

- carcinogenesis. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka (Sept. 2010)
- 32) Tanaka, T., Yasui, Y., Terasaki, M., Masuda, S. Dietary morin, a LOX/COX inhibitor, suppresses colitis-associated rat colorectal carcinogenesis. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka (Sept. 2010)
- 33) Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., Tanaka, T. Inhibitory effects of fucoxanthin on colitis-related colon carcinogenesis in mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka (Sept. 2010)
- 34) Miyoshi, N., Nagasawa, T., Yasui, Y., Tanaka, T., Ohshima, H. Yams and its constituent diosgenin suppress azoxmethane/dextran sodium sulfate-induced colon cancer in mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka, Sept (Sept. 2010)
- 35) Kubota, M., Shmizu, M., Sakai, H., Yasuda, Y., Tanaka, T., Moriwaki, H. Curcumin suppresses obesity-related colonic preneoplastic lesions in obese and diabetic C57BL/KsJ-*db/db* mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka (Sept. 2010)
- 36) Yasuda, Y., Shimizu, M., Kubota, M., Sakai, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. Pitavastatin inhibits azoxymethane (AOM)-induced colonic preneoplastic lesions in C57BL/KsJ-*db/db* (*db/db*) obese mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka (Sept. 2010)
- 37) Toyoda-Hokaiwado, N., Yasui, Y., Muramatsu, M., Masumura, K., Takamune, M., Yamada, M., Ohta, T., Tanaka, T., Nohmi, T. Chemopreventive effects of silymarin, a plant constituent, against the carcinogenicity of dimethylhydrazine plus dextran sodium sulfate in the colon of *gpt* delta transgenic rats. 10<sup>th</sup> International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (ICMAA), Guaruja, SP, Brazil (Sept. 2010)
- 38) Tanaka, T., Yasui, Y., Terasaki, M., and Masuda, S. Dietary morin uppresses colitis-associated rat colorectal carcinogenesis. XVIIIth International Workshop on Genetic Systems in the Rat, Kyoto (Nov. 2010)
- 39) Yoshimi, K., Tanaka, T., Serikawa, T., Kuramoto, T. Enhanced colonic inflammation in an Apc-mutant rat strain that lacks carboxyl terminal domains. XVIIIth International Workshop on Genetic Systems in the Rat, Kyoto (Nov. 2010)
- 40) Masumura, K., Toyoda, N., Yasui, Y., Muramatsu, M., Takamune, M., Yamada, M., Tanaka, T., Nohmi, N. Chemopreventive effects of silymarin on mutagenesis and carcinogenesis in Gpt delta transgenic rats. 2nd Asian Conference on Environmental Mutagens (2nd ACEM), Pattaya, Thailand (Dec. 2010)
- 41) Tanaka, T. An animal model of inflammation-associated colon carcinogenesis (TANAKA-model) for preclinical cancer chemoprevention studies. 2nd International Cancer Research Symposium, Thiruvananthapuram, India (Dec. 2010)
- 42) 豊田武士、塚本徹哉、高須伸二、時亮、齋藤亜弓、齋藤典子、立松正衛、小川久美子、西川秋佳。ヘリコバクター・ピロリ感染と高食塩食投与を併用した新規マウス胃癌モデルによる胃粘膜遺伝子動態。がん予防大会 2010 札幌 (第 17 回日本がん予防学会総会)、札幌 (2010 年 7 月)
- 43) 塚本徹哉、時亮、齋藤亜弓、豊田武士、齋藤典子、高須伸二、水谷泰嘉、立松正衛。Angiotensin II 受容体拮抗薬 Losartan によるヒト大腸癌細胞株増殖抑制効果。がん予防大会 2010 札幌 (第 17 回日本がん予防学会総会)、札幌 (2010 年 7 月)
- 44) 豊田武士、塚本徹哉、高須伸二、時亮、齋藤典子、齋藤亜弓、立松正衛、Cho Young-Man、小川久美子、西川秋佳。香辛料主成分によるヘリコバクター・ピロリ感染スナネズミ慢性胃炎に対する抑制効果。第 27 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、大阪

