

2009240(3B (1/3))

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

がん化学予防剤の開発に関する基礎及び臨床研究

平成19年度～21年度 総合研究報告書

I. 総合研究報告

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

(1 / 3 冊)

研究代表者 武藤 倫弘

平成22(2010)年3月

目 次

I. 総合研究報告

がん化学予防剤の開発に関する基礎及び臨床研究

< 1 >

武藤 倫弘

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

< 3 1 >

III. 研究成果の刊行物・別刷

< 分冊 2、3 >

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究）
総括研究報告書

がん化学予防剤の開発に関する基礎及び臨床研究

研究代表者 武藤 倫弘 国立がんセンター研究所
がん予防基礎研究プロジェクト 室長

研究要旨 本研究は、がんのハイリスクグループの発がん要因を把握するとともに、食品素材及び医薬品を対象としたがん予防剤、がん予防方法を開発し、臨床への応用を目指すことを目的としている。平成 19-21 年度の研究成果としては、高脂血症状態を呈する Min マウスにおいて低下している lipoprotein lipase を遺伝子改変により活性化をさせると高脂血症状態が改善され、腸ポリープ生成が抑制されることを見出し、また、アディポネクチン (APN) を欠損させると腸ポリープ生成が促進されることを見出した。大腸発がん促進に寄与すると考えられる細胞内脂肪滴及びその吸収に係る low density lipoprotein 受容体 (LDLR) の発現を Min マウスの腸ポリープ上皮にて見出した。さらに LDLR 欠損 Min マウスを作成すると腸ポリープ数が減少することがわかった。アゾキシメタン (AOM) + デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 処理した LDLR ホモ欠損マウスにおける大腸腺がんの発生頻度、発生個数、腫瘍体積はいずれも野生型マウスと比べ抑制された。AOM+DSS 処理した ICR マウスに ARB とアスピリンを併用すると、浸潤した大腸腫瘍の発生率も減少した。横断研究によって、APN の低下は、ヒト大腸腫瘍のリスク上昇に関与することが示唆された。潰瘍性大腸炎 (UC) 患者において、aberrant crypt foci (ACF) 発生には、*p16* 遺伝子のメチル化が寄与し、更に *p53* 変異が加わると dysplasia になると考えられた。また、ACF は臨床試験の良いマーカーになると考えられた。家族性大腸腺腫症患者に対する予防介入試験として、低用量アスピリン腸溶錠 (100 mg/day) による試験をほぼ終了し、現在、解析中である。多発性大腸腺腫症患者に対する低用量アスピリン腸溶錠の効果を評価する臨床試験はエントリーが終了し、進行中である。*rasH2* マウスは 4-NQO 誘発舌、食道発がんに高感受性であるが、スタチン製剤を投与すると舌・食道発がんが抑制されることがわかった。APN 欠損マウスに高脂肪食を与えると肝臓に炎症、一部には腺腫が形成され、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の良いモデルになることが示された。アンジオテンシン受容体阻害剤 (ARB) による TRAP ラット前立腺発がんに対する抑制メカニズムとして MAPK シグナル伝達経路の活性化抑制、カスパーゼ活性化を介するアポトーシスの亢進、ERB を介したアンドロゲン受容体の転写活性抑制が考えられた。ARB を服用している前立腺がん患者の約 3 割に腫瘍マーカーである PSA の減少/安定化が認められた。前立腺全摘後の患者に ARB を投与すると、PSA の再上昇は緩やかになり、AR 陽性患者では抑制効果が 6 倍に延長した。

分担研究者

武藤倫弘	国立がんセンター研究所	室長
若林敬二	国立がんセンター研究所	所長
田中卓二	金沢医科大学	教授
河田純男	山形大学	副学長
高山哲治	徳島大学	教授
石川秀樹	京都府立医科大学	特任教授
徳留信寛	国立健康・栄養研究所	理事長
塚本徹哉	三重大学	准教授
窪田直人	東京大学大学院	特任准教授
高橋 智	名古屋市立大学大学院	准教授
上村博司	横浜市立大学	准教授
今岡達彦	放射線医学総合研究所	研究員
山本精一郎	国立がんセンター がん対策情報センター	室長

A. 研究目的

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

B. 研究方法

(1) 大腸発がん抑制物質の検索

[リポ蛋白リパーゼの腸ポリープ生成に対

する影響] トリグリセリド (TG) の分解酵素 lipoprotein lipase (LPL) の内因性阻害因子である angiopoietin-like3 (Angptl3) を欠損した C57BL/6J マウスと Min マウスを掛け合わせるにより *Angptl3* と *Apc* 遺伝子を欠損したダブルノックアウトマウスを作成した。雄、雌各々10週齢、15週齢において解剖を行い、各々のマウスにおける小腸及び大腸ポリープの発生状況(腸の腺腫数及び大きさ)、血清 TG、総コレステロール量及びアディポサイトカイン値を測定した。また、アディポサイトカインの発現解析を RT-PCR 法で行った。

[アディポネクチンの腸ポリープに対する影響] アディポネクチン (APN) を欠損した C57BL/6J マウスと Min マウスとを掛け合わせるにより APN と *Apc* 遺伝子を欠損したダブルノックアウトマウスを作成した。雄、雌各々9週齢、12週齢において解剖を行い、各々のマウスにおける小腸及び大腸ポリープの発生状況、血清 TG、総コレステロール値及びアディポサイトカイン量を測定した。

[脂肪滴及び LDL 受容体発現の検討] 6週齢の雌 Min マウス及びその野生型マウスを入荷し、それぞれ5匹ずつ15週齢まで飼育した。腸ポリープ内の脂肪滴を Oil-red O 染色及び電子顕微鏡にて検討した。また、low density lipoprotein 受容体 (LDLR) の局在を免疫組織化学染色にて検討し、更に、LDLR の発現量を real-time PCR にて評価した。

[LDLR 欠損 Min マウスの作成とその評価] LDLR を欠損した C57BL/6J マウスと Min マウスを掛け合わせるにより LDLR と *Apc* 遺伝子を欠損したダブルノックアウトマウスを作成した。雄、雌各々、10週齢において解剖を行い、各々のマウスにおける小腸及び大腸ポリープの発生状況、血清 TG 及び総コレステロール量を測定した。

[LDL 受容体欠損マウスにおける大腸腫瘍生成の抑制] 雄性 LDLR ホモ欠損マウス、その野生型マウスに AOM (10 mg/Kg 体重、i. p.) 投与後、一週間 2% DSS を飲水投与し、20週後に病理学的、血清学的解析を行った。

[バルプロ酸の大腸発がんの抑制] 雄性 ICR マウスを用い、AOM (10 mg/kg 体重、i. p.) /DSS (2%飲水投与) 投与後に 125、250、1000 ppm の抗癲癇薬 valproic acid (VA) を15週間混餌投与して、病理学的解析を行った。VA には、GSK-3 β 活性抑制、分化誘導作用、PPAR 活性化作用が知られている。

[ロサルタンの大腸発がんの抑制] 6週齢オ

ス ICR マウスに AOM+DSS、Min マウスに DSS を投与し、ロサルタン (LO) とアスピリンを混餌投与した。第14週で屠殺し、大腸腫瘍を病理組織学及び分子生物学的に検索した。

(2) 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

病院症例において、大腸内視鏡検査を施行した男女(対照 27例、腺腫 64例、早期がん 39例、進行がん 26例)の患者背景、血中 APN 値及び各種代謝関連因子を検討した。また、男性症例(対象 26例、腺腫 47例、早期がん 34例、進行がん 17例)において、同様に背景因子及び代謝関連因子を検討した。

(3) 大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

[UC 患者における ACF の解析と発がんとの関係] 拡大内視鏡を用いて潰瘍性大腸炎 (UC) 患者の ACF を観察し、生検した ACF 組織を用いて遺伝子解析を行なった。また、UC 患者 37例 (11例は dysplasia, 2例はがんを合併) を対象に ACF を観察し、健常人やクローン病患者における ACF 数と比較した。

[ACF を標的としたスリンドク及びエトドラクの無作為抽出二重盲検試験] 下部直腸領域に ACF を有する者を対象に、スリンドク 300 mg/日、エトドラク 400 mg/日、プラセボ(ラクトース 400 mg/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。

(4) 家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

大腸がんの予防として食生活指導を家族性大腸腺腫症患者全員に実施した上で、低用量アスピリン (100 mg/day) 腸溶錠を投与する群と偽薬を投与する群に分け、二重盲検法による無作為割付試験を行った。投与期間は6から10ヶ月間である。主エンドポイントは、大腸腫瘍の増減とし、目標数は各群50人、全体で100人とした。

(5) 多発性大腸腫瘍患者の発がん予防

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

発生の有無などである。大腸腫瘍の発生に関しては2年目の大腸内視鏡検査後も1年間観察し、評価する。

(6) 舌発がん抑制物質の検索

雌雄の Tg-rasH2 とその野生型マウスに 20 ppm の 4-NQO を 2~8 週間飲水投与し、24 週後に舌・食道の病理組織学的・免疫組織化学的解析(プロスタグランジン E₂ 受容体:EP1、EP2、EP3、EP4 の解析)を行った。また、4-NQO 投与 Tg-rasH2 にて pitavastatin の post-initiation 相混餌投与(1、5、10 ppm で15週間)の発がんへの影響を検討した。

(7) 胃発がん抑制物質の検索

5 週齢の雄性スナネズミに *H. pylori* を強制胃内投与し、10 ppm MNU を 20 週間飲水投与した。その後、pitavastatin あるいは Caffeic acid phenethyl ester (CAPE、NFκB 阻害剤)、アスピリンを混餌投与した。実験 52 週で屠殺し、腺胃組織所見、血清脂質値、炎症性サイトカインの発現量を検討した。

