahashi, M., and Wakabayashi, K. Involvement of obesity, hyperlipidemia and diabetes in colon carcinogenesis and its prevention. *FFI Journal of Japan*, 214: 222-228 (2009).

2. 学会発表

- 1) 武藤倫弘、飯郷正明、寺岡直哉、高橋真美、北橋宗、上野俊也、杉村隆、若林敬二。Azoxymethane 誘発マウス大腸発がんに対する adiponectin 遺伝子欠損の影響 第16回日本がん予防学会、名古屋 (2009年6月)
- 2) 寺岡直哉、武藤倫弘、高橋真美、上野俊也、荒木智子、杉村隆、若林敬二。HMGCo-A 還元酵素阻害剤 Pitavastatin の Min マウス長ポリープ精製に対する

抑制作用 第16回日本がん予防学会、名古屋 (2009年6月)

- 3) Takahashi, M., Kitahashi, T., Mutoh, M., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Cancer promotive factors in pancreatic carcinogenesis in BOP-treated hamsters and its suppression. 2nd DKFZ-NCC workshop on cancer research Tokyo, Tokyo (July, 2009)
- 4) 武藤倫弘、高橋真美、寺岡直哉、高須伸二、堀美香、杉村隆、若林敬二。高脂血症の大腸発がんの促進とその作用メカニズム 第24回日発癌病理研究会、和倉 (2009年8月)
- 5) 武藤倫弘、飯郷正明、寺岡直哉、上野俊也、高橋真美、高須伸二、堀美香、杉村隆、若林敬二。アディポネクチンの腸発がんにおける役割 第68回日本癌学会総会、横浜 (2009年10月)
- 6) 寺岡直哉、武藤倫弘、上野俊也、高橋真美、杉村隆、若林敬二。肥満マウスにおける、アゾキシメタン誘発大腸発がんの促進 第68回日本癌学会総会、横浜 (2009年10月)
- 7) 北橋宗、武藤倫弘、杉村隆、若林敬二、今井俊夫。小動物用X線CTを用いたシリアンハムスターのBOP誘発膵臓腫瘍の画像化 第68回日本癌学会総会、横浜 (2009年10月)
- 8) 上野俊也、北橋宗、武藤倫弘、寺岡直哉、高橋真美、谷中昭典、杉村隆、若林敬二。ウレタン誘発マウス肺腫瘍生成に対するインドメタシンの影響とmicro-CTを用いた評価 第68回日本癌学会総会、横浜 (2009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

「発がん抑制剤」特許 4417424 号

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

大腸・舌発がん抑制物質の検索

分担研究者 田中卓二 金沢医科大学 客員教授

研究要旨 ヒト大腸がんではがん細胞 LDL レセプター (LDLR) の有無が予後に影響し、LDLR の発がんへの影響が示唆される。しかし、LDLR の大腸発がんへの影響をみた実験的な報告はみられない。そこで、LDLR^{-/-}マウスとその野生型マウス (LDLR^{+/+}マウス) に AOM/DDS 処置を行い LDLR と大腸発がんとの関連を検討した。その結果、LDLR^{-/-}マウスでは血清 T-Chol や TG の高値にも関わらず、AOM/DDS 大腸発がんに対する感受性が低く、LDLR は炎症関連大腸発がんに影響することが判明した。それぞれ 98.6 個、50.0 個となり、野生型の 85%、40%にまで減少することがわかった。

A. 研究目的

高脂肪食摂取などにより惹起される高コレステロール血症や高脂血症は大腸などの発がんリスクを上昇させる。生体内コレステロール生合成は HMG-CoA で調節される一方、遊離コレステロールの細胞内取込みは LDL レセプター (LDLR) を介して行われ、生体内コレステロール値が維持されている。ヒト大腸がんではがん細胞 LDLR の有無が予後に影響するとの報告があり、LDLR の発がんへの影響が示唆される。しかし、LDLR の発がんへの影響をみた実験的な報告はみられない。そこで、LDLR^{-/-}マウスとその野生型マウス (LDLR^{+/+}マウス) に AOM/DDS 処置を行い LDLR と大腸発がんとの関連を検討した。

B. 研究方法

5 週齢雄性 LDLR^{-/-}マウスおよび LDLR^{+/+}マウスに AOM (10 mg/kg 体重) を腹腔内投与後、一週間 2 % DSS を飲水投与した。実験開始後 20 週にて大腸腫瘍病変の発生状況を比較し、病理学的、血清学的解析を行った。

(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

LDLR^{-/-}マウスの大腸腺がん発生頻度 (21%、 $p<0.01$)、発生個数 (1.43 ± 0.13 , $p<0.001$)はいずれも LDLR^{+/+}マウス (80%, 3.10 ± 2.38) と比べ有意に低値であり、腫瘍体積も LDLR^{+/+}マウスに比べ (133 ± 38 mm³)、LDLR^{-/-}マウス (75 ± 19 mm³) で小さかった。発生した大腸がんや背景粘膜における LDLR の免疫組織学的発現は LDLR^{-/-}マウ

スで陰性で、LDLR^{+/+}マウスではいずれも陽性であった。LDLR^{-/-}マウスの血清 T-Chol 値(414±41 vs. 131±21 μg/dl)、TG 値(230±51 vs. 126±21 μg/dl)は LDLR^{+/+}マウスに比べ有意に高く、adiponectin 値(16.6±2.1 vs. 12.1±3.5 μg/dl)は有意に高値であった。