- (2011年1月)
- 45) 石川秀樹。臨床試験によるプロバイオティクスの評価。第14回腸内細菌学会 シンポジウム、京都 (2010年6月)
  - 46) 石川秀樹。家族性大腸腺腫症の診断と治療。第16回日本家族性腫瘍学会 学術集会 シンポジウム、新潟 (2010年7月)
  - 47) 石川秀樹、酒井敏行。内視鏡的大腸腺腫摘除による大腸癌予防効果の検討。第17回日本がん予防学会、札幌 (2010年7月)
  - 48) 石川秀樹。癌予防介入試験の実際。第10回分子予防環境医学研究会大会 シンポジウム、京都 (2011年1月)
  - 49) 石川秀樹。大腸癌はなぜ増えたのか？ 予防は可能なのか？ 第8回宝塚消化器研究会、宝塚 (2011年3月)
  - 50) 鈴木貞夫、小嶋雅代、永谷照男、服部奈美、安藤亮介、柴田清、今枝奈保美、後藤千穂、細野晃弘、山田珠樹、深津満、徳留信寛。地域住民における血漿 DHEA-S の濃度に関連する因子。第21回日本疫学会学術総会、札幌市 (2011年1月)
  - 51) 細野晃弘、鈴木貞夫、小嶋雅代、永谷照男、服部奈美、安藤亮介、柴田清、今枝奈保美、後藤千穂、山田珠樹、深津満、徳留信寛。地域住民における睡眠時間と関連する要因。第21回日本疫学会学術総会、札幌市 (2011年1月)
  - 52) 小嶋雅代、小嶋俊久、石黒直樹、鈴木貞夫。関節リウマチ患者の身体的・心理的QOL-7年間の変化-。第21回日本疫学会学術総会、札幌市 (2011年1月)
  - 53) 本庄かおり、磯博康、藤野善久、田邊直仁、鈴木貞夫、玉腰暁子。地域の教育レベルと循環器疾患死亡リスク：JACC Study。第21回日本疫学会学術総会、札幌市 (2011年1月)
  - 54) 藤野善久、田邊直仁、本庄かおり、鈴木貞夫、白井こころ、磯博康、玉腰暁子、for the JACC study group。地域のストレスと虚血性心疾患に関するマルチレベル分析。第21回日本疫学会学術総会、札幌市 (2011年1月)
  - 55) 山田弘武、光吉孝真、坪井一哉、鈴木貞夫、永井正規。本邦におけるポンペ病患者の臨床疫学調査。第21回日本疫学会学術総会、札幌市 (2011年1月)
  - 56) 光吉孝真、山田弘武、坪井一哉、鈴木貞夫、永井正規。本邦におけるファブリ病患者の臨床疫学調査。第21回日本疫学会学術総会、札幌市 (2011年1月)
  - 57) 鈴木貞夫、小嶋雅代、永谷照男、今枝奈保美、柴田清、後藤千穂、服部奈美、徳留信寛。喫煙者、禁煙者のニコチン依存度別特性。第69回日本公衆衛生学会総会、東京 (2010年10月)
  - 58) 柴田清、鈴木貞夫、安田宣成、駒田絹子、佐藤寿一、後藤慎一、大澤功。LDL/HDL-コレステロール比と慢性腎臓疾患との関連性。第69回日本公衆衛生学会総会、東京 (2010年10月)
  - 59) 藤野善久、田邊直仁、本庄かおり、鈴木貞夫、磯博康、玉腰暁子。地域レベルの検診への関心と死亡に関するマルチレベル分析：JACC Study。第69回日本公衆衛生学会総会、東京 (2010年10月)
  - 60) 小嶋雅代、河邊真好、永谷照男、鈴木貞夫。大学敷地内全面禁煙後の医療従事者および施設利用者の喫煙について。第69回日本公衆衛生学会総会、東京 (2010年10月)
  - 61) 本庄かおり、磯博康、藤野善久、田邊直仁、鈴木貞夫、玉腰暁子。地域の社会経済指標と死亡リスク：JACC Study。第69回日本公衆衛生学会総会、東京 (2010年10月)
  - 62) 今井俊夫、北橋 宗、早川拓也、高橋真美。卵巣摘除ラットにおけるDMBA誘発性乳腺発がんに対する高レプチン血症の影響。第69回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010年9月)
  - 63) 今井俊夫、亘理 堯、菅野和夫、早川拓也、北橋 宗。卵巣摘除ラットにおけるDMBA誘発乳腺発がんに対する血中アディポカインの影響。第27回日本毒性病理学会、大阪市 (2011年1月)
  - 64) 山地太樹、岩崎 基、笹月 静、澤田典絵、津金昌一郎、鈴木雅裕、森山紀之、武藤倫弘、若林敬二。内臓脂肪体積と大腸腺腫との関連。がん予防学術大会 2010 札幌、札幌 (2010年7月)
  - 65) 鈴木礼子、岩崎 基、井上真奈美、笹月 静、澤田典江、山地太樹、島津太一、津金昌一郎。エタノール摂取量と乳がん罹患との関連。がん予防学術大会 2010 札幌、札幌 (2010年7月)
  - 66) 岩崎 基。シンポジウム「乳がんなどの女性ホルモン依存性がんのリス