(8) 脂肪細胞とアディポカイン

中枢における APN の役割を検討するため、以前に樹立した APN 欠損マウスを使用した。視床下部における APN 受容体 (AdipoR1/AdipoR2) の発現は Taqman にて、AMPK 活性についてはそのリン酸化の程度で評価した。また、髄液中の APN の濃度については ELISA にて、またそのフォームを Western blotting にて検討した。

抗肥満薬リモナバンの抗糖尿病作用における APN の役割を検討するため *ob/ob* マウス、APN 欠損 *ob/ob* マウスに対して、リモナバン 30 mg/kg BW 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。

NASH における APN の役割を検討するため APN 欠損マウスに高脂肪食を負荷し、血清生化学、血清脂質、肝臓のトリグリセリド含量、炎症や線維化、酸化ストレスマーカー、組織学的解析を行った。

(9) 前立腺発がん抑制物質の検索

3 週齢の雄性 TRAP ラットにテルミサルタン (TS ; 2, 10 mg/kg/day)、及びカンデサルタン (CS ; 2, 10 mg/kg/day) を飲料水投与し、さらに ARB を投与しない比較対照群を設けた。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。ARB による発がん抑制効果の機序を解明する目的で、腹葉前立腺組織を用いてウエスタン解析、マ

イクロアレイ解析および前立腺がん細胞を用いて機能解析を行った。

(10) 前立腺がん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

再燃前立腺がん患者に CS を投与し、PSA 値を測定した。前立腺組織での AT1 レセプター (AR)、アンジオテンシン転換酵素 (ACE)、アンジオテンシノーゲンの発現を real-time PCR を用いて検討した。

前立腺全摘術後に PSA が 0.2 ng/ml 以上になった症例を対象に、オルメサルタンを投与した。対象患者は 15 症例で、診断時 PSA は平均 7.53 ng/ml、グリソンスコア 6 点は 3 例、7 点は 7 例、8 点以上は 4 例、不明は 1 例であった。病理病期は T2 が 13 例、T3 は 1 例、不明は 1 例であった。PSA 倍化時間 (PSA-DT) で換算し、オルメサルタン投与前後で比較した。さらに前立腺組織における AR 陽性と陰性の患者における PSA-DT を比較した。

(11) 乳腺発がん抑制物質の検索

3 週齢雌性ラットに高脂肪あるいは低脂肪飼料を与え、7 週齢時に前者を易肥満および抗肥満個体に分けた後、全個体に 4Gy の γ 線を照射した。直後より 150 ppm の L0 及び 25 ppm の CS を持続飲水投与し、30 週後に腫瘍生成を評価した。更にマイクロアレイ、定量的 PCR および免疫組織化学染色を用いた。

(12) 乳がんの予防要因の解析

日本人の乳がんリスクに関する疫学研究とゲイルモデルを参考として予測に用いるためのリスク因子を選択した。次に、これらのリスク因子の組み合わせから予測モデルを設定した。また、2000 年の地域がん登録全国推計値と人口動態統計を利用して、年齢による乳がんリスクの違いと乳がん以外で死亡する確率(競合リスク)を考慮した下で予測確率を推定した。

6 つの候補モデルからより予測力が高いモデルを選択するために厚生労働省多目的コホート研究 (JPHC study) コホート I データ (21,853 人) を用いて、クロスバリデーションにより各モデルの予測力を評価した。最も予測性能の良いモデルを 1 つ選択し、コホート I データとは独立な JPHC study コホート II データ (32,523 人) を用いて妥当性評価を行った。

(倫理面への配慮)

人を対象とする研究はすべて厳密なインフォームド・コンセントを本人から得て、倫理

委員会の承諾後に進めている。有害事象が生じて研究を中止する場合も本人に十分な説明をし、了解を得ている。また、動物実験は各研究者の所属施設の実験動物取り扱い（倫理）規定を遵守して行っている。

C. 研究結果

(1)大腸発がん抑制物質の検索

【リポ蛋白リパーゼの腸ポリープ生成に対する影響】 これまでの報告と同様に Min マウス血清 TG 値は加齢とともに上昇した(15 週齢の雄 151.9 mg/dl)。 *Angpt13* を欠損させた 15 週齢 Min マウスにおいて著明な血清 TG 値の減少が認められ、雄の *Angpt13* ヘテロ、ホモ欠損 Min マウスでは 69.0 と 6.6 mg/dl に減少した。

15 週齢における雄 Min マウスの腸ポリープ数は 80.1 個であった。*Angpt13* ヘテロ欠損 Min マウスにおける腸ポリープ数は、コントロールの Min マウスの 23% に減少した。予想に反して、*Angpt13* ホモ欠損 Min マウスにおける腸ポリープ数は、コントロールの Min マウスの 143% に増加していた。雌のマウスにおいても同様な結果が得られた。15 週齢の雄 *Angpt1-3* ヘテロ欠損 Min マウスにおける *Pai-1* の発現が Min マウスと比べ顕著に減少し、ホモ欠損させると野生型マウスの発現量に近付くことがわかった。

【アディポネクチンの腸ポリープに対する影響】 9、12 週齢における雄 Min マウスの腸ポリープ数はそれぞれ 40.4 個、75.7 個であった。雌も同様な個数であった。APN ヘテロ欠損 Min マウスにおける腸ポリープ数は、9 週齢の雄でコントロールの Min マウスの約 2 倍に増加していた(雌は約 3 倍)。12 週齢マウスにおいても腸ポリープは増加しており、雄雌とも約 2 倍に増加していた。APN ホモ欠損 Min マウスにおける腸ポリープ数は、9 週齢の雄でコントロールの Min マウスの約 3 倍に増加していた(雌は約 2 倍)。12 週齢マウスにおいても雄雌ともに約 2 倍に増加していた。

次に発がん促進に寄与す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- α 値、IL-6 値、MCP-1 値)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* 値が APN 量の減少に伴い増加した。その他の測定したアディポサイトカインにおいては、レプチン値に弱い減少傾向が見られたのみであった。

【脂肪滴及び LDL 受容体発現の検討】 Min マウスの小腸中位部と遠位部に対し Oil-red O 染色を行うと腸ポリープ上皮部に多数の大き

な脂肪滴を観察することができた。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。同様な結果を電子顕微鏡にて確認することができた。次に、免疫組織染色を行うと腸ポリープの外側上皮に強い LDLR の発現を認め、脂肪滴のある部位とほぼ一致して発現していることがわかった。Min マウスのポリープ部位の LDLR 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。

【LDL 受容体欠損 Min マウスの作成とその評価】 10 週齢雄の LDLR をホモ欠損させた Min マウスでは、血清 LDL 値がさらに上昇し、ホモ欠損マウスは野生型マウスの 2 倍になることがわかった。また、LDLR をヘテロ、ホモ欠損させた雄 Min マウスでは、1 匹当たりの平均腸ポリープ数はそれぞれ野生型の 85%、40%にまで減少することがわかった。雌も同様な結果であった。

【LDL 受容体欠損マウスにおける大腸腫瘍生成の抑制】 LDLR ホモ欠損マウスの大腸腺がん発生頻度(21%)・個数(1.43 個)はいずれも野生型マウス(80%、3.10 個)と比べ有意($p < 0.01$)に低値であった。腫瘍体積も野生型マウスに比べ、LDLR ホモ欠損マウスで小さかった。一方、LDLR ホモ欠損マウスの血清総コレステロール値、TG 値、APN 値は野生型マウスに比べ有意に高かった。

【バルプロ酸の大腸発がんの抑制】 VA 投与により大腸腺がんの発生率(個数/大腸)は、AOM/DSS 群:64%、2.21 個に比べ、AOM/DSS/125 ppm VA 群:70%、1.40 個 AOM/DSS/250 ppm VA 群:60%、1.50 個、AOM/DSS/1000 ppm VA 群:45%、0.73 個と減少傾向を示した。一方、ACF の発生個数は、AOM/DSS 群(2.21 個)に比べ、125 ppm および 500 ppm VA 投与で有意($p < 0.05$)な減少が見られた。

【ロサルタンの大腸発がんの抑制】 ICR マウスでは、LO 投与により大腸腫瘍の増殖が抑制された。Min マウスでは、LO 投与により生存率の改善が見られた。LO+アスピリン併用群で TNF- α 、IL-1 β が低下し、浸潤した大腸腫瘍の発生率も有意に減少した。

(2) 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

血中 APN 値($\mu\text{g/ml}$)は、対照、腺腫、早期がん、進行がんにおいてそれぞれ 13.3 ± 7.2 、 10.2 ± 6.8 、 8.5 ± 4.7 、 11.8 ± 9.4 であり腺腫、早期がんでは有意に低値であった。また、メタボリック症候群の因子が増すにつれて、腫瘍

の比率が順次増加した。

多変量解析を行うと腺腫群及び早期がん群では、APNが低いことのみが腫瘍のオッズ比を有意に上昇させた（それぞれ OR 5.762 [p=0.005], 4.495 [p=0.038]）。

(3) 大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

[UC患者におけるACFの解析と発がんとの関係] UC患者のACFは、非UC患者のACFと異なり、*K-ras*や*APC*の変異を認めず、*p16*のメチル化を高率に認めた。UC患者では、健常人やクローン病患者に比べてACF数が有意に多かった(5.6±3.1個)。また、UC患者のうち、*dysplasia*を合併した11症例における平均ACF数は9.3±5.7個であり、*dysplasia*の無い26例(4.1±2.8個)に比べて有意に増加しており、特にがんを合併した症例の平均ACF数が多かった。