D. 考察

以上の結果から、LDLR^{-/-}マウスでは血清 T-Chol や TG の高値にも関わらず、AOM/DSS 大腸発がん感受性が低く、LDLR は大腸発がんに影響することが示唆された。LDLR^{-/-}マウスの血清 T-Chol や TG の高値は LDLR 欠損による二次的なものであると考えられ、本研究の結果は、Wnt とそのレセプター frizzled との結合が LPLR の 1 つ LRP-6 など正の調節を受けていることから興味深い。今後、肝臓 HMG-CoA の活性、LPL 活性などの解析とともに、発がん promoter の DSS を使用しない大腸発がんモデル系で誘発した大腸腺がん、Min マウスなどでの腸管腫瘍やヒト大腸がんにおける LDLR 発現と腫瘍増殖活性・浸潤との関連など詳細な解析が必要と考えている。一方、予備的な検討であるが、ヒト大腸がん組織の浸潤先端部での脂肪滴の有無を脂肪染色にて検討したところ、浸潤がん細胞の胞体とともに、周囲に浸潤するマクロファージにも陽性であった。今後、炎症、特にマクロファージとがん細胞浸潤の関わりについての検討を行う予定である。

E. 結論

以上の結果から、LDLR^{-/-}マウスでは血清 T-Chol や TG の高値にも関わらず、AOM/DSS 大腸発がん感受性が低く、LDLR は大腸発がんに影響することが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 安井由美子、田中卓二：予防医学とカロテノイド. カロテノイドの科学と最新応用技術、pp. 153-160、宮下和夫監修、東京、シーエムシー出版(2009).
2. Tanaka, T.: Toxicological carcinogenesis. In: Manfred Schwab (Ed.), *Encyclopedia of Cancer*, 2nd Edition, Vol. 4 (Q-Z), pp. 3008-3010, Springer-Verlag, Berlin (2009).
3. 田中卓二、尾山 武：大腸発がんにおける炎症反応. 分子細胞治療 8: 175-181 (2009).
4. Yasui, Y., Kim, M., Oyama, T. and Tanaka, T.: Colorectal carcinogenesis and suppression of tumor development by inhibition of enzymes and molecular targets. *Curr. Enzyme Inhibition*, 5: 1-26 (2009).
5. Oyama, T., Yasui, Y., Sugie, S. and Tanaka, T.: Preclinical assays for identifying natural cancer chemopreventive agents. *Scholarly Research Exchange*, vol. 2009, Article ID 475963, doi:10.3814/2009/475963

- (2009).
6. Rosenberg, D.W., Giardina, C. and Tanaka, T.: Mouse models for the study of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 30: 183-196 (2009).
 7. Tanaka, T.: Colorectal carcinogenesis: Review of human and experimental animal studies. *J. Carcinogenesis*, 8: 5 (2009).
 8. Oyama, T., Yasui, Y. and Tanaka, T.: Breast cancer chemoprevention: current perspectives. *Curr. Enzyme Inhibition*, 5: 198-208 (2009).
 9. Tanaka, T., Yasui, Y., Tanaka, M., Tanaka, T., Oyama, T. and Rahman, K.M.W.: Melatonin suppresses AOM/DSS-induced large bowel oncogenesis in rats. *Chem.-Biol. Interact.*, 177: 128-136 (2009).
 10. 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. *Int. J. Cancer*, 124: 264-271 (2009).
 11. Shimizu, M., Shirakami, Y., Iwasa, J., Shiraki, M., Yasuda, Y., Hata, K., Hirose, Y., Tsurumi, H., Tanaka, T. and Moriwaki, H.: Supplementation with branched-chain amino acids inhibits azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in male C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Clin. Cancer Res.*, 15: 3068-3075 (2009).
 12. Yasuda, M., Nishizawa, T., Ohigashi, H., Tanaka, T., Hou, D.-X., Colburn, N.H. and Murakami, A.: Linoleic acid metabolite suppresses skin inflammation and tumor promotion in mice: Possible roles of programmed cell death 4 induction. *Carcinogenesis*, 30: 1209-1216 (2009).
 13. Toyoda, T., Tsukamoto, T., Takasu, S., Hirano, N., Ban, H., Shi, L., Kumagai, T., Tanaka, T. and Tatematsu, M.: Pitavastatin fails to lower serum lipid levels or inhibit gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected rodent models. *Cancer Prev. Res.*, 2: 751-758 (2009).
 14. Yasui, Y. and Tanaka, T.: Protein expression analysis of inflammation-related colon carcinogenesis. *J. Carcinogenesis*, 8: 10, 2009.
 15. Yoshimi, K., Tanaka, T., Takizawa, A., Kato, M., Hirabayashi, M., Mashimo, T., Serikawa, T. and Kuramoto, T.: Enhanced colitis-associated colon carcinogenesis in a novel *Apc*-mutant rat. *Cancer Sci.*, 100: 2022-2027 (2009).
 16. Oyama, T., Yasui, Y., Sugie, S., Koketsu, M., Watanabe, K. and Tanaka, T.: Dietary triclin