- ク要因に関する疫学的・分子疫学的研究」“多目的コホート研究 (JPHC 研究) からのエビデンス”。がん予防学術大会 2010 札幌、札幌 (2010 年 7 月)
- 67) Yamaji, T., Iwasaki, M., Sasazuki, S., Tsugane, S. Interaction between adiponectin and leptin in the early stage of colorectal carcinogenesis. 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪 (2010 年 9 月)
- 68) Iwasaki, M. Analytic epidemiology for risk factors of breast cancer among Japanese. 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪 (2010 年 9 月)
- 69) Iwasaki, M., Tsugane, S. International Sessions: Asian trend of molecular epidemiology: Investigation of international collaboration Molecular epidemiologic studies of Japanese Brazilians: findings from breast cancer case-control studies. 第 69 回日本癌学会学術総会、大阪 (2010 年 9 月)
- 70) 鈴木礼子、岩崎 基、島津太一、津金昌一郎。年齢・強度別の余暇運動とホルモン受容体別乳がん罹患との関連—長野乳がん症例対照研究—。第 69 回日本公衆衛生学会、東京 (2010 年 10 月)
- 71) 鈴木礼子、岩崎 基、井上真奈美、笹月 静、澤田典絵、山地太樹、島津太一、津金昌一郎。20 歳時体重、その後の体重変動と乳がん罹患との関連 (エストロゲン・プロゲステロン受容体を考慮して): 多目的コホート (JPHC 研究) より。第 21 回日本疫学会学術総会、札幌 (2011 年 1 月)
- 72) 岩崎 基、井上真奈美、笹月 静、澤田典絵、山地太樹、島津太一、津金昌一郎。緑茶摂取と乳がん罹患との関連: 多目的コホート研究より。第 21 回日本疫学会学術総会、札幌 (2011 年 1 月)
- 73) 魏 民、山野荘太郎、石井真美、梯アンナ、鰐淵英機。ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットを用いた浸潤性膀胱がんモデルの開発。第 99 回日本病理学会総会、東京都 (2010 年 4 月)
- 74) 山野荘太郎、梯アンナ、石井真美、魏 民、鰐淵英機。QSTAR Elite LC-MS/MS を用いたマウス肺腫瘍におけるプロテオーム解析。第 99 回日本病理学会総会、東京都 (2010 年 4 月)
- 75) 石井真美、魏 民、梯アンナ、山野荘太郎、若狭研一、鰐淵英機。ペリニ管癌の一剖検例。第 99 回日本病理学会総会、東京都 (2010 年 4 月)
- 76) 魏 民、石井真美、北野光昭、多胡善幸、福島昭治、鰐淵英機。IQ の発がん性には実質的な閾値が存在する。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 77) 金川明裕、魏 民、田尻正喜、仲谷慎也、武下正憲、吉田 香、鰐淵英機。DMA<sup>V</sup> 誘発ラット膀胱発癌における DMMTA<sup>V</sup> の役割。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 78) 梯 アンナ、石井真美、山野荘太郎、大保ゆみ、林 修次、鰐淵英機。マウス肝発がんにおけるプロテオーム解析を用いた新たなバイオマーカーの検討。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 79) 大保ゆみ、魏 民、山野荘太郎、謝曉利、星 学、神吉将之、鰐淵英機。gpt delta rat を用いたダンマル樹脂の *in vivo* 変異原性および発がん修飾作用の検討。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 80) 山田貴宣、魏 民、豊田武士、金川明裕、仲谷慎也、陳 慶義、鰐淵英機。ラファノブラシカにおけるピロリ菌感染胃炎の修飾作用。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 81) 花田庄司、梯アンナ、山野荘太郎、丁 奎光、魏 民、西山典利、鰐淵英機。質量分析に基づいた肺扁平上皮癌のプロテオーム特性。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 82) 山野荘太郎、梯アンナ、丁 奎光、花田庄司、蟹江尚平、鰐淵英機。NTCU 誘発異型細気管支上皮細胞における細胞表面マーカーの同定。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 83) 丁 奎光、梯アンナ、山野荘太郎、花田庄司、魏 民、西山典利、鰐淵英機。ヒト肺腺癌の有用な新規腫瘍マーカーとしての AGR2。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 84) 櫻井靖高、横井雅幸、塚本徹哉、立松正衛、魏 民、鰐淵英機、花岡文雄。UVB 照射 DNA の損傷乗り越え複製における DNA ポリメラーゼイターとイオタの生体内での役割。第 69 回日本癌学会学術総会、大阪市 (2010 年 9 月)
- 85) 多胡善幸、仲谷和記、魏 民、山田