[ACFを標的としたスリダク及びエトドラクの無作為抽出二重盲検試験] 189例登録し、プラセボ群に62例、スリダク群に63例、エトドラク群に64例を割り付けた。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。

(4) 家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

2007年5月より参加を呼び掛けした。2008年8月までの16ヶ月間に50人に参加を呼び掛け、35人が参加を同意した。

試験期間中は、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(内視鏡検査を受検した時点)に、1人に貧血の進行(参加時Hb13.2、終了時Hb10.0)を認め、1人に比較的大きな吻合部潰瘍を認めた。そのため、さらなるエントリーは中止した。

参加者の一人は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が開始できなかった。そのため34人のみ試験を終了した。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。

(5) 多発性大腸腫瘍患者の発がん予防

倫理委員会の承認が得られた施設から参加呼び掛けを開始し、2007年1月から2009年7月末まで31カ月間参加を呼び掛けた。491人

に参加を呼び掛け390人(79%)が参加同意しエントリーは終了とした。

2010年1月末の時点にて、2年間の試験薬服用を終了した者は202人である。試験参加中の重篤な副作用として出血性十二指腸潰瘍、スティーブンス・ジョンソン症候群、硬膜下血腫の3例があるが、キーオープンしたところ全例プラセボ群であった。

2011年7月末に試験薬の服用が終了する予定である。

(6) 舌発がん抑制物質の検索

4-NQOを8週間投与することによりTg-rasH2マウスの舌、食道に腫瘍が高率に発生した。舌腫瘍の発生率は100%、発生個数は2.80個、また、食道腫瘍の発生率は60%、発生個数は1.40個であった。発生した舌・食道の異形成、腫瘍(乳頭腫、扁平上皮がん)でEP1、EP2が高発現していた。さらに、10ppm PVSの混餌投与により、舌腫瘍の発生頻度(38%)、個数(0.75個)は無処置群(100%、2.20個)に比べ有意(p<0.05)に低下し、EP1、EP2発現や増殖活性、PGE₂量が低下した。食道腫瘍抑制は軽度だった。

(7) 胃発がん抑制物質の検索

Pitavastatin投与によりスナネズミ胃がん発生率に有意な変化は見られなかった。また、炎症性サイトカインの発現量にも変化はなかった。血清コレステロール値は、*H. pylori*感染群において有意に上昇した。

CAPE投与により胃がん発生率、抗*H. pylori*抗体価、及び炎症性サイトカインの低下が見られた。また、組織学的にも炎症の改善が見られた。

(8) 脂肪細胞とアディポカイン

APNは末梢より髄液中に移行するが、血清中とは異なり、多量体構造をとる。また、血中及び髄液中のAPN濃度や視床下部AdipoR1の発現は絶食時に高く、APNは、視床下部弓状核のAMPK活性化を介して食欲を増加させ、エネルギー消費を低下させた。

リモナバンによるインスリン抵抗性改善作用にはAPN依存的経路と非依存的経路があることが明らかとなった。リモナバンは、APN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。

普通食を与えてもAPN欠損マウスは、野生型マウスに比べ肝トリグリセリド含量が1.6倍増加し、高脂肪食負荷を行うと肝に炎症が生じ、中心静脈周囲の線維化や、腺腫の形成

が一部に認められた。このとき、APN 欠損マウスでは肝 TNF α 、procollagen α I の発現がそれぞれ約3倍、約4倍に増加していた。

(9) 前立腺発がん抑制物質の検索

高濃度 TS、CS 投与によって、腹葉では前立腺発がん発生頻度は低下しなかったが、側葉では対照群に比較して有意に低下した。しかしながら、腹葉では前がん病変である PIN から腺がんへの進展に対する抑制がみられた。更に、腹葉ではアポトーシスの亢進がみられ、活性化カスパーゼ3、7の増加、リン酸化MAPKの低下、アンドロゲンレセプター蛋白発現の低下が見られた。マイクロアレイ解析ではER β がTS投与群で発現上昇していた。LNCaP細胞株においてもARB処置によりER β 発現増加し、選択的ER β アゴニストであるdiarylpropionitrile (DPN)あるいはbiochanin A (BCA)によりその増殖が抑制された。LNCaP細胞にER β を強制発現させるとPSAプロモーター活性が抑制され、DPNおよびBCAによってもその活性は抑制された。

(10) 前立腺がん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

CS投与で再燃がん患者の23例中8例(34.8%)にPSA値の減少が見られた(6例は50%以上の低下)。半数にphysical statusの改善が認められた。正常前立腺、未治療前立腺がんおよび再燃がん組織におけるAR、ACE、アンジオテンシノーゲンのmRNA発現はどれも再燃がん組織で有意差をもって高く発現していた。

オルメサルタン投与前のPSA-DTは平均323.5日であり、投与後は平均751.6日と2倍以上に延長した。AR陽性であった症例と陰性であった症例のオルメサルタン投与前後PSA-DTを比べると、AR陰性症例の投与前後のPSA-DTは約2倍であったが、AR陽性症例では約6倍に延長した($p < 0.01$)。

(11) 乳腺発がん抑制物質の検索

〔肥満関連乳がんモデルの確立〕易肥満群では、抗肥満群・低脂肪食群と比較して、乳がんを触知できる時期が早くなり、個体あたりの腫瘍総重量が増加した。

〔がん関連遺伝子の探索〕レニン・アンジオテンシン系(RAS)遺伝子の発現を検討したところ、AR遺伝子(*Agtr1a*)の発現が、高脂肪食を与えたラットの腫瘍で亢進していた。免疫組織化学染色を行うと、上皮組織および間質での局在が認められた。

〔ARBの効果〕易肥満個体の腺腫発生率は、

非投与群(90%)と比べL0投与群(60%)で有意に抑制された。しかし、乳がんは非投与群、L0投与群、CS投与群の60~70%に発生し、投与によって抑制されなかった。

〔肥満関連乳がんの成立基盤〕易肥満個体に発生した乳がんは、他個体の乳がんと比べて、インスリン受容体シグナル、糖取込み、タンパク合成に係る遺伝子が高発現していた。

(12) 乳がんの予防要因の解析

JPHC studyデータにおいて、ゲイルモデルで用いられているリスク因子の分布を検討した。初経年齢、家族歴の分布は、米国とは異なり偏っていた。また、生検回数は米国と異なり、日本では生検を受けている人自体がごく少数である。これらの理由からゲイルモデルをそのまま日本人へ適用することは困難であると考えられた。

コホートIデータを用いてクロスバリデーションを行い、初経年齢、初産年齢、乳がん家族歴、乳腺症あるいは乳腺腫瘍の既往歴(良性疾患既往歴)、BMIの5つのリスク因子を含むモデルを6つの候補モデルの中から選んだ。このモデルの妥当性評価をコホートIIデータで行った結果、ハイリスクと予測された対象者集団とそれ以外の集団との生存曲線は十分に分離されることが示された(ハイリスクを10年罹患率 $\geq 1\%$ と定義。ログランク検定で $p < 0.0001$)。一方、感度(10年以内に罹患した人のうちハイリスクグループに含まれた人の割合)、特異度(10年以内に罹患しなかった人のうちハイリスクグループに含まれなかった人の割合)はそれぞれ52.7%、59.4%であった。

コホートIIデータで予測される10年罹患率の分布をみると、0.5%~1%となる対象者が最も多く全体の56.7%を占めていた。予測10年罹患率が3%以上となるハイリスクな対象者は全体の0.2%であった。

D. 考察

(1) 大腸発がん抑制物質の検索

肥満、高脂肪食及び高脂血症は、大腸がんのリスクと相関することが疫学調査、動物実験により示唆されている。我々はこれまでに2種類のApc遺伝子欠損マウスの血清TG値がLPLの抑制とともに経時的に急激に上昇することを見出した。内因性LPL阻害因子であるAngpt13の欠損マウスを用いることにより、LPLを活性化させると、Angpt13ヘテロ欠損Minマウスでは血清TG値が野生型マウスに近づき、腸ポリープ生

成が著明に抑制されることがわかった。この結果は、高TG血症が腸ポリープ生成を亢進させていることを示唆している。しかし、Angptl3 ホモ欠損 Min マウスでは血清TG値が顕著に減少し、腸ポリープ生成は逆に促進されることがわかった。この時にメタボリック症候群において多く検出される線溶系の阻害因子である Pai-1 がマウスにて発現亢進していた。過去の検討にて Pai-1 阻害剤を Min マウスに投与することによって腸ポリープ数が減少することを示している。

APN 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、APN も大腸発がんに寄与することが考えられた。また、APN 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、AMPK の Pai-1 抑制作用が、APN 欠損マウスではなくなっていることも影響したと考えられる。これらの結果は APN 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。今後さらに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必要がある。

近年、ヒト大腸がん細胞に脂肪滴が蓄積していることが報告された。今回、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蓄積していることがわかった。これは摂餌飼料内の脂肪、また胆汁中の LDL 等が腸管と接しながら通過するためと考えられた。我々は脂質の吸収に係る LDLR が、脂肪蓄積と一致する部位に発現していることを見出した。さらに、腸ポリープに脂肪滴が蓄積すると COX-2 や Akt を介して腸ポリープの進展を促進する可能性を示すデータを得た。以上の結果を基として、LDLR 欠損 Min マウスの腸ポリープ生成を検討した。その結果、LDLR 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。LDLR 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た。

【LDL 受容体欠損マウスにおける大腸腫瘍生成の抑制】 LDLR ホモ欠損マウスでは血清コレステロールやTGの高値にも関わらず、AOM/DSS 大腸発がんに対する感受性が低く、LDLR の大腸発がんへの寄与が示唆された。Wnt とその受容体 frizzled との結合は LPLR ファミリーの LRP-6 により正の調節を受けているため、