2. 学会発表
1. 尾山 武、安井由美子、杉江茂幸、渡邊邦友、田中卓二：Tricin による炎症関連大腸発がん抑制効果.第 25 回日本毒性病理学会、浜松 (2009 年 1 月).
 2. 豊田武士、塚本徹哉、高須伸二、時 亮、田中卓二、立松正衛：Helicobacter pylori 感染動物モデルにおけるピタバスタチンの胃発癌および血清脂質動態への影響. 第 25 回日本毒性病理学会、浜松 (2009 年 1 月).
 3. 杉江茂幸、尾山 武、安井由美子、田中卓二：MeIQx 投与後長期飼育における F344 ラットの心臓病変.第 25 回日本毒性病理学会、浜松 (2009 年 1 月).
 4. Oyama, T., Yasui, Y., Kamide, M., Yamamoto, S., Sugie, S. and Tanaka, T.: A flavone, tricin, suppresses colitis-associated mouse colon carcinogenesis. 9th Korea-Japan Symposium on Cancer and Ageing Research. DamYang Resort, South Korea (March, 2009).
 5. Kim, M., Miyamoto, S., Yasui, Y., Oyama, T., Murakami, A., Sugie, S. and Tanaka, T.: Dietary zerumbone inhibits colon and lung carcinogenesis in mice. 9th Korea-Japan Symposium on Cancer and Ageing Research. DamYang Resort, South Korea (March, 2009).
 6. Tanaka, T.: Preclinical bioassays for chemoprevention studies on inflammation- and obesity- related colonic oncogenesis. International Conference on Dietary and Chemical Cancer Prevention: Basic Research and Clinical. Taipei (April, 2009).
 7. 尾山 武、安井由美子、杉江茂幸、田中卓二：Tricin による炎症関連大腸発がん抑制とその機序の検討. 第 98 回日本病理学会総会、京都 (2009 年 5 月).
 8. 田中卓二：合同シンポジウム 2-食道化学予防の基礎研究.がん予防大会 2009 愛知、名古屋 (2009 年 6 月).
 9. 村上 明、古川育代、宮本真吾、田中卓二、大東 肇：ターメリック成分 turmerones と curcumin のマウス大腸発がん抑制作用. がん予防大会 2009 愛知、名古屋 (2009 年 6 月).
 10. 塚本徹哉、時 亮、豊田武士、高須伸二、斎藤典子、斎藤亜弓、山本昌美、平田暁大、立松正衛、田中卓二.Cyclooxygenase-2 阻害剤 Etodolac による DSS 誘発 Min マウス大腸腫瘍の抑制効果. がん予防大会 2009 愛知、名古屋 (2009 年 6 月).
 11. 尾山 武、安井由美子、杉江茂幸、田中卓二、渡邊邦友：Tricin による炎症関連大腸発がん抑制とその分子機構の検討. がん予防大会 2009 愛知、名古屋 (2009 年 6 月).
 12. 三好規之、安井由美子、若尾陽平、鈴木あずさ、田中卓二、大島寛史。「ヤムイモ」(山薬) およびその含有成分ジ

- オスゲニンによる大腸がん発がんの予防. がん予防大会 2009 愛知、名古屋 (2009 年 6 月).
13. 安井由美子、田中卓二、三上奈々、細川雅史、宮下和夫. Astaxanthin による炎症を背景としたマウス大腸発がん抑制効果. がん予防大会 2009 愛知、名古屋 (2009 年 6 月).
 14. 島崎猛夫、石垣靖人、夏 啓勝、中谷直喜、友杉直久、田中卓二、川上和之、源 利成、元雄良治: GSK3 β 阻害剤と塩酸ゲムシタピンの併用による膵癌の新規治療戦略と分子基盤. 第 40 回日本膵臓病学会大会、東京 (2009 年 7 月).
 15. 細川雅史、安井由美子、三瓶雄司、三上奈々、宮下和夫、田中卓二: アスタキサンチンの DSS 誘発性マウス大腸炎および大腸発がんに対する抑制効果; 第 23 回カロテノイド研究談話会、仙台 (2009 年 9 月)..
 16. Shimizu, M., Iwasa, J., Tanaka, T. and Moriwaki, H.: Supplementation with branched-chain amino acids suppresses diethylnitrosamine-induced liver carcinogenesis in obese mice. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
 17. Katsurano, M., Niwa, T., Yamashita, S., Tanaka, T. and Ushijima, T.: Ulcerative colitis induces aberrant DNA methylation in mouse colonic epithelia and develops an epigenetic field defect. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
 18. Yasuda, Y., Shimizu, M., Sakai, H., Shirakami, Y., Tanaka, T. and Moriwaki, H.: Supplementation with branched-chain amino acids suppresses obesity and diabetes-related mouse colon carcinogenesis. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
 19. Tanaka, T., Yasui, Y., Oyama, T. and Sugie, S.: Colorectal cancer chemoprevention by beta-cyclodextrin inclusion compounds of auraptene and 4'-geranyloxyferulic acid. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
 20. Tsukamoto, T., Shi, L., Toyoda, T., Takasu, S., Saito, N., Saito, A., Kusakabe, M., Tanaka, T. and Tatematsu, M.: Prevention of inflammation-associated colonic tumorigenesis in Min mice with a cyclooxygenase-2 inhibitor. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
 21. Kohno H. and Tanaka, T.: Suppression of inflammation-related colon carcinogenesis in the *Apc*^{Min/+} mice by a COX-2 inhibitor and a PPAR ligand. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).