- 貴宣、太田成男、中島裕司、鰐淵英機。水素水による TAA 誘発ラット肝線維化の抑制効果。第 27 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、大阪市 (2011 年 1 月)
- 86) 武下正憲、山野荘太郎、梯 アンナ、石井真美、蟹江尚平、魏 民、鰐淵英機。NASH-HCC 発症 STAM マウスにおける病理組織学的解析。第 27 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、大阪市 (2011 年 1 月)
- 87) 謝 暁利、魏 民、梯 アンナ、山田貴宣、大保ゆみ、林 修次、鰐淵英機。マウス二段階肝発がんモデルを用いた IQ の肝発がん性の検討。第 27 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、大阪市 (2011 年 1 月)
- 88) 梯 アンナ、石井真美、山野荘太郎、魏 民、神吉将之、鰐淵英機。マウス肝発がんにおける新規バイオマーカー候補分子の検討。第 27 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、大阪市 (2011 年 1 月)
- 89) 大保ゆみ、魏 民、田尻正喜、謝 暁利、増村健一、能美健彦、鰐淵英機。*gpt delta rat* を用いたダンマル樹脂の *in vivo* 変異原性および発がん修飾作用の検討。第 27 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、大阪市 (2011 年 1 月)
- 90) 山田貴宣、魏 民、豊田武士、金川明裕、仲谷慎也、星 学、鰐淵英機。新規野菜ラファノブラシカによるピロリ菌誘発胃炎の抑制。第 27 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、大阪市 (2011 年 1 月)
- 91) 清水雅仁、白木亮、森脇久隆。分枝鎖アミノ酸製剤 (BCAA) を用いた肥満関連肝および大腸発癌の予防。第 96 回日本消化器病学会総会、新潟 (2010 年 4 月)
- 92) 清水雅仁、岩砂淳平、森脇久隆。インスリン抵抗性と IGF/IGF-1 受容体シグナルを標的とした肥満関連肝発癌予防。第 46 回日本肝臓学会総会、山形 (2010 年 5 月)
- 93) 清水雅仁、安田陽一、森脇久隆。肥満関連分子異常を標的とした大腸発癌予防。JDDW2010 (第 52 回日本消化器病学会大会)、横浜 (2010 年 10 月)
- 94) 高橋智、佐藤慎哉、朝元誠人、白井智之。アンギオテンシン受容体阻害剤による前立腺癌抑制効果とそのメカニズムの解析。第 99 回日本病理学会総会、東京 (2010 年 4 月)
- 95) 高橋智、上村博司、窪田吉信、白井智之。アンギオテンシン受容体ブロッカーによる前立腺癌増殖・進展抑制メカニズムの解析 (シンポジウム)。第 11 回ホルモンと癌研究会、名古屋 (2010 年 7 月)
- 96) 龍訥、高橋智、ピッチャカーヌ ポーンシリ、佐藤慎哉、鈴木周五、白井智之。紫トウモロコシ色素、紫イモ色素による前立腺がん化学予防の検討。第 27 回日本毒性病理学会、大阪 (2011 年 1 月)
- 97) Kubota, N., Watanabe, T., Kubota, T., Takamoto, I., Ueki, K., Kadowaki, T. Rimonabant Ameliorates Insulin Resistance via both Adiponectin-dependent and Adiponectin-independent Pathways. FASEB Summer Research Conference, Kyoto (October 3)
- 98) Kubota, N., Kubota, T., Kumagai, H., Inoue, M., Kawai, T., Yamauchi, T., Ueki, K., Kadowaki, T. Endothelial insulin signaling regulates capillary recruitment and glucose uptake in skeletal muscle. 70th American Diabetes Association's Scientific Sessions, ORLAND (June)
- 99) Kubota, N., Kubota, T., Kumagai, H., Yamauchi, T., Ueki, T., Kadowaki, T. Endothelial insulin-induced eNOS activation regulates capillary recruitment and glucose uptake in skeletal muscle. 8<sup>th</sup> International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress, KOREA (October)
- 100) 窪田直人、窪田哲也、門脇孝。シンポジウム：血管細胞の転写調節。第 18 回日本血管生物医学会学術集会、大阪 (2010 年 12 月)
- 101) 窪田直人、窪田哲也、山内敏正、植木浩二郎、箕越靖彦、門脇孝。シンポジウム：アピタイトカインの分子基盤と肥満。アディポネクチンの摂食・エネルギー代謝調節メカニズム第 31 回日本肥満学会、群馬 (2010 年 10 月)
- 102) 窪田直人、窪田哲也、熊谷裕紀、井上真理子、河合智子、山内敏正、植木浩二郎、門脇孝。シンポジウム：肝臓における糖と脂質代謝の分子メカニズム 糖と脂質代謝における肝 IRS1 と IRS2 の生理学的・病態生理学的役割。第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、岡山 (2010 年 5 月)

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

「フラボノイドの一種のモリン (morin) を有効成分とすることを特徴とする抗腫瘍剤、舌がん、大腸腫瘍に対する化学的予防薬剤である、前記の抗腫瘍剤」  
特許第 4570184 号取得

### 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

大腸・肝臓発がん抑制物質の検索

分担研究者 武藤 倫弘 国立がん研究センター研究所  
発がんシステム研究分野 ユニット長

**研究要旨** 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、本分担研究では、大腸・肝臓発がん促進に寄与すると考えられる Pai-1 の阻害作用を持つアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) 及びインスリン抵抗性改善薬の大腸及び肝臓発がんへの影響を肥満 KK-A<sup>y</sup> マウスを用いて検討した。ARB のアゾキシメタン (AOM) 誘発 KK-A<sup>y</sup> マウス大腸 aberrant crypt foci (ACF) 生成に与える影響を調べたところ、対照群に比較して、50 ppm ARB 投与群で約 20% 減少する傾向が認められ、2 個以上の異常腺窩からなる ACF の生成数が有意に減少した。更に、異型 ACF 生成数は ARB 投与により減少した。アルコールと高脂肪食負荷を KK-A<sup>y</sup> マウスに与えることにより脂肪肝炎の作成を試みた。その結果、投与 24 日で明らかな脂肪肝がみられ、それらは分岐鎖アミノ酸、ピタバスタチン、メトフォルミンの投与によって改善した。

A. 研究目的

がんは、1981 年以來、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。本分担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い、臨床応用を目指す。最終的には、安全性が高く、且つ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

【ARB の大腸前がん病変に与える影響の検討】

6 週齢雌 KK-A<sup>y</sup> マウスに、azoxymethane (AOM) を 1 匹当たり 200  $\mu$ g の用量で、週 1 回、計 3 週間腹腔内投与した。AOM 最終投与の 2 日後よりアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB; カンデサルタン) を 10、20、50 ppm の濃度で飲水投与し、13 週齢時に全マウスの大腸 aberrant crypt foci (ACF) 数及び ACs 数を測定した。さらにメタノールによる脱色を利用した方法を用い、異型 ACF 生成数の測定を行うことにより、より進行した ACF を評価した。大腸粘膜の細胞増殖活性は PCNA 免疫染色により評価した。その結果

を踏まえ、リン酸化 Akt、cyclinD1、c-Myc 等の細胞増殖関連蛋白質の発現を腸上皮を用いて検討した。腹部脂肪における細胞の縮小が認められたため、Pai-1 を含むアディポサイトカイン発現量を realtime-PCR にて評価した。