LDLR 欠損が Wnt シグナルを減弱化する可能性もある。今後、他の大腸発がんモデル系での検討やヒト大腸がんの LDLR 発現と腫瘍細胞浸潤との関連など、更なる解析が必要である。予備的検討では、ヒト大腸がん組織の浸潤先端部では、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脂肪滴を認めている。

【バルプロ酸の大腸発がんの抑制】 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、ACF の抑制効果があり、用量相関を含め、更なる検討が必要である。

【ロサルタンの大腸発がんの抑制】 LO により AR 受容体を阻害することによって、MMP-2、FGF-2、Survivin の発現が抑制され、さらにアスピリン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、腫瘍の増殖や浸潤を抑制したと考えられた。

(2) 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

従来の報告では大腸腺腫においては高TG血症や肥満 (BMI の増加) がリスク因子とされてきた。本検討から、腺腫および早期大腸がんのリスク因子として、APN の低値が非常に強く関連していることが示された。また、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ではなかった。しかしながら、病院症例であるという特殊性や、比較的年齢が高い症例が多い点を考慮し慎重に評価するべきと思われた。一方、進行がんでは、APN の低値が関与しなかったが、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。

(3) 大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

UC 患者の ACF は、非 UC 症例の ACF と異なり、APC、K-ras などの異常を認めず、p16 のメチル化の寄与が示唆された。Dysplasia では p16 のメチル化及び p53 変異が高率に認められ、ACF に p53 変異が加わり dysplasia に進展することが示唆された。また、UC 患者のうち dysplasia を有する者は ACF 数が多く、とくに5個以上有する者は dysplasia の高危険群と考えられた。

非 UC 症例 (散発性) の ACF を対象にした臨床試験では、スリダクを投与すると短期間 (2ヶ月間) に ACF 数が有意に減少し、かつ1年後のポリープ数も減少した。これは ACF を指標とすることにより、短期間で大腸がん化学予

防剤の効果を評価できることを示唆している。ACFを指標とした臨床試験では、短期間で評価できるために副作用の出現が少なく、かつコンプライアンスの高い臨床試験を行なうことが可能と考えられる。

(4) 家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

発がん予防研究のための通常の臨床試験では、多数の参加者を対象に、長期間の介入を行う必要がある。家族性大腸腺腫症では、多数の腺腫がエンドポイントとして評価することができるため、比較的少人数、短期間の臨床試験で予防効果を評価できる利点がある。低用量アスピリン腸溶錠は心疾患において長期間投与の経験が豊富であり安全性が高く、大腸がん予防が期待される薬である。しかし、これまでにアスピリンを用いた家族性大腸腺腫症に対する発がん予防試験は報告されていない。本試験によりアスピリンによる大腸腺腫の抑制効果が認められたならば、大腸がん化学予防剤として臨床応用される可能性が高い薬剤であると考えられた。本試験では、参加者それぞれ1例に顕著な貧血および吻合部潰瘍を認めたが、これがアスピリンによる副作用か否かを現在調査中である。

(5) 多発性大腸腫瘍患者の発がん予防

エントリー期間を2度にわたり延期したが、当初の目標症例数に到達できなかった。その理由として、各施設の倫理委員会申請、承認に時間を要したこと、臨床試験を担当する医師の異動が多かったこと、想定以上にアスピリン製剤の服用者、胃潰瘍・十二指腸潰瘍既往者が多かったこと、などが考えられた。エントリー期間が終了する時点で、必要症例数を再計算した。以前に同班の石川の日本において実施した無作為割付臨床試験(IJC, 116, 762-767, 2005)の対照群の2年目腫瘍発生率は56.1~62.8%であった。本研究と類似した米国で行われた研究(NEJM, 348, 883-890, 2003)でのアスピリンによる腫瘍発生抑制効果は0.65であった。これらのデータより、2年目の腫瘍発生率をブラシーボ群56.1%、アスピリン群36.5%とした場合、両側有意水準5%、80%の検出力を確保できる必要症例数は1群当たり101人、総症例数202人であり、現時点でのエントリー数で結果を出すことができると考えた。

(6) 舌発がん抑制物質の検索

rasH2マウスは4-NQO誘発舌・食道発がんに対して高感受性であり、EP1、EP2受容体の関与も示唆された。さらに、pitavastatinは舌

発がん予防剤の候補であることが示唆され、本モデルは短期前臨床試験モデル動物として活用できると考えられた。

(7) 胃発がん抑制物質の検索

スナネズミに pitavastatin を投与したが、血清コレステロール値の低下作用は弱く、*H. pylori* 感染とスタチン投与で逆に血清コレステロール値は上昇した。炎症性サイトカインも上昇し、胃がんの予防効果は得られなかった。今後、更なる検討が必要と考えられた。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。これらの理由により、NF κ B阻害剤である0.1%CAPE及び400 ppmアスピリン群で胃発がん抑制効果が示されたと考えられた。

(8) 脂肪細胞とアディポカイン

APNが摂食調節に寄与していることが初めて明らかとなった。すなわち、絶食時、血清中の髄液中のAPNレベル、視床下部におけるAdipoR1受容体の発現は上昇し、AMPKの活性化を介して食欲を増加させる。一方摂食後は、逆にAMPK活性抑制を介して食欲を低下させる。

短期のエネルギー調節だけでなくAPNは、長期的なエネルギー調節(体脂肪量の調節)にも重要な役割を果たしていると考えられる。すなわち脂肪量が低下するとAPNは増加し、エネルギー代謝を抑制し脂肪蓄積を増加するように働く。一方、脂肪量が増加すると今度は逆にAPNは低下する。このようにAPNは短期的/長期的なエネルギー調節に重要な役割を果たしていると考えられる。

リモナバンによるインスリン抵抗性改善作用にはAPN依存経路と非依存経路があることが明らかとなった。すなわち、リモナバンは、特に高分子量のAPN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、APN非依存経路を介する食欲抑制とエネルギー消費の増加によるものと考えられた。

APN欠損マウスは、ヒトNASHの自然史に近い病態を呈する動物モデルと考えられた。現在PPAR γ アゴニストなどを含めAPNに関連する代謝系の制御によるNASH治療の可能性を検討しており、本マウスはその良いモデル動物となりうると考えられた。

(9) 前立腺発がん抑制物質の検索

TRAPラット前立腺発がんの抑制メカニズム

には、アポトーシスの亢進 (p38 MAPK シグナル伝達経路の抑制とカスパーゼ 3、7 活性化) 及び、AR 蛋白発現低下 (ユビキチン・プロテアソーム系の活性化) が関与しているものと考えられた。LNCaP 細胞では ARB 処理により AR 蛋白発現が低下し、ER β 発現も上昇することにより PSA 発現も低下するが、これは前立腺進行がん患者に ARB を投与すると PSA 値が低下することと合致した所見であった。アンドロゲン非依存性の LNCaP/AI 細胞においても ARB により PSA 発現低下を伴う細胞増殖抑制が見られるが、この時に AR 蛋白発現低下や ER β アゴニストによる細胞増殖抑制は認められないことから、別な抑制メカニズムが関与している可能性も考えられた。

(10) 前立腺がん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

ARB は前立腺組織の AR 発現を抑制する (同班の高橋)。再燃前立腺がんは、アンドロゲン非依存性であるが、AR は増幅している場合もある。再燃がんでは AR を強く発現しており、ARB が反応しやすい環境にあり、その結果、AR 発現を抑えたと考えられる。

前立腺全摘後の PSA 再上昇をエンドポイントとした臨床研究においては、ホルモン療法など行っていない無治療の前立腺がん細胞に対する ARB の効果を見ている。本検討により、ARB 投与によって PSA の上昇は緩やかになり、AR 陽性組織では抑制効果が 6 倍に延長していた。以上より、ARB がヒト前立腺がん細胞の増殖も抑制すると考えられた。今後、ARB が PSA 高値の症例に対してがんの発生を抑制するか、臨床研究を行っていきたいと考えている。

(11) 乳腺発がん抑制物質の検索

ラット食餌誘発性肥満モデルと放射線発がんモデルを組み合わせた本実験系は、肥満による乳がんリスクの機序解明および肥満関連乳がんの予防物質の検索に有用であると考えられた。アンジオテンシン II は、ヒト乳がんではその受容体が発現しており、乳がん細胞株の増殖を促進するため、乳がんの予防・治療の標的として注目されている。本研究ではヒト最大投与量の 10 倍以上の用量の ARB を持続投与したが、良性腫瘍の発生抑制のみ見られ、乳がん発生抑制には顕著な効果がなかった。一方、食餌誘発性肥満に伴い全身的インスリン抵抗性が生じるが、腫瘍組織ではインスリン感受性が保持されているため、糖取込み・タンパク質合成が亢進して、がん細胞が増殖する可能性が示めされた。インスリン受容体下流に作用するインスリン抵抗性改善薬等が

肥満関連乳がんの予防・治療に有用であると考えられた。

(12) 乳がんの予防要因の解析

集団レベルで乳がんの罹患確率を予測できるモデルを構築することができた。このモデルを用いると、予防介入によって利益を得られる日本人ハイリスクグループを同定できると考えられる。一方、このモデルでは、個人に対する罹患確率の予測は十分にできなかった。しかし、この点はゲイルモデルや他の類似モデルと共通する欠点である。今後は、他のリスク因子の寄与や閉経前後などのサブグループに分けた後の評価が必要であろう。また、米国の化学予防介入研究では 5 年罹患確率 $\geq 1.67\%$ であることが適格基準として用いられているが、本予測モデルを用いると、日本人ではこの基準を満たすようなハイリスクの対象者は非常に少ないと考えられた。日本人におけるハイリスクの定義とその集団に適した予防介入法を検討することは今後の重要な課題である。