22. Oyama, T., Yasui, Y., Sugie, S., Watanabe, K. and Tanaka, T.: Dietary flavonoid tricin suppresses colitis-associated mouse colon carcinogenesis. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
23. Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T.: Astaxanthin inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
24. Sugie, S., Oyama, T., Yasui, Y. and Tanaka, T.: Effect of BITC and PEITC on BBN-induced urinary bladder carcinogenesis in male F344 rats. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama (October, 2009).
25. 田中卓二：特別講演 消化器癌からみた機能性食品.第 7 回日本機能性食品医用学会、広島 (2009 年 12 月).
26. 田中卓二：特別講演 炎症関連大腸発がんモデルの作出とその発がん・化学予防研究への活用.関西実験動物研究会・第 104 回研究会、京都 (2009 年 12 月).
- G. 知的所有権の取得状況
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。

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

アンジオテンシン II 受容体拮抗剤ロサルタンによるマウス大腸がんの予防効果

分担研究者 塚本徹哉 藤田保健衛生大学医学部病理学I 准教授

研究要旨 Angiotensin II (Ang II) 受容体阻害薬 losartan および cyclooxygenase 阻害薬 aspirin との複合投与による大腸腫瘍抑制効果を検討した。ICR マウスに azoxymethane (AOM)+dextran sulfate sodium (DSS)を投与し大腸腫瘍を誘発し、losartan、aspirin、複合投与による抗腫瘍効果を検討した。その結果、腫瘍発生率には変化は見られなかったが、腫瘍体積の有意な低下、粘膜下層へ浸潤する腫瘍の発生率の減少が見られた。Losartan 投与により、MMP-2、FGF-2、Survivin 遺伝子の発現が抑制され、さらに aspirin との複合投与によって TNF- α や IL-1 β の発現も減少した。DSS 投与 Min マウスでも losartan により生存率の改善が見られた。以上より、losartan および aspirin によるヒト大腸腫瘍進展の抑制の可能性が示唆された。

A. 研究目的

Angiotensin II (Ang II) 受容体拮抗薬は、近年、高血圧に対する治療薬として広く使われているが、様々な細胞増殖制御にも関わっていることが明らかになってきている。Ang II 受容体には AT1 タイプと AT2 タイプがあり、AT1 は細胞の増殖とプロトオンコジーン発現に関与し、AT2 は AT1 受容体の作用と拮抗するが不明の点も多いとされている。In vitro で、大腸がん細胞株において、prostaglandin E2 (PGE2) と Ang II が insulin like growth factor-1 (IGF-1) 受容体の発現制御を介してがん細胞の増殖と浸潤を促進するという報告があるが、実際に大腸上皮細胞における PGE2 と Ang II の役割やシグナル伝達経路などについては未解決のままである。本研究では、二種類のマウス大腸発がんモデルを用いて、AT1 受容体阻害薬 losartan 単独および

cyclooxygenase の阻害薬 aspirin との複合投与による大腸腫瘍抑制効果の解明を試みた。

B. 研究方法

【方法】[実験 1] 6 週齢オス ICR マウスに 10 mg/kg azoxymethane (AOM) を腹腔内投与し、1 週間後から 1 週間 2% dextran sulfate sodium (DSS) を飲水投与した。その後、A 群（基礎食[クレア、CA-1]のみ）、B 群（200 ppm losartan 単独群）、C 群（1000 ppm aspirin 単独群）、D 群（200 ppm losartan + 1000 ppm aspirin 併用群）に分け、losartan および aspirin を混餌投与した。第 8 週、11 週、14 週で屠殺し、大腸ポリープ/腫瘍の発生率、発生数、体積を計測した。腫瘍の体積は長径と短径を計測し回転楕円体として近似した。腫瘍は病理組織学

的に検索を加え浸潤腫瘍の発生率を検討した。なお、200 ppm Losartan 投与後の腎 renin、AT1、AT2 の mRNA 転写量がそれぞれ 25 倍、7 倍、17 倍に増加しており、少なくともこの濃度の Losartan により、マウスにおける AT1 の阻害を確認した。大腸粘膜の一部を採取し、total RNA を抽出し、matrix metalloproteinase-2 (MMP-2)、fibroblast growth factor-2 (FGF-2)、Survivin、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、interleukin-1 β (IL-1 β) の発現量を相対的定量的 RT-PCR 法により解析した。Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA 量を内部標準とした。[実験 2] 6 週齢 Apc^{min/+} マウスに 2% DSS を飲水投与し、control 群 (基礎食のみ)、130 ppm losartan 投与群に分けて、8 週間混餌投与後屠殺し、生存率、腫瘍体積を計測した。

(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

[実験 1]

1) 大腸腫瘍発生率と発生数 : ICR マウスに AOM, DSS 投与後 8 週、11 週、14 週に

おいて、各群の腫瘍発生率は 100% と各群に差は認められなかった。14 週における腫瘍発生数は A, B, C, D 群それぞれ 19.0 \pm 1.7、17.4 \pm 1.5、20.4 \pm 0.5、20.0 \pm 1.0 個/個体 (平均 \pm SE) と各群に有意な差は見られなかった。