【短期脂肪肝炎モデルの作成とその評価】

6 週齢雌 KK-A<sup>y</sup> マウスに、基礎食 (4.5% fat)、15% EtOH + 基礎食、高脂肪食 (Quick Fat; 13.7% fat) または 15% EtOH + 高脂肪食を 24 日間与えた。更に 15% EtOH + 高脂肪食群に 3% 分岐鎖アミノ酸 (BCAA)、40 ppm pitavastatin または 1000 ppm metformin を投与した。体重、摂餌・水量は毎週測定し、毎日全身状態を観察した。脂肪肝の評価として、凍結切片を Oil red-O で染色した。また、肝臓内のトリグルセリド量を酵素法にて測定した。肝炎の評価として、肝臓より抽出した mRNA より各種炎症マーカーを realtime-PCR にて評価し、肝逸脱酵素、血糖値、インスリン値等を血中より測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は国立がんセンターの実験動物取り扱い (倫理) 規定を遵守して行った。

C. 研究結果

#### 【ARB の大腸前がん病変に与える影響の検討】

大腸 ACF 生成数は、対照群に比較して、50 ppm ARB 投与群で約 20%減少する傾向が認められ、2 個以上の異常腺窩からなる ACF の生成数は有意に減少した。更に、異型 ACF 生成数も ARB 投与により減少した。大腸粘膜の細胞増殖活性を PCNA 免疫染色により評価したところ、50 ppm ARB 投与群において、PCNA 陽性細胞の割合は有意に低下した。また、細胞増殖関連タンパクの発現を検討したところ、50 ppm ARB 投与群において c-Myc の発現抑制が認められた。また、50 ppm ARB 投与群で腹部脂肪細胞の HE 染色を行うとそのサイズが縮小していた。そこで、腹部脂肪におけるアディポサイトカイン発現の変化を検討したところ、調べたアディポサイトカインの内、plasminogen activator inhibitor-1 (Pai-1) の mRNA 発現が抑制されていることがわかった。血清 Pai-1 濃度も 50 ppm ARB 投与群で有意に低下していることを確認した。以上の結果より、アンジオテンシン II は c-Myc 発現および Pai-1 発現を介し大腸発がんに関与している可能性が示された。

#### 【短期脂肪肝炎モデルの作成とその評価】

摂餌量より計算した 1 日当たりの摂取カロリー量は、基礎食群、15% EtOH + 基礎食群、高脂肪食群または 15% EtOH + 高脂肪食群において 17 kcal、17 kcal、15 kcal、18 kcal であり、ほぼ同様であった。15% EtOH 投与群において摂水量が約半分に減少していた。インスリン抵抗性を改善する薬剤の投与群において摂取カロリー量及び摂水量の差は認められなかった。

各群の肝臓凍結切片を Oil red-O にて染色すると、15% EtOH + 高脂肪食群において著明に脂肪滴が赤染された。また、3% BCAA、40 ppm pitavastatin または 1000 ppm metformin の投与によって、染色が弱まる像が観察された。定量的に評価するために肝臓中のトリグリセリド値を測定した。その結果、基礎食群、15% EtOH + 基礎食群、高脂肪食群では 40-60  $\mu\text{g/g liver}$  に留まっていたトリグリセリド量が 15% EtOH + 高脂肪食群では約 200  $\mu\text{g/g liver}$  に増加していた。この値は、3% BCAA、40 ppm pitavastatin また

は 1000 ppm metformin の投与によって、100  $\mu\text{g/g liver}$  以下に減少した。炎症や線維化の指標となる cyclooxygenase-2、Pai-1、TGF $\beta$ 、tripartite motif-containing 78、connective tissue growth factor の変化は基礎食群、15% EtOH + 基礎食群、高脂肪食群または 15% EtOH + 高脂肪食群において認められなかった。3% BCAA、40 ppm pitavastatin または 1000 ppm metformin の投与によって血清脂質値 (トリグリセリド、総コレステロール、遊離脂肪酸) の改善が認められた。また、pitavastatin 投与群と metformin 投与群において、基礎食群と比べ insulin-like growth factor-1 値の有意な低下を認めた。

#### D. 考察

わが国において食生活の欧米化による大腸がん・脂肪肝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血中アディポサイトカイン値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。肝臓における脂肪滴は肝炎ウイルスの増殖の足場として重要であることも報告され、脂肪肝を伴う肝炎ウイルスにおいてはインターフェロン投与に耐性であ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  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) リガンドや NO-1886 (LPL 誘導剤) を使い、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。また、トリグリセリドで制御される Pai-1 の阻害剤は Min マウスの腸ポリープ生成を抑制することも見出した。今回、Agouti タンパクが異常発現し、過食により肥満となる KK-A<sup>y</sup> マウスを用い、ARB の大腸前がん病変に対する効果を検討した。ARB を用いた理由としては、ARB が

Pai-1 抑制作用を有すること、アンジオテンシノーゲンがアディポサイトカインの1つであること、近年前立腺がんにおいてレニン-アンジオテンシン系 (RAS) の重要性が指摘されていることが挙げられる。また、このマウスを用いた理由として、多遺伝子によって肥満が誘導されること、ヒトと同じ過食による肥満を呈すること、AOM 誘発大腸発がんの高い感受性を示すこと、高脂血症や血清 Pai-1 値が高いことが挙げられる。Pai-1 の阻害剤は、まだ臨床応用されていないことを考えると、ARB は安全性の確立された有用な Pai-1 抑制薬としての可能性がある。

本検討において、弱い大腸 ACF 抑制作用が ARB に認められた。その原因として KK-A<sup>y</sup> マウスにおける強い大腸 ACF 生成能を ARB が十分に抑制出来ないこと、ARB がより進行した前がん病変 (異型度の高い ACF、Wnt シグナルの活性化した病態) を標的としており、ARB の投与時期が適切でないこと等が考えられる。今後、Min マウス等を用いて、Wnt シグナルの活性化した病態における ARB の作用を確認する必要がある。