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 LPL の抑制、APN の低下、腸ポリープ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もなつて、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、アディポサイトカイン、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た。

横断研究の結果、APN の低下は、ヒト大腸腫瘍 (腺腫と早期がん) のリスク上昇に関与することが示唆された。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。

UC 患者の ACF の発生には、*p16* 遺伝子のメチル化が寄与し、更に *p53* の変異が加わると *dysplasia* に進展すること、すなわち UC における ACF-*dysplasia*-carcinoma が示唆された。また、UC 患者では、健常人やクローン病患者に比べて ACF 数が有意に多かった。UC 患者のなかでも *dysplasia* や腺がんを合併した症例では特に多くの ACF を認めた。ACF は、UC 患者の *dysplasia* やがんを見出すための良いサ

一ベイルランスマーカーとなりうることが示唆された。さらに、これまでのポリープを標的とした臨床試験に比べても、ACFを指標として用いると、より副作用が少なく、かつ高いコンプライアンスの得られる臨床試験ができると考えられた。

家族性大腸腺腫症患者に対する予防介入試験として、低用量アスピリン腸溶錠 (100 mg/day) による試験をほぼ終了し、現在、解析中である。多発性大腸腺腫症患者に対する低用量アスピリン腸溶錠の効果を評価する臨床試験はエントリーが終了し、進行中である。

rasH2 マウスは 4-NQO 誘発舌発がんに対して高感受性であり、その発がんには EP1、EP2 レセプターが関与することが示唆された。さらに、スタチン製剤 pitavastatin は舌において明らかな発がん抑制効果を示した。

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発生を効果的に抑制する。しかし、除菌を行わなくても、炎症の抑制のみで胃がんを予防することも実験的に示されている。今後、除菌以外の胃がん予防方法の確立が必要であると考えられる。

APN 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 APN 依存的な経路と非依存的な経路があることが明らかとなった。末梢に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と考えられた。APN 欠損マウスに長期に高脂肪食を与えると肝臓に炎症、一部には腺腫が形成される。この結果から APN は肝臓の炎症を抑制し、それに続発する線維化を抑制していたと考えられた。また、APN 欠損マウスは NASH の良いモデル動物になると考えられた。

ARB である CS および TS の TRAP ラット前立腺発がんに対する影響を検討した結果、側葉では前立腺がん発生頻度が抑制され、腹葉では前がん病変から腺がんへの進展が抑制されることが明らかとなった。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た。このアポトーシス誘導は p38 MAPK 活性化を ARB が抑制することによってカスパーゼ 3、7 が活性化されたためと推察された。また、ARB である CS および TS のヒト前立腺がん細胞 LNCaP の増殖に対する

影響を検討した結果、ARB は ERB 発現上昇による AR 蛋白の転写活性を抑制することにより細胞増殖を抑制することが明らかになった。また、アンドロゲン非依存性細胞株 LNCaP/AI においても、ARB 処理により、ERB 発現上昇傾向とともに PSA 発現低下が観察された。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された。

再燃前立腺がん組織で AR など RAS の構成因子の発現が高いことや、ARB が再燃前立腺がん患者に効果のあることから、腫瘍の発生に RAS が関与し ARB が腫瘍の発生を抑える可能性が考えられる。ARB はヒト前立腺がんに対する化学予防剤として有望であると考えられ、更なる臨床試験を行う必要がある。

独自に確立した食餌誘発性肥満関連乳腺発がんモデルを用いて、2 種類の ARB が、肥満関連乳がんの発生を予防するか検討した。その結果、肥満個体における良性腫瘍の発生は抑制されたが、がんの予防効果は見られなかった。肥満ラットの乳がんは、非肥満個体よりも早く成長した。腫瘍組織のインスリン感受性が保持されている結果、腫瘍細胞の糖の取込みやタンパク合成が亢進し、腫瘍成長が促進されたと考えられた。

年齢、競合リスクを考慮し、また初産年齢、初産年齢、乳がん家族歴、良性疾患既往歴、BMI の情報を用いて日本人女性の乳がん罹患確率を予測するモデルを構築した。本モデルでは個人に対する罹患確率の予測は困難であるが、すでに米国などで広く用いられているゲイルモデルやその類似モデルとほぼ同等の性能でハイリスクグループを同定できることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究論文

1. 論文発表

- 1) Takeuchi, Y., Takahashi, M., Sakano, K., Mutoh, M., Niho, N., Yamamoto, M., Sato, H., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Suppression of N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine-induced pancreatic carcinogenesis in hamsters by pioglitazone, a ligand of peroxisome proliferator-activated receptor γ .

- Carcinogenesis, 28: 1692-1696, 2007.
- 2) Niho, N., Mutoh, M., Komiya, M., Ohta, T., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Improvement of hyperlipidemia by indomethacin in Min mice. *Int. J. Cancer*, 121: 1665-1669, 2007.
 - 3) Sakano, K., Takahashi, M., Mutoh, M., Niho, N., Komiya, M., Sato, H., Tanaka, T., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Carcinogenicity of N-nitrosobis(2-oxo-propyl)amine in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats, a model of type 2 diabetes mellitus. *Carcinogenesis*, 28: 2193-2198, 2007.
 - 4) Mutoh, M., Niho, N., Komiya, M., Takahashi, M., Ohtsubo, R., Nakatogawa, K., Ueda, K., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Plasminogen activator inhibitor-1 (Pai-1) blockers suppress intestinal polyp formation in Min mice. *Carcinogenesis*, 29: 824-829, 2008.
 - 5) Takahashi, M., Kitahashi, T., Ishigamori, R., Mutoh, M., Komiya, M., Sato, H., Kamanaka, Y., Naka, M., Maruyama, T., Sugimura, T., 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.
 - 6) Mutoh, M., Komiya, M., Teraoka, N., Ueno, T., Takahashi, M., Kitahashi, T., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Overexpression of low-density lipoprotein receptor and lipid accumulation in intestinal polyps in min mice. *Int. J. Cancer*, 125: 2505-2510, 2009.
 - 7) Yamaji, T., Iwasaki, M., Sasazuki, S., Kurahashi, N., Mutoh, M., Yamamoto, S., Suzuki, M., Moriyama, N., Wakabayashi, K., Tsugane, S. Visceral fat volume and the prevalence of colorectal adenoma. *Am. J. Epidemiol.*, 170: 1502-1511, 2009.
 - 8) Makita, H., Mutoh, M., Maruyama, T., Yonemoto, K., Kobayashi, A., Fujitsuka, H., Toida, M., Shibata, T., Miyamoto, S., Yasui, Y., Suzuki, R., Wakabayashi, K., Tanaka, T. A prostaglandin E₂ receptor subtype EP₁-selective antagonist, ONO-8711, suppresses 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 28: 677-684, 2007.
 - 9) Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Miyamoto, S., Wakabayashi, K., Tanaka, T. Ursodeoxycholic acid inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice: A comparative study regarding the effect of sulphasalazine. *Clin. Cancer Res.*, 13: 2519-2525, 2007.
 - 10) Kohno, H., Takahashi, M., Yasui, Y., Suzuki, R., Miyamoto, S., Kamanaka, Y., Naka, M., Maruyama, T., Wakabayashi, K., Tanaka, T. A specific inducible nitric oxide inhibitor, ONO-1714 attenuates inflammation-related large bowel carcinogenesis in male *Apc^{Min/+}* mice. *Int. J. Cancer*, 121: 506-513, 2007.
 - 11) Suzuki, R., Kohno, H., Yasui, Y., Hata, K., Sugie, S., Miyamoto, S., Sugawara, K., Sumida, T., Hirose, Y., Tanaka, T. Diet supplemented with citrus unshiu segment membrane suppresses chemically induced colonic preneoplastic lesions and fatty liver in male *db/db* mice. *Int. J. Cancer*, 120: 252-258, 2007.
 - 12) 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.
 - 13) Miyamoto, S., Yasui, Y., Kim, M., Sugie, S., Murakami, A., Ishigamori-Suzuki, R., 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.
 - 14) Miyamoto, S., Yasui, Y., Tanaka, T., Ohigashi, H., Murakami, A. Suppressive effects of nobiletin on hyperleptinemia and colitis-related colon carcinogenesis