2) 大腸腫瘍体積 : 第 14 週の腫瘍の体積を比較した。30mm³ 以上の大きさの腫瘍数は、A-D 群それぞれ、112.2 \pm 22.4、48.9 \pm 8.1、50.8 \pm 4.5、51.9 \pm 5.8 mm³ (平均 \pm SE) で、A 群に比べて、B、D 群で有意に腫瘍の体積が小さく、腫瘍の増殖抑制が認められた (それぞれ、P<0.01、P<0.05)。

3) 浸潤腫瘍発生率 : 粘膜下層に浸潤する腫瘍は、A, B, C, D 群それぞれ、30% (6/20)、30% (6/20)、5.9% (1/17)、4.5% (1/22) と、A 群に比べて losartan+aspirin 併用の D 群で有意に減少した (P<0.05)。

4) 遺伝子発現の変化 : Losartan 投与によって、MMP-2 (A 群を 1 とした時の相対値は、B, C, D 群それぞれ 0.53, 0.57, 0.46; A vs. B, P<0.05; A vs. D, P<0.01)、FGF-2 (A 群を 1 とした時の相対値 : B, C, D 群それぞれ 0.31, 0.56, 0.40; A vs. B, P<0.05; A vs. D, P<0.01)、Survivin (A 群を 1 とした時の相対値 : B, C, D 群それぞれ 0.47, 0.96, 0.81; A vs. B, P<0.05) 遺伝子の mRNA 発現が有意に減少した。また、Losartan+Aspirin 複合投与によって、TNF- α (A 群を 1 とした時の相対値 : B, C, D 群それぞれ 1.6, 0.70, 0.35; A vs. D, P<0.05)、IL-1 β (A 群を 1 とした時の相対値 : B, C, D 群それぞれ 0.99, 0.40, 0.51; A

vs. D, $P < 0.05$)の発現が有意に低下した。

[実験 2]

5) Losartan による Min マウスの生存率の改善: $Apc^{min/+}$ マウスに DSS の投与後 4 週から 8 週間の生存率は、control 群 ($n=10$, Median survival=12.5 週) が losartan 投与群 ($n=6$, Median survival=14 週) より有意に低下した($P < 0.05$)。

6) 大腸腫瘍体積: $Apc^{min/+}$ マウスでは 10mm^3 以上の大きさの腫瘍は、Control 群 ($49.3 \pm 8.8 \text{mm}^3$) に比べて losartan 群 ($15.9 \pm 1.7 \text{mm}^3$) では有意に腫瘍の増殖抑制が認められた($P < 0.005$)。

D. 考察

Losartan により Ang II receptor である AT1 を拮抗することによって、MMP-2、FGF-2、Survivin の発現が抑制され、さらに aspirin との複合投与によって TNF- α や IL-1 β の発現も抑制された。その結果、腫瘍の増殖抑制や浸潤の抑制に至ったと考えられた。

E. 結論

Losartan と aspirin が協調的に働き、抗炎症作用、さらには腫瘍促進の抑制作用を発揮したと考えられた。いずれも広くヒトに使用されている薬剤で安全性も確立していることから、臨床における抗腫瘍効果が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Toyoda, T., Tsukamoto, T., Takasu, S., Hirano, N., Ban, H., Shi, L., Kumagai, T., Tanaka, T., Tatematsu, M. Pitavastatin fails to lower serum lipid levels or inhibit gastric carcinogenesis in helicobacter pylori-infected rodent models. *Cancer Prev. Res. (Phila, PA)*, 2: 751-758 (2009).
- (2) Toyoda, T., Tsukamoto, T., Takasu, S., Shi, L., Hirano, N., Ban, H., Kumagai, T., Tatematsu, M. Anti-inflammatory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE), a nuclear factor-kappaB inhibitor, on Helicobacter pylori-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Int. J. Cancer*, 125: 1786-1795 (2009).

2. 学会発表

- (1) 時 亮、塚本徹哉、豊田武士、高須伸二、齋藤典子、齋藤亜弓、立松正衛、Angiotensin II 受容体拮抗薬 Losartan の大腸癌予防効果に関する研究、がん予防大会 2009 名古屋 (第 16 回日本がん予防学会総会) 抄録集、名古屋、(2008 年 5 月)
- (2) Shi L, Tsukamoto T, Toyoda T, Takasu S, Saito N, Saito A, Tatematsu M, Effect of angiotensin II receptor antagonist Losartan in preventing colorectal cancer, 第 68 回日本癌学会学術総会、68th Annual Meeting of the Japanese Cancer

Association –Proceedings–、p. 74、
横浜、(2009年10月)

- (3) 時 亮、豊田武士、高須伸二、齋藤典子、齋藤亜弓、立松正衛、塚本徹哉、
Angiotensin II 受容体拮抗剤 Losartan に
よるマウス大腸癌の予防効果、第26回
日本毒性病理学会総会及び学術集会、
p.29、金沢(2010年2月)

G. 知的所有権の取得状況

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

大腸がん発症におけるメタボリックシンドロームの影響

分担研究者 河田純男 山形大学 副学長・理事

研究要旨 低アディポネクチンが大腸腺腫に加えて大腸癌のリスク増加に関連しているかについて、他の代謝関連因子を含めて検討した。腺腫 47 例、早期癌 34 例、進行癌 17 例、対照 26 例の男性を対象として、背景因子、血糖、脂質、インスリン、IGF-1、アディポネクチン等について対照を上下 2 群に分け、各疾患のオッズ比を多重ロジスティック回帰で検討した。その結果、多変量解析にて腺腫群および早期癌群ではアディポネクチン低値のみが有意なオッズ比の上昇を呈した。しかし進行癌において低アディポネクチンは有意なオッズ比の上昇を呈しなかった。結論として、アディポネクチンの低下は大腸腫瘍（腺腫と早期癌）のリスク上昇に關与することが示唆された。