また、ARB の大腸 ACF 抑制作用は c-Myc 発現抑制および Pai-1 発現抑制を介している可能性が示された。Pai-1 は c-Myc によっても発現が制御されているため c-Myc 発現抑制により Pai-1 の発現も抑制された可能性がある。ARB が Pai-1 発現を抑制するメカニズムはわかっていないため、今後詳細なメカニズムを *in vitro* 実験系等を利用して明らかにしていく必要がある。また、Pai-1 と大腸発がんとの関連に関しても明らかに関連を説明するメカニズムは明らかにされておらず、今後の検討を要する。

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) 患者は肝臓移植を受けても高頻度で NASH が再発することが報告されている。この報告は、NASH が肝臓そのものの遺伝的変化よりも肥満や糖尿病等、全身的な影響が強いことを示している。これまでに脂肪肝の動物モデルは数多く報告されているが、脂肪肝モデルは少ない。また、これまでに肝がんを発症する遺伝子改変マウス (Pten KO, RARa DN, AOX KO マウス) の報告があるが、肝硬変を伴わない等、

ヒトの病態と乖離していた。そこで、インスリン抵抗性を伴う肥満マウスである KK-A<sup>y</sup> マウスに脂肪肝炎を作成することを試みた。脂肪合成負荷と腸管粘膜の透過性を亢進させる、E. coli の LPS 透過によるエンドトキシン誘発脂肪肝炎の発症が期待されたが、今回用いた実験期間では脂肪肝の生成に留まった。今後、実験期間を延長し、脂肪肝炎の発症を観察する必要がある。脂肪肝の発症に係る重要なリスクファクターにインスリン抵抗性が挙げられる。本検討でも明らかな様にインスリン抵抗性や脂質代謝を改善する BCAA、pitavastatin または metformin には、脂肪肝の生成抑制作用が認められた。

以上の結果より、アンジオテンシン II は c-Myc 発現および Pai-1 発現を介し大腸発がんに関与している可能性が示された。ARB の発がん抑制作用が、乳腺がん等の他の肥満関連がんにおいても認められるか検討する必要がある。脂肪肝から脂肪肝炎に至る経路を阻害する良い薬剤がないことを考えると、脂肪肝から脂肪肝炎を発症する良い動物モデルの作成は重要である。また、全身的な病態が脂肪肝炎の発症に関わることを考えると、アディポサイトカイン等の肥満に伴いバランスの崩れる生理活性物質の関与の解明が重要と思われる。これらの研究を進めることにより、より詳細な大腸・肝発がんの機序や大腸・肝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

現在、食の欧米化や運動の不足に伴って、大腸がん、脂肪肝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、肥満モデルを用いた検討を今後さらに詳細に行うことにより、大腸・肝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) Ikeda, K., Mutoh, M., Teraoka, N., Nakanishi, H., Wakabayashi, K.,