- in male ICR mice. *Carcinogenesis*, 29: 1057-1063, 2008.
- 15) Miyamoto, S., Epifano, F., Curini, M., Genovese, S., Kim, M., Ishigamori-Suzuki, R., Yasui, Y., Sugie, S., Tanaka, T. A novel prodrug of 4'-geranyloxy-ferulic acid suppresses colitis-related colon carcinogenesis in mice. *Nutr. Cancer*, 60: 675-684, 2008.
 - 16) Tanaka, T., Yasui, Y., Tanaka, M., Tanaka, T., Oyama, T., Rahman, K.M.W. Melatonin suppresses AOM/DSS-induced large bowel oncogenesis in rats. *Chem. Biol. Interact.*, 177: 128-136, 2009.
 - 17) Kim, M., Miyamoto, S., Yasui, Y., Oyama, T., Murakami, A., Tanaka, T. Zerumbone, a tropical ginger sesquiterpene, inhibits colon and lung carcinogenesis in mice. *Int. J. Cancer*, 124: 264-271, 2009.
 - 18) Oyama, T., Yasui, Y., Sugie, S., Koketsu, M., Watanabe, K., Tanaka, T. Dietary triclin suppresses inflammation-related colon carcinogenesis in male Crj: CD-1 mice. *Cancer Prev. Res.*, 2: 1031-1038, 2009.
 - 19) Tanaka, T., de Azevedo, M.B.M., Durán, N., Alderete, J.B., Epifano, F., Genovese, S., Tanaka, M., Tanaka, T., Curini, M. Colorectal cancer chemoprevention by two β -cyclodextrin inclusion compounds of auraptene and 4'-geranyloxyferulic acid. *Int. J. Cancer*, 126: 830-840, 2010.
 - 20) Kato, J., Miyanishi, K., Kobune, M., Nakamura, T., Takada, K., Takimoto, R., Kawano, Y., Takahashi, S., Takahashi, M., Sato, Y., Takayama, T., Niitsu, Y. Long-term phlebotomy with low-iron diet therapy lowers risk of development of hepatocellular carcinoma from chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol.*, 42: 830-836, 2007.
 - 21) Kukitsu, T., Takayama, T., Miyanishi, K., Nobuoka, A., Katsuki, S., Sato, Y., Takimoto, R., Matsunaga, T., Kato, J., Sonoda, T., Sakamaki, S., Niitsu, Y. Aberrant crypt foci as precursors of the dysplasia-carcinoma sequence in patients with ulcerative colitis. *Clin. Cancer Res.*, 14: 48-54, 2008.
 - 22) Sagawa, T., Yamada, Y., Takahashi, M., Sato, Y., Kobune, M., Takimoto, R., Fukaura, J., Iyama, S., Sato, T., Miyanishi, K., Matsunaga, T., Takayama, T., Kato, J., Sasaki, K., Hamada, H., Niitsu, Y. Treatment of hepatocellular carcinoma by AdAFPep/rep, AdAFPep/p53, and 5-fluorouracil in mice. *Hepatology*, 48: 828-840, 2008.
 - 23) Takahashi, H., Takayama, T., Yoneda, K., Endo, H., Iida, H., Sugiyama, M., Fujita, K., Yoneda, M., Inamori, M., Abe, Y., Saito, S., Wada, K., Nakagama, H., Nakajima, A. Association of visceral fat accumulation and plasma adiponectin with rectal dysplastic aberrant crypt foci in a clinical population. *Cancer Sci.*, 100: 29-32, 2009.
 - 24) Hayashi, T., Ishiwatari, H., Ihara, H., Kawano, Y., Takada, K., Miyanishi, K., Kobune, M., Takimoto, R., Sonoda, T., Takayama, T., Kato, J., Niitsu, Y. Suppressive effect of sulindac on branch duct-intraductal papillary mucinous neoplasms. *J. Gastroenterol.*, 44: 964-975, 2009.
 - 25) Takayama, T., Goji, T., Taniguchi, T., Inoue, A. Chemoprevention of colorectal cancer-experimental and clinical aspects. *J. Med. Invest.*, 56: 1-5, 2009.
 - 26) Kawata, S. Association of digestive organ disease with metabolic syndrome: role of adipocytokine and its molecular mechanisms. *Clin. J. Gastroenterol.*, 1: 1-6, 2008.
 - 27) Otake, S., Takeda, H., Fujishima, S., Fukui, T., Orii, T., Sato, T., Sasaki, Y., Nishise, S., Kawata, S. Decreased levels of plasma adiponectin associated with increased risk of colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.*, 16: 1252-1257, 2010.
 - 28) Itsukuma, T., Ishikawa, H., Misawa, M., Kai, S., Fujimori, Y., Nakagawa, K., Hirota, S., Sugihara, A., Terada, N., Hara, H. Familial adenomatous polyposis complicated by chronic myelogenous leukemia: response imatinib mesylate. *J. Gastroenterol.*, 42: 402-405, 2007.

- 29) Ishikawa, H., Nakamura, T., Kawano, A., Gondo, N., Sakai, T. Chemoprevention of colorectal cancer in Japan: a brief introduction to current clinical trials. *J. Gastroenterol.*, 19: 77-81, 2009.
- 30) Matsuda, T., Fujii, T., Sano, Y., Kudo, S., Oda, Y., Igarashi, M., Iishi, H., Murakami, Y., Ishikawa, H., Shimoda, T., Kaneko K., Yoshida, S. Five-year incidence of advanced neoplasia after initial colonoscopy in Japan: A multicenter retrospective cohort study. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 39: 435-442, 2009.
- 31) Muto, M., Minashi, K., Yano, T., Saito, Y., Nonaka, S., Omori, T., Kaise, M., Inoue, H., Ishikawa, H., Sugiura, H., Ochiai, A., Shimoda, T., Watanabe, H., Tajiri, H., Saito, D. Early detection of superficial squamous cell carcinoma in the head and neck region and esophagus by narrow band imaging: a multicenter randomized controlled trial. *J. Clin. Oncology*, 28: 1566-1572, 2010.
- 32) Nakamura, T., Ishikawa, H., Takeyama, I., Kawano, A., Ishiguro, S., Otani T., Okuda, T., Murakami, Y., Sakai, T., Matsuura, N. Excessive fat restriction might promote the recurrence of colorectal tumors. *Nutrition and Cancer*, 62: 154-163, 2010.
- 33) Sriamporn, S., Wiangnon, S., Suwanrungruang, K., Rungsrikaji, D., Sukprasert, A., Thipsuntornsak, N., Sativipawee, P., Poomphakwaen, K. Tokudome, S. Risk factors for colorectal cancer in Northeast Thailand: lifestyle related. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 8: 573-577, 2007.
- 34) Kojima, M., Hayano, J., Tokudome, S., Suzuki, S., Ibuki, K., Tomizawa, H., Nakata, A., Seno, H., Toriyama, T., Kawahara, H. Furukawa, T.A. Independent associations of alexithymia and social support with depression in hemodialysis patients. *J. Psychosom. Med.*, 63: 349-356, 2007.
- 35) Tokudome, S., Ando, R., Ghadimi, R., Tanaka, T., Hattori, N., Yang, Z., Marumoto, M., Agawa, H., Arakawa, K., Osaka, Y., Tanaka, H., Hosono, A. Moore, M.A. Are there any real *Helicobacter pylori*-negative gastric cancer in Asia? *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 8: 462-463, 2007.
- 36) Sakauchi, F., Khan, M.M., Mori, M., Kubo, T., Fujino, Y., Suzuki, S., Tokudome, S., Tamakoshi, A. Dietary habits and risk of ovarian cancer death in a large-scale cohort study (JACC Study) in Japan. *Nutr. Cancer*, 57: 138-145, 2007.
- 37) Imaeda, N., Goto, C., Tokudome, Y., Hirose, K., Tajima, K., Tokudome, S. Reproducibility of a short food frequency questionnaire for Japanese general population. *J. Epidemiol.*, 17: 100-107, 2007.
- 38) Wakai, K., Date, C., Fukui, M., Tamakoshi, K., Watanabe, Y., Hayakawa, N., Kojima, M., Kawado, M., Suzuki, K., Hashimoto, S., Tokudome, S., Ozasa, K., Suzuki, S., Toyoshima, H., Ito, Y., Tamakoshi, A.; JACC Study Group. Dietary fiber and risk of colorectal cancer in the Japan collaborative cohort study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 16: 668-675, 2007.
- 39) Ghadimi, R., Taheri, H., Suzuki, S., Kashifard, M., Hosono, A., Esfandiary, I., Moghadamnia, A.A., Ghadimi, R., Tokudome, S. Host and environmental factors for gastric cancer in Babol, the Caspian Sea Coast, Iran. *Eur. J. Cancer Prev.*, 16: 192-195, 2007.
- 40) Wakai, K., Kojima, M., Nishio, K., Suzuki, S., Niwa, Y., Lin, Y., Kondo, T., Yatsuya, H., Tamakoshi, K., Yamamoto, A., Tokudome, S., Toyoshima, H., Tamakoshi, A. for the JACC Study Group. Psychological attitudes and risk of breast cancer in Japan: a prospective study. *Cancer Causes Control.*, 18: 259-267, 2007.
- 41) Suzuki, S., Kojima, M., Tokudome, S., Mori, M., Sakauchi, F., Fujino, Y., Wakai, K., Lin, Y., Kikuchi, S., Tamakoshi, K., Yatsuya, H., Tamakoshi, A. for Japan Collaborative Cohort Study Group. Effect of physical activity on breast cancer