A. 研究目的

我々は、低アディポネクチン血症と内臓脂肪面積の増大、さらにはインスリン抵抗性の存在が大腸腺腫のリスク上昇に強く關与することを報告してきた (Otake S et al, Clin Cancer Res, 2005)。そこで低アディポネクチンが大腸腺腫のみならず、早期大腸癌あるいは進行大腸癌のリスクに關与するか否かを改めて検討すべきと考えた。また同時にアディポネクチンに加えて、インスリン抵抗性あるいはメタボリック症候群に關与する各種の代謝因子を含めて検討した。これらは、大腸腫瘍発生のメカニズムを明らかにすることに加え、予防法の確立に道を開くものと考えた。

B. 研究方法

本研究は山形大学医学部倫理委員会の承認を得て施行され、全ての対象者から文書による同意をいただいた。

山形大学医学部附属病院において、大腸内視鏡検査を受けた男性患者において、対照群 26 名、腺腫 47 名、早期癌 34 名、進行癌 17 名の同意を得て採血を行い、各群における背景因子 (BMI、血圧、アルコール摂取、喫煙)、アディポネクチンを含む代謝に關連した因子 (血糖、中性脂肪、総コレステロール、高感度 CRP、インスリン、IGF-1、IGF-BP3、レプチン、レジスチン) を測定した。対照における各因子を上下 2 群に分け、各因子ごとの腺腫、早期癌、進行癌におけるオッズ比を求め、ロジスティック回帰分析を行った。

C. 研究結果

腺腫群において、単変量解析では中性脂肪の高値と低アディポネクチンが有意にオッズ比の上昇を認めたが、多変量解析では低アディポネクチンのみが有意なオ

ッツ比の上昇を呈した (OR 5.762 (95%CI 1.683-19.739), p=0.005)。早期大腸癌群において、単変量解析では、BMIの上昇、中性脂肪の高値、低アディポネクチンにおいて、有意なオッズ比の上昇をみとめたが、多変量解析では、腺腫と同様に低アディポネクチンのみが有意なオッズ比の上昇を呈した (OR 4.495 (95%CI 1.090-18.582), p=0.038)。その一方で、進行癌においては、低アディポネクチンは有意なオッズ比の上昇を呈さず、単変量解析にて収縮期血圧のみが有意なオッズ比の上昇を呈した。

D. 考察

従来報告では大腸腺腫においては高中性脂肪や肥満 (BMI 上昇) がリスク因子とされてきたが、今回我々の検討では腺腫および早期大腸癌のリスクについては、低アディポネクチンがもっとも強く関連していることが示された。本検討は、病院症例かつ男性のみであるために、今後は女性例や一般検診の多数例でも検証していく必要があると思われた。今回は、インスリン抵抗性の指標としてHOMA-IRやレジスチン、レプチンを含めて検討したが、リスク因子としては有意な結果にはいたらなかった。しかしながらこれらの因子も関与が否定された訳ではなく、今回病院例であるために比較的平均年齢が高いが、今後年齢を考慮した解析も必要になると思われた。一方、進行癌では、低アディポネクチンが関与しなかったが、これは栄養

障害など他の因子の関与を今後検討していく必要があると思われた。

E. 結論

血中アディポネクチンの低下は、大腸腫瘍 (腺腫と早期癌) のリスク上昇に関与することが示唆された。今回は横断研究であったことから、前向き症例対照研究にて詳細に検討していく必要があると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Otake, S., Takeda, H., Fujishima, S., Fukui, T., Orii, T., Sato, T., Sasaki, Y., Nishise, S., and Kawata, S. Decreased levels of plasma adiponectin associated with increased risk of colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 16: 1252-1257 (2010)

2. 学会発表

武田弘明, 大武さや香, 河田純男 メタボリック症候群と消化器癌—メタボリック症候群における大腸腺腫および癌のリスク. 第95回日本消化器病学会総会, 札幌市 (2009年5月)

G. 知的所有権の取得状況

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

大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

分担研究者 高山 哲治

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 消化器内科学 教授

研究要旨 ヒト大腸の微小病変であり、腺腫やがんの前病変と考えられる aberrant crypt foci (ACF) を対象に、スリダク、エトドラク、プラセボを短期間投与して抑制効果を調べる無作為抽出二重盲検試験を行った。すなわち、下部直腸に ACF を有する者を対象にスリダク 300mg/日、エトドラク 400mg/日、プラセボをそれぞれ2ヶ月間投与し、2ヶ月後に ACF 数の変化を評価した。その結果、スリダク群では ACF 数の有意な減少を認めしたが、エトドラク群、プラセボ群では変化を認めなかった。スリダク群では、1年後のポリープの発生も抑制された。ACF は、発がん予防薬の効果を短期間に評価しうる有用なマーカーであることが示唆された。