- Taguchi, R. Increase of oxidant-related triglycerides and phosphatidylcholines in serum and small intestinal mucosa during development of intestinal polyp formation in Min mice. *Cancer Sci.*, **102**, 79-87 (2011).
- 2) Teraoka, N., Mutoh, M., Takasu, S., Ueno, T., Nakano, K., Takahashi, M., Imai, T., Masuda, S., Sugimura, T., Wakabayashi, K. High susceptibility to azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis in obese KK-*A<sup>y</sup>* mice. *Int. J. Cancer*, in press.
  - 3) Teraoka, N., Mutoh, M., Takasu, S., Ueno, T., Yamamoto, M., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Inhibition of intestinal polyp formation by pitavastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor. *Cancer Prev. Res. (Phila)*, **4**, 445-453 (2011).
  - 4) Mutoh, M., Teraoka, N., Takasu, S., Takahashi, M., Onuma, K., Yamamoto, M., Kubota, N., Iseki, T., Kadowaki, T., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Loss of adiponectin promotes intestinal carcinogenesis in Min and wild-type mice. *Gastroenterology*, in press.
  - 5) Matsubara, S., Takasu, S., Tsukamoto, T., Mutoh, M., Masuda, S., Sugimura, T., Wakabayashi, K., Totsuka, Y. Induction of glandular stomach cancers in *Helicobacter pylori*-infected mongolian gerbils by 1-Nitrosoindole-3-acetonitrile. *Int. J. Cancer*, in press.
2. 学会発表
- 1) 武藤倫弘、高須伸二、寺岡直哉、高橋真美、堀美香、上野俊也、中野勝也、小宮雅美、杉村 隆、若林敬二。Min マウスにおける low-density lipoprotein 受容体遺伝子欠損の腸ポリープ生成に対する影響。第 17 回日本がん予防学会、札幌 (2010 年 7 月)
  - 2) 山路太樹、岩崎基、笹月静、澤田典絵、津金昌一郎、鈴木雅裕、森山紀之、武藤倫弘、若林敬二。内臓脂肪体積と大腸腺腫との関連。第 17 回日本がん予防学会、札幌 (2010 年 7 月)
  - 3) 上野俊也、武藤倫弘、北橋宗、寺岡直哉、高須伸二、中野勝也、高橋真美、杉村 隆、若林敬二、谷中昭典。Micro-CT を用いた肺腫瘍の悪性化に関わる因子の同定。第 17 回日本がん予防学会、札幌 (2010 年 7 月)
  - 4) 寺岡直哉、武藤倫弘、高須伸二、上野俊也、中野勝也、高橋真美、杉村隆、若林敬二。KK-*A<sup>y</sup>* マウスの肥満によるアゾキシメタン誘発大腸発がんの促進。第 17 回日本がん予防学会、札幌 (2010 年 7 月)
  - 5) 中野勝也、上野俊也、武藤倫弘、寺岡直哉、高須伸二、高橋真美、杉村隆、若林敬二。Azoxymethane 誘発 KK-*A<sup>y</sup>* マウス大腸 ACF 生成におけるピオグリタゾンの抑制作用。第 17 回日本がん予防学会、札幌 (2010 年 7 月)
  - 6) 高須伸二、武藤倫弘、寺岡直哉、上野俊也、中野勝也、高橋真美、堀美香、杉村 隆、若林敬二。肥満マウスにおけるアンギオテンシン II 受容体拮抗薬の AOM 誘発大腸 ACF 生成の抑制。第 17 回日本がん予防学会、札幌 (2010 年 7 月)
  - 7) 堀美香、高橋真美、石ヶ守里加子、高須伸二、武藤倫弘、杉村 隆、若林敬二。高脂肪食負荷 BOP 投与ハムスター膵臓における脂肪浸潤及び膵管発がんの促進。第 17 回日本がん予防学会、札幌 (2010 年 7 月)
  - 8) 吉本光喜、早川拓也、武藤倫弘、今井俊夫、梅田泉、藤井博史、杉村隆、若林敬二。ハムスター化学発がんモデルにおける <sup>111</sup>In-DOTA-c (RGDfK) を用いた早期膵がんイメージング。第 25 回日発癌病理研究会、松島 (2010 年 8 月)
  - 9) 高橋真美、石ヶ守里加子、堀美香、小宮雅美、武藤倫弘、杉村 隆、若林敬二。ハムスター化学発がんにおけるオステオポンチンとそのスプライシングバリエーションの発現上昇。第 69 回日本癌学会総会、大阪 (2010 年 9 月)
  - 10) 堀美香、北橋宗、高橋真美、今井俊夫、石ヶ守里加子、高須伸二、武藤倫弘、杉村 隆、若林敬二。高脂肪食による BOP 誘発ハムスター膵管発がん促進因子の検討。第 69 回日本癌学会総会、大阪 (2010 年 9 月)

- 11) 小宮雅美、武藤倫弘、高須伸二、小沼邦重、寺岡直哉、上野俊也、高橋真美、杉村 隆、若林敬二。Angpt13欠損マウスにおける腸ポリープ生成亢進と炎症状態の惹起。第69回日本癌学会総会、大阪(2010年9月)
- 12) 高須伸二、武藤倫弘、寺岡直哉、上野俊也、小沼邦重、高橋真美、堀美香、杉村 隆、若林敬二。肥満 KK-A<sup>y</sup>マウスにおけるアンギオテンシン II受容体拮抗薬の大腸発がんを与える影響。第69回日本癌学会総会、大阪(2010年9月)
- 13) 上野俊也、武藤倫弘、寺岡直哉、高須伸二、高橋真美、小宮雅美、谷中昭典、杉村 隆、若林敬二。ピオグリタゾン (PPAR $\gamma$ リガンド) の AOM 誘発肥満 KK-A<sup>y</sup>マウス大腸発がんへの影響。第69回日本癌学会総会、大阪(2010年9月)
- 14) 武藤倫弘。シンポジウム：肥満、脂質代謝異常の大腸発がん促進作用。第69回日本癌学会総会、大阪(2010年9月)
- 15) 小沼邦重、高須伸二、堀美香、中釜齊、武藤倫弘。肝発がんを促進する脂肪肝マウスモデルの作成。平成22年度「固体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ、琵琶湖ホテル(2011年2月)
- 16) 高須伸二、武藤倫弘、小沼邦重、堀美香、上野俊也、若林敬二、中釜齊。アンギオテンシン II 受容体拮抗薬の肥満関連大腸発がんを与える影響。平成22年度「固体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ、琵琶湖ホテル(2011年2月)
- 17) 上野俊也、武藤倫弘、中野勝也、谷中昭典、若林敬二。肥満 KK-A<sup>y</sup>マウスにおけるピオグリタゾンの azoxymethane 誘発大腸 aberrant crypt foci 生成の抑制。第7回日本消化管学会総会学術集会、京都(2011年2月)
- 18) Onuma K, Mutoh M, Takasu S, Hori M, Takahashi M, Nakagama H, Liver steatosis induced by high fat diet and alcohol in obese/insulin-resistant KK-A<sup>y</sup> mouse. The 3<sup>rd</sup> JCA-AACR Special Joint Conference, March 1-3, Chiba, Japan.