- risk: findings of the Japan collaborative cohort study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 17: 3396-3401, 2008.
- 42) Xiang, J., Nagaya, T., Huang, X.-E., Kuriki, K., Imaeda, N., Tokudome, Y., Sato, J., Fujiwara, N., Maki, S., Tokudome, S. Sex and seasonal variations of plasma retinol, α -tocopherol, and carotenoid concentrations in Japanese dietitians. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 9: 413-416, 2008.
- 43) Ngoan, L. T., Khan, N. C., Mai, L. B., Anh, N. T., Huong, T. H., Thu, N. T., Lua, N. T., Hang, L. T., Ngoc, B. N., Hieu, N. V., Quyet, H. V., Tai, L. T., Van, D. D., Moore, M. A., Tokudome, S., Yoshimura, T. Development of a semi-quantitative frequency questionnaire for dietary studies - Focus on vitamin C intake. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 9: 299-302, 2008.
- 44) Ngoan, L. T., Anh, N. T., Huong, N. T., Thu, N. T., Lua, N. T., Hang, L. T., Bich, N. N., Hieu, N. V., Quyet, H. V., Tai, L. T., Van, D. D., Khan, N. C., Mai, L. B., Tokudome, S., Yoshimura, T. Gastric and colo-rectal cancer mortality in Viet Nam in the years 2005-2006. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 9: 299-302, 2008.
- 45) Ando, R., Nagaya, T., Hashimoto, Y., Suzuki, S., Itoh, Y., Umamoto, Y., Ikeda, N., Tozawa, K., Kohri, K., Tokudome, S. Inverse relationship between obesity and serum prostate-specific antigen level in healthy Japanese men: a hospital-based cross-sectional survey, 2004-2006. *Urology*, 72: 561-565, 2008.
- 46) Lee, K. M., Kang, D., Clapper, M. L., Ingelman-Sundberg, M., Ono-Kihara, M., Kiyohara, C., Min, S., Lan, Q., Le Marchand, L., Lin, P., Lung, M. L., Pinarbasi, H., Pisani, P., Srivatanakul, P., Seow, A., Sugimura, H., Tokudome, S., Yokota, J., Taioli, E. CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms, smoking, and lung cancer risk in a pooled analysis among Asian populations. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 17: 1120-1126, 2008.
- 47) Ghadimi, R., Kuriki, K., Tsuge, S., Takeda, E., Imaeda, N., Suzuki, S., Sawai, A., Takekuma, K., Hosono, A., Tokudome, Y., Goto, C., Esfandiary, I., Nomura, H., Tokudome, S. Serum concentrations of fatty acids and colorectal adenoma risk: a case-control study in Japan. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 9: 111-118, 2008.
- 48) Suwanrungruang, K., Sriamporn, S., Wiangnon, S., Rangrikajee, D., Sookprasert, A., Thipsuntornsak, N., Satitvipawee, P., Poomphakwaen, K., Tokudome, S. Lifestyle-related risk factors for stomach cancer in northeast Thailand. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 9: 71-75, 2008.
- 49) Agawa, H., Yamada, N., Enomoto, Y., Suzuki, H., Hosono, A., Arakawa, K., Ghadimi, R., Miyata, M., Maeda, K., Shibata, K., Tokudome, M., Goto, C., Tokudome, Y., Hoshino, H., Imaeda, N., Marumoto, M., Suzuki, S., Kobayashi, M., Tokudome, S. Changes of mental stress biomarkers in ultramarathon. *Int. J. Sports Med.*, 29: 867-871, 2008.
- 50) Lin, Y., Kikuchi, S., Tamakoshi, K., Wakai, K., Kondo, T., Niwa, Y., Yatsuya, H., Nishio, K., Suzuki, S., Tokudome, S., Yamamoto, A., Toyoshima, H., Mori, M., Tamakoshi, A. for Japan Collaborative Cohort Study Group for Evaluation of Cancer Risk. Active smoking, passive smoking, and breast cancer risk: findings from the Japan collaborative cohort study for evaluation of cancer risk. *J. Epidemiol.*, 18: 77-83, 2008.
- 51) Fujino, Y., Mori, M., Tamakoshi, A., Sakauchi, F., Suzuki, S., Wakai, K., Tokudome, S., Yoshimura, T. for the JACC Study Group. A prospective study of educational background and breast cancer among Japanese women. *Cancer Causes Control*, 19: 931-937, 2008.
- 52) Kojima, M., Hayano, J., Fukuta, H., Sakata, S., Mukai, S., Ohte, N., Seno, H., Toriyama, T., Kawahara, H., Furukawa, T. A., Tokudome, S. Loss of fractal heart rate dynamics in depressive hemodialysis patients. *Psychosom. Med.*, 70: 177-185, 2008.
- 53) Ngoan, L. T., Thu, N. T., Lua, N. T., Hang,

- L. T., Bich, N. N., Hieu, N. V., Quvet, H. V., Tai, L. T., Van, D. D., Khan, N. C., Mai, L. B., Tokudome, S., Yoshimura, T. Cooking temperature, heat-generated carcinogens, and the risk of stomach cancer and colorectal cancers. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 10: 83-86, 2009.
- 54) Cote, M. L., Chen, W., Smith, D. W., Benhamou, S., Bouchardy, C., Butkiewicz, D., Fong, K. M., Gené, M., Hirvonen, A., Kiyohara, C., Larsen, J. E., Lin, P., Raaschou-Nielsen, O., Povey, A. C., Reszka, E., Risch, A., Schneider, J., Schwartz, A. G., Sorensen, M., To-Figueras, J., Tokudome, S., Pu, Y., Yang, P., Wenzlaff, A. S., Wikman, H., Taioli, E. Meta- and pooled analysis of GSTP1 polymorphism and lung cancer: a HuGE-GSEC review. *Am. J. Epidemiol.*, 169: 802-814, 2009.
- 55) Yamada, T., Fukatsu, M., Suzuki, S., Yoshida, T., Tokudome, S., Joh, T. Alcohol drinking may not be a major risk factor for fatty liver in Japanese undergoing a health checkup. *Dig. Dis. Sci.*, 55: 176-182, 2010.
- 56) Shibata, K., Suzuki, S., Sato, J., Ohsawa, I., Goto, S., Hashiguchi, M., Tokudome, S. Abdominal circumference should not be required criterion for the diagnosis of metabolic syndrome. *Environ. Health Prev. Med.*, 2010 (in press).
- 57) Promthet, S. S., Pientong, C., Ekalaksananan T., Wiangnon, S., Poomphakwaen, K., Songserm, N., Chopjitt, P., Moore, M. A., Tokudome, S. Risk factors for colon cancer in Northeast Thailand: interaction between the *MTFHR* codon 677 and 1298 polymorphisms and environmental factors. *J. Epidemiol.*, 2010 (in press).
- 58) Marumoto, M., Suzuki, S., Hosono, A., Arakawa, K., Shibata, K., Fuku, M., Goto, C., Tokudome, Y., Hoshino, H., Imaeda, N., Kobayashi, M., Yodoi, J., Tokudome, S. Changes of thioredoxin concentrations: an observation in an ultra-marathon race. *Environ. Health Prev. Med.*, 2010 (in press).
- 59) Toyoda, T., Tsukamoto, T., Mizoshita, T., Nishibe, S., Deyama, T., Takenaka, Y., Hirano, N., Tanaka, H., Takasu, S., Ban, H., Kumagai, T., Inada, K., Utsunomiya, H., Tatematsu, M. Inhibitory effect of nordihydroguaiaretic acid, a plant lignan, on *Helicobacter pylori*-associated gastric carcinogenesis in Mongolian gerbils. *Cancer Sci.*, 98: 1689-1695, 2007.
- 60) Cao, X., Tsukamoto, T., Seki, T., Tanaka, H., Morimura, S., Cao, L., Mizoshita, T., Ban, H., Toyoda, T., Maeda, H., 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.
- 61) Li, G. Q., Xia, H. H., Chen, M. H., Tsukamoto, T., Tatematsu, M., Gu, Q., Qiao, L., Cho, C. H., So, W. H., Yuen, M. F., Hu, P. J., Liang, Y. J., Lin, H. L., Chan, A. O., Wong, B. C. Effects of aspirin on the development of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and heterotopic proliferative glands in Mongolian gerbils. *Helicobacter*, 13: 20-29, 2008.
- 62) Toyoda, T., Tsukamoto, T., Hirano, N., Mizoshita, T., Kato, S., Takasu, S., Ban, H., 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.
- 63) 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.
- 64) 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.
- 65) Kume, S., Uzu, T., Araki, S., Sugimoto, T., Isshiki, K., Chin-Kanasaki, M., Sakaguchi, M., Kubota, N., Terauchi, Y., Kadowaki, T., Haneda, M., Kashiwagi, A. and Koya, D. Role of altered renal lipid metabolism in the development of renal injury induced by a high-fat diet. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 18: 2715-2723 (2007).
- 66) Kubota, N., Yano, W., Kubota, T., Yamauchi, T., Itoh, S., Kumagai, H., Kozono, H., Takamoto, I., Okamoto, S., Shiuchi, T., Suzuki, R., Satoh, H., Tsuchida, A., Moroi, M., Sugi, K., Noda, T., Ebinuma, H., Ueta, Y., Kondo, T., Araki, E., Ezaki, O., Nagai, R., Tobe, K., Terauchi, Y., Ueki, K., Minokoshi, Y. and Kadowaki, T. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab.*, 6: 55-68 (2007).
- 67) Ebinuma, H., Miida, T., Yamauchi, T., Hada, Y., Hara, K., Kubota, N. and Kadowaki T. Improved ELISA for selective measurement of adiponectin multimers and identification of adiponectin in human cerebrospinal fluid. Improved ELISA for selective measurement of adiponectin multimers and identification of adiponectin in human cerebrospinal fluid. *Clin. Chem.* 53: 1541-1544 (2007).
- 68) Yamauchi, T., Nio, Y., Maki, T., Kobayashi, M., Takazawa, T., Iwabu, M., Okada-Iwabu, M., Kawamoto, S., Kubota, N., Kubota, T., Ito, Y., Kamon, J., Tsuchida, A., Kumagai, K., Kozono, H., Hada, Y., Ogata, H., Tokuyama, K., Tsunoda, M., Ide, T., Murakami, K., Awazawa, M., Takamoto, I., Froguel, P., Hara, K., Tobe, K., Nagai, R., Ueki, K. and Kadowaki, T. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat. Med.*, 13: 332-339 (2007).
- 69) Terauchi, Y., Takamoto, I., Kubota, N., Matsui, J., Suzuki, R., Komeda, K., Hara, A., Toyoda, Y., Miwa, I., Aizawa, S., Tsutsumi, S., Tsubamoto, Y., Hashimoto, S., Eto, K., Nakamura, A., Noda, M., Tobe, K., Aburatani, H., Nagai, R. and Kadowaki, T. Glucokinase and IRS-2 are required for compensatory beta cell hyperplasia in response to high-fat diet-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 117: 246-257 (2007).
- 70) Okamoto, M., Ohara-Imaizumi, M., Kubota, N., Hashimoto, S., Eto, K., Kanno, T., Kubota, T., Wakui, M., Nagai, R., Noda, M., Nagamatsu, S., and Kadowaki, T. Adiponectin induces insulin secretion *in vitro* and *in vivo* at a low glucose concentration. *Diabetologia*, 51: 827-835 (2008).
- 71) Oishi, Y., Manabe, I., Tobe, K., Ohsugi, M., Kubota, T., Fujiu, K., Maemura, K., Kubota, N., Kadowaki, T., and 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.*, 14: 656-666 (2008).
- 72) 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., and Kosaka, K. Fulminant type 1 diabetes mellitus observed in insulin receptor substrate 2 deficient mice. *Clin. Exp. Med.*, 8: 93-99 (2008).
- 73) 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., and Kadowaki, T. Molecular mechanism of moderate insulin resistance in adiponectin-knockout mice. *Endocr J.*, 55: 515-522 (2008).
- 74) 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., and Kadowaki, T. Dynamic functional relay between insulin receptor substrate 1 and 2 in hepatic insulin signaling during fasting and feeding. *Cell Metab.*, 8: 49-64 (2008).
- 75) Takasawa, K., Kubota, N., Terauchi, Y.,