A. 研究目的

我々はこれまで、拡大内視鏡を用いて大腸の微小病変である aberrant crypt foci (ACF) を観察し、健常人、大腸腺腫及びがん患者の ACF を解析することにより、ACF が adenoma-carcinoma sequence の前病変である可能性を指摘した (N Engl J Med, 1998)。

本研究では、ACF を有する者を対象に、大腸発がん予防効果を有するとされるスリダク、エトドラク、およびプラセボを投与する無作為抽出二重盲検試験を行ない、ACF のバイオマーカーとしての有用性を評価した。

B. 研究方法

下部直腸領域に ACF を有する者を対象とした。ポリープを有する者は、内視鏡的に切除し、clean colon とした上で登録した。これらの症例に、スリダク 300mg/日、エトドラク 400mg/日、プラセボ(ラクトース 400mg/日)を2ヶ月間投与し、2ヶ月後に ACF 数を再度評価した。また、1年後のポリープの発生率も評価した。

「倫理面への配慮」

本研究は、当院の倫理委員会の承認を得て行なった。症例の登録は、本研究の目

的・意義を十分に説明し、文書による承諾を得た上で行なった。また、データ解析は、個人情報情報が漏洩しないように十分な管理を行なっている。

C. 研究結果

全体で189例を登録し、プラセボ群に62例、スリダク群に63例、エトドラク群に64例割り付けられた。治療前の ACF 数は、プラセボ群 7.12 ± 4.53 個、スリダク群 7.15 ± 3.98 個、エトドラク群 7.01 ± 3.89 個であった。2ヶ月後の ACF 数は、プラセボ群 6.35 ± 5.69 個、スリダク群 3.77 ± 2.86 個、エトドラク群 5.91 ± 4.93 個であり、スリダク群で有意に減少した。スリダク群においては、1年後のポリープの数、発生率ともに減少した。

D. 考察

本研究では、スリダクをわずか2ヶ月間投与することにより、ACF 数が有意に減少することが示され、ACF のサロゲートマーカーとしての有用性が示唆された。すなわち、これまでは大腸ポリープを評価病変として、発がん予防薬を1~3年間投与してその効果を評価したが、ACF を評価病変

とすることにより、短期間で評価しうることが明らかとなった。エトドラク群で、ACF数が有意に減少しなかった理由について、今後解析する予定である。

E. 結論

ACFは、大腸がん予防の臨床試験の良いバイオマーカーになることが示唆された。また、ACFを標的とした大腸がん予防の臨床試験は短期間で評価可能なため、少ない副作用で、かつ高いコンプライアンスの臨床試験を行なうことが可能になる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Takahashi H, Takayama T, et al.
Association of visceral fat accumulation and plasma adiponectin with rectal dysplastic aberrant crypt foci in a clinical population.

Cancer Sci. 2009 ; 100:29-32

2) Hayashi T, Takayama T, et al.
Suppressive effect of sulindac on branch duct-intraductal papillary mucinous neoplasms.

J Gastroenterol. 2009 ; 44:964-75

3) Takayama T, et al.
Chemoprevention of colorectal cancer-experimental and clinical aspects-.

J Med Invest. 2009 ; 56:1-5

2. 学会発表

永島裕之、高山哲治、他。
ACFを標的とした大腸癌化学予防の二重盲検無作為比較試験
第95回日本消化器病学会総会

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

分担研究者 石川秀樹 京都府立医科大学 特任教授

研究要旨：大腸癌の超高危険度群である家族性大腸腺腫症に対する発癌予防介入試験を企画、実施した。試験は家族性大腸腺腫症に対する多施設二重盲検無作為割付臨床試験であり、低用量アスピリン（100mg）腸溶錠1日1錠または偽薬を6～10カ月間投与する。主エンドポイントは、投与後の大腸腫瘍の増大の有無である。50人に参加を呼びかけ、35人から同意を得て試験を実施中、試験参加者に吻合部潰瘍や貧血を認めたため、さらなるエントリーはせず、試験は完遂された。2009年12月にキーオープンを行い、現在、データを解析中である。

A. 研究目的

本邦において大腸癌は急激に増加している。そのため、大腸癌発生予防法の開発が急がれる。発癌予防を行うためには、発癌の超高危険度群集団を対象に行う方が効率的である。そこで我々は、大腸癌の超高危険度群である家族性大腸腺腫症患者を対象に低用量アスピリン腸溶錠の有効性を評価する多施設無作為割付臨床試験を行った。

B. 研究方法

対象は家族性大腸腺腫症患者である。条件は、大腸内視鏡検査にて家族性大腸腺腫症と診断されたか、または、家系内に家族性大腸腺腫症患者がおり、APC 遺伝子診断により、APC 遺伝子異常を認めた者とする。その他の条件として、大腸粘膜が残

っていること、年齢16歳以上、悪性疾患や重篤な疾患を参加呼びかけ時点で持っていないことである。

大腸癌の予防法として食生活指導、低用量アスピリン錠（100mg/day）、プラシーボ錠を用いる二重盲検法による無作為割付試験を採用した。A群は食生活指導+アスピリン錠、B群は食生活指導+プラシーボ錠とする。