- and Kadowaki, T. Impact of increased PPAR γ activity in adipocytes in vivo on adiposity, insulin sensitivity and the effects of rosiglitazone treatment. *Endocrine J.*, 55: 767-776 (2008).
- 76) 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., and Nakajima, A. Adiponectin suppresses colorectal carcinogenesis under the high-fat diet condition. *Gut*, 57: 1531-1538 (2008).
- 77) Miura, S., Kai, Y., Kamei, Y., Bruce, C. R., Kubota, N., Febbraio, M. A., Kadowaki, T., Ezaki, O. α 2-AMPK activity is not essential for an increase in fatty acid oxidation during low-intensity exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 296: E47-E55 (2009).
- 78) Watanabe, T., Kubota, N., Ohsugi, M., Kubota, T., Takamoto, I., Iwabu, 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. Rimobant ameliorates insulin resistance via both adiponectin-dependent and adiponectin-independent pathways. *J. Biol. Chem.*, 284: 1803-1812 (2009).
- 79) Nakamura, A., Terauchi, Y., Ohyama, S., Kubota, J., Shimazaki, H., Nambu, T., Takamoto, I., Kubota, N., Eiki, J., Yoshioka, N., Kadowaki, T., Koike, T. Impact of small molecule glucokinase activator on glucose metabolism and beta cell mass. *Endocrinology*, 150: 1147-1154 (2009).
- 80) Kurabe, N., Arai, S., Nishijima, A., Kubota, N., Suizu, F., Mori, M., Kurokawa, J., Miyazaki, M. K., Ide, T., Murakami, K., Miyake, K., Ueki, K., Koga, H., Yatomi, Y., Tashiro, F., Noguchi, M., Kadowaki, T., Miyazaki, T. The death effector domain-containing DEDD supports S6K1 activity via preventing Cdk1-dependent inhibitory phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 284: 5050-5055 (2009).
- 81) Aoki, K., Matsui, J., Kubota, N., Nakajima, H., Iwamoto, K., Takamoto, I., Tsuji, Y., Ohno, A., Mori, S., Tokuyama, K., Murakami, K., Asano, T., Aizawa, S., Tobe, K., Kadowaki, T., Terauchi, Y. The role of the liver in glucose homeostasis in PI 3-kinase p85 α -deficient mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 296: E842-E853 (2009).
- 82) Kurita, H., Yoshioka, W., Nishimura, N., Kubota, N., Kadowaki, T., Tohyama, C. Aryl hydrocarbon receptor-mediated effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on glucose-stimulated insulin secretion in mice. *J. Appl. Toxicol.*, 29: 689-694 (2009).
- 83) Asano, T., Watanabe, K., Kubota, N., Gunji, T., Omata, M., Kadowaki, T., Ohnishi, S. Adiponectin knockout mice on high fat diet develop fibrosing steatohepatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 10: 1669-1676 (2009).
- 84) Tang, M., Ogawa, K., Asamoto, M., Hokaiwado, N., Seeni, A., Suzuki, S., Takahashi, S., Tanaka, T., Ichikawa, K., Shirai, T. Protective effects of citrus nobiletin and auraptene in transgenic rats developing adenocarcinoma of the prostate (TRAP) and human prostate carcinoma cells. *Cancer Sci.*, 98: 471-477, 2007.
- 85) Yamashita, S., Takahashi, S., McDonnell, N., Watanabe, N., Niwa, T., Hosoya, K., Tsujino, Y., Shirai, T., Ushijima, T. Methylation silencing of transforming growth factor- β receptor type II in rat prostate cancers. *Cancer Res.*, 68: 2112-2121, 2008.
- 86) Seeni, A., Takahashi, S., Takeshita, K., Tang, M., Sugiura, S., Sato, S., Shirai, T. Suppression of prostate cancer growth by resveratrol in the Transgenic Rat for

- Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) model. Asian Pacific J. Cancer Prev., 9: 7-14, 2008.
- 87) Takahashi, S., Takeshita, K., Seeni, A., Sugiura, S., Tang, M., Sato, S., Kuriyama, H., Nakadate, M., Abe, K., Maeno, Y., Nagao, M., Shirai, T. Suppression of prostate cancer in a transgenic rat model via gamma-tocopherol activation of caspase signaling. Prostate, 69: 644-651, 2009.
- 88) Sato, S., Takahashi, S., Asamoto, M., Naiki, T., Naiki-Ito, A., Asai, K., Shirai, T. Tranilast suppresses prostate cancer growth and osteoclast differentiation *in vivo* and *in vitro*. Prostate, 70: 229-238, 2010.
- 89) Uemura, H., Ishiguro, H., Ishiguro, Y., Hoshino, K., Kubota, Y. Angiotensin II plays a potential role in prostatic carcinogenesis by inducing oxidative stress. Mol. Cancer Res., 6: 250-258, 2008.
- 90) Teranishi, J., Ishiguro, H., Hoshino, K., Noguchi, K., Kubota, Y., Uemura, H. Evaluation of role of angiotensin III and aminopeptidases in prostate cancer cells. Prostate, 68: 1666-1673, 2008.
- 91) Uemura, H., Ishiguro, H., Kubota, Y. Pharmacology and new perspectives of angiotensin II receptor blocker in prostate cancer treatment. Int. J. Urol., 15: 19-26, 2008.
- 92) Uemura, H., Hoshino, K., Sasaki, T., Miyoshi, Y., Ishiguro, H., Inayama, Y., Kubota Y. Usefulness of the 2005 International Society of Urological Pathology Gleason Grading System in Prostate Biopsy and Radical Prostatectomy Specimens. BJU Int., 103: 1190-1194, 2009.
- 93) Ishiguro, H., Akimoto, K., Nagashima, Y., Kojima, Y., Sasaki, T., Ishiguro-Imagawa, Y., Nakaigawa, N., Ohno, S., Kubota, Y., Uemura, H. Atypical protein kinase C λ 1/i promotes growth of prostate cancer cells in an autocrine manner through transcriptional activation of interleukin-6. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 106: 16369-16374, 2009.
- 94) Minamimoto, R., Tateishi, U., Uemura, H., Yamanaka, S., Kubota, Y., Inoue, T. Avid F-18 FDG uptake in prostatic sarcoma. Clin. Nucl. Med., 34: 388-389, 2009.
- 95) Imaoka, T., Nishimura, M., Kakinuma, S., Hatano, Y., Ohmachi, Y., Yoshinaga, S., Kawano, A., Maekawa, A., Shimada, Y. High relative biologic effectiveness of carbon ion radiation on induction of rat mammary carcinoma and its lack of *H-ras* and *Tp53* mutations. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 69: 194-203, 2007.
- 96) Shimada, Y., Nishimura, M., Kakinuma, S., Yamauchi, K., Imaoka, T., Amasaki, Y., Shang, Y., Kawaguchi, I., Doi, M. Combined effect of ionizing radiation and alkylating agents on cancer induction. Genes and Environment, 29: 29-37, 2007.
- 97) Imaoka, T., Yamashita, S., Nishimura, M., Kakinuma, S., Ushijima, T., Shimada, Y. Gene expression profiling distinguishes between spontaneous and radiation-induced rat mammary carcinomas. J. Radiation Res., 49: 349-360, 2008.
- 98) Imaoka, T., Nishimura, M., Iizuka, D., Daino, K., Takabatake, T., Okamoto, M., Kakinuma, S., Shimada, Y. Radiation-induced mammary carcinogenesis in rodent models: what's different from chemical carcinogenesis? J. Radiat. Res., 50: 281-293, 2009.
- 99) Yamauchi, K., Kakinuma, S., Nakata, A., Imaoka, T., Takabatake, T., Nishimura, M., Shimada, Y. Combined effect of ionizing radiation and *N*-ethyl-*N*-nitrosourea on mutation induction and lymphoma development. Radiation Health Risk Sciences: Proceedings of the First International Symposium of the Nagasaki University Global COE Program "Global Strategic Center for Radiation Health Risk Control": 227-231, 2009.
- 100) Miyoshi-Imamura, T., Kakinuma, S., Kaminishi, M., Okamoto, M., Takabatake, T., Nishimura, Y., Imaoka, T., Nishimura, M., Murakami-Murofushi, K., Shimada, Y. Unique characteristics of radiation-induced apoptosis in the