食事指導は、脂肪摂取量の適正化（総摂取エネルギー量のうち、脂肪のしめる割合：18歳未満23～27%、18歳以上：18～22%）、豚肉・牛肉は1日80gまで、1日あたり野菜350g以上、イモ類の摂取を勧める、飲酒は2合程度まで、飲酒後下痢のしない程度、BMI（体重(kg)/身長(m)²乗）が25以下、禁煙指導、精製していない穀類の摂取を勧める、である。これらの指導は、平日3日間連続記録式食事調査を用いて、栄養士の電話による食事内容聞き取り調査の成績から食事指導を行う。

運動指導は、週5回以上、1日30分から60分の乳酸上昇閾値程度の運動指導を行う。乳酸上昇閾値は、参加時に運動負荷試験により把握する。他に、情報提供として、大腸癌予防に関する最新情報の紹介をニュースレターの形式で行う。

大腸内視鏡検査を行ってから試験を開始し、次の大腸内視鏡検査まで試験薬を投与する。投与期間は6~10カ月とする。目標数は各群50人、全体で100人とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、厚生労働省や関連学会等が示す指針に従って実施する。参加施設はすべて各施設の倫理委員会の承認を得てから試験を開始する。参加呼びかけは面接により行い、インフォームドコンセントを得た場合、書面により記録を残す。参加を拒否しても一切の不利益を受けないこと、いつでも参加同意を取り消す権利を持つことなどを説明する。すべての個人情報や研究データは厳重な管理のもとに置き、守秘を徹底する。本試験研究者と独立した倫理モニタリング委員会を設置し、試験の進捗をモニターするシステムを整える。

C. 研究結果

倫理モニタリング委員会、健康保険組合連合会大阪中央病院医療倫理委員会による審査を受け、承認を得た。ドイツのバイ

エル本社より低用量アスピリン腸溶錠と偽薬を輸入し、両面アルミPTPシート包装を行った。大阪中央病院にて参加呼びかけを2007年5月より開始した。2008年8月までの16ヶ月間に50人に参加を呼びかけ、15人が拒否をした。拒否の理由は、継続して試験薬を服用するのが面倒、副作用が心配、妊娠希望、腰痛にてNSAIDs服用中、くも膜下出血既往、アスピリン服用希望などである。

試験薬の服用中、重篤な副作用の発生もなく順調に行われていたが、10人が試験終了時の内視鏡検査を受検した時点において、1人に貧血の進行(参加時Hb13.2、終了時Hb10.0)を認めたこと、1人に比較的大きな吻合部潰瘍を認めたことより、倫理モニタリング委員会を開催し、さらなるエントリーは中止、慎重に経過観察を行うこととした。

2009年3月時点で試験参加を同意したもののその後、交通事故のため大腸内視鏡検査が実施できず試験開始していない1人を除き34人が試験を開始、全員が試験を終了した。2009年12月にキーオープンを行い、現在、データの解析中である。

D. 考察

家族性大腸腺腫症は大腸にきわめて多数の腺腫が発生し、若年より大腸癌を発生する遺伝性疾患であり、原因遺伝子としてAPC遺伝子やMYH遺伝子が見出されている。本疾患と診断された場合、通常は大

腸癌の予防のため大腸摘除術が行われるが、大腸摘除により頻回の下痢が起こるため、患者の生活の質（QOL）は著しく低下する。また、術後にはデスモイドや水腎症の発症率が増加する。従って、手術を回避するために、腺腫の増大や大腸癌の発生を予防する方法の開発が強く望まれている。

また、分子生物学的に家族性大腸腺腫症と散発性大腸癌は発癌機序が類似するため、家族性大腸腺腫症に対する発癌予防知見は、散発性大腸癌の予防法の開発にも有用な知見となり得る。

これまでに、われわれは食事指導や生活指導、食品成分の投与などによる臨床試験を行い、いろいろな大腸癌予防に関する知見を得てきたが、それらによる予防効果は比較的軽度であった。そこで今回は、薬剤を用いたさらに強力な大腸癌予防法の開発を行うことにした。

NSAIDsの一つであるインドメサシン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 らが最初に見いだして以来、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と報告されている。また、人においても、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、症例対照研究やコホート研究で報告されている。これらより、アスピリンを含む NSAIDs は大腸癌を予防する可能性があると考えられたが、NSAIDs を長期間服用すると消化管傷害による潰

瘍や出血などの副作用が発生する問題がある。その対策として、プロドラッグのためその他の NSAIDs に比べて消化管傷害が比較的少ないとされるスリダクを用いた臨床試験が行われてきた。スリダクを用いた臨床試験は 1983 年に Waddell ら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、それらの報告のすべてで、スリダクは家族性大腸腺腫症のポリープを退縮させると報告されている。その機序として、スリダクがアポトーシスを亢進させることが考えられている。

しかし、スリダクやその他の NSAIDs の投与により、消化管の潰瘍や穿孔などの重篤な副作用が報告されている。さらに、スリダクを投与してポリープは退縮したにも関わらず、進行癌が発生したとの症例が複数、報告されている。本当にスリダクが大腸癌を予防するかどうかは、長期間の追跡調査などにより慎重に検討する必要がある。

正常の粘膜では発現していない cyclooxygenase-2 (COX2)が大腸癌組織では発現していることから、COX2が大腸癌に関与していると考えられること、正常の消化管粘膜には COX2 は発現していないため COX2 を阻害しても消化管粘膜に傷害を与える可能性が低いことなどから、最近になり、celecoxib や rofecoxib などの