#### 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
- 2) 実用新案登録  
なし
- 3) その他  
なし

大腸・舌発がん抑制物質の検索

分担研究者 田中卓二 岐阜大学 非常勤講師

研究要旨 局所の炎症は、腫瘍微小環境の一つと考えられている。本分担研究では、炎症性細胞のうち、肥満細胞の発がんへの影響を知る目的で、肥満細胞欠損マウス（WBB6F1-W/W<sup>v</sup>）とその対照マウス（WBB6F1-+/+）を用いて肥満細胞の AOM/DSS 誘発炎症関連大腸発がんへの影響を検討した。その結果、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウスの大腸腺がんおよび大腸腫瘍の固体当たりの発生個数は WBB6F1-+/+マウスのそれに比較して、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウスで有意な低値を得、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウスに発生した大腸腫瘍の体積も WBB6F1-+/+マウスに比較して、有意（ $p < 0.001$ ）に低かった。以上の結果は、肥満細胞は大腸腫瘍の発育とともに、大腸発がんにも影響することを示唆するものであり、肥満細胞は大腸発がん抑制や腫瘍増殖抑制の標的となり得ると考えられた。

A. 研究目的

局所の炎症はその組織における腫瘍の発育に関与するとされ、腫瘍微小環境の一つと考えられている。炎症性細胞のうち、免疫、アレルギー、血管新生、組織再構築に関与する肥満細胞も腫瘍発育に影響するとされるが、発がんへの影響を実験的に検討した報告は乏しい。そこで、肥満細胞欠損マウス（WBB6F1-W/W<sup>v</sup>；C57BL/6 バックグラウンド）とその正常対照マウス（WBB6F1-+/+）を用いて肥満細胞の AOM/DSS 誘発炎症関連大腸発がんへの影響を検討した。

B. 研究方法

4 週齢の雄性 WBB6F1-W/W<sup>v</sup>（C57BL/6 バックグラウンド）31 匹、WBB6F1-+/+34 匹を使用し、それぞれ AOM/DSS 投与群、AOM 群、DSS 群、無処置群に分けた。AOM は 10 mg/kg 体重を単回、腹腔内投与し、DSS は AOM 投与 1 週間後より 1 週間 2%の用量で飲

水投与した。実験は 20 週で終了し、大腸を中心に病理学的解析を行った。尚、実験開始後 12 週時に各群 2 匹について大腸病変の発生状況を観察した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、金沢医科大学動物実験指針に従い、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

12 週時での大腸病変は、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウスの AOM/DSS 投与群 2 匹で粘膜潰瘍が計 8 個、異形成が計 2 個、腺腫が計 4 個、腺がんが計 1 個、DSS 群 2 匹では粘膜潰瘍が計 8 個観察された。一方、WBB6F1-+/+マウスでは、AOM/DSS 投与群 2 匹で粘膜潰瘍が計 16 個、異形成が計 8 個、腺腫が計 2 個、腺がんが計 7 個、DSS 群 2 匹では粘膜潰瘍が計 34 個観察された。WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウス、WBB6F1-+/+マウスとも他群の大腸に病変は観察されなかった。

実験終了時（実験開始後 20 週）の大腸病変の発生状況は、粘膜潰瘍が WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウス AOM/DSS 投与群で 42% (0.83±1.19/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 40% (1.40±1.95/匹)、無処置群 0% であり、WBB6F1-+/+ マウスでは AOM/DSS 投与群で 80% (1.60±1.35/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 40% (1.60±1.82/匹)、無処置群 0% であった。異形成病変は WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウス AOM/DSS 投与群で 100% (2.83±1.64/匹)、AOM 群 25% (0.50±1.00)、DSS 群 40% (0.80±1.10/匹)、無処置群 0% であり、WBB6F1-+/+ マウスでは AOM/DSS 投与群で 80% (2.30±2.63/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 20% (0.80±1.79/匹)、無処置群 0% であった。腺腫は、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウス AOM/DSS 投与群で 58% (1.17±1.19/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 0%、無処置群 0% であり、WBB6F1-+/+ マウスでは AOM/DSS 投与群で 60% (0.80±0.92/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 0%、無処置群 0% であった。腺がんは、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウス AOM/DSS 投与群で 83% (1.42±0.90/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 0%、無処置群 0% であり、WBB6F1-+/+ マウスでは AOM/DSS 投与群で 100% (4.80±3.33/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 0%、無処置群 0% であった。大腸腫瘍（腺腫+腺がん）では、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウス AOM/DSS 投与群で 92% (2.58±1.31/匹)、WBB6F1-+/+ マウスでは AOM/DSS 投与群で 100% (5.60±3.89/匹)、AOM 群 0%、DSS 群 20% (0.80±1.79/匹)、無処置群 0% であった。両マウスにおける大腸腫瘍の発生頻度には有意差をみなかったが、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウスの大腸腺がん ( $p<0.005$ ) および大腸腫瘍 ( $p<0.02$ ) の

発生個数は WBB6F1-+/+ マウスに比較して、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウスで有意な低値をみた。また、WBB6F1-W/W<sup>v</sup> マウス (0.799±0.892 mm<sup>3</sup>) に発生した大腸腫瘍の体積も WBB6F1-+/+ マウス (3.454±3.708 mm<sup>3</sup>) に比較して、有意 ( $p<0.001$ ) に低かった。体重、肝臓・腎臓・脾臓重量および大腸長には両マウスおよび群間に有意差をみなかった。尚、DSS の飲水量にも両マウス間に有意差をみなかった。

#### D. 考察

本研究の結果から、肥満細胞は大腸腫瘍の発育とともに、大腸発がんにも影響することが判明し、肥満細胞欠如による炎症関連大腸発がん抑制が示唆された。これらの結果は、これまで報告されている肥満細胞の発がんへの関与を支持するものであり、肥満細胞浸潤やその数をコントロールすることにより、炎症関連大腸発がんを抑制出来る可能性を示唆している。近年、肥満細胞と腫瘍発育の関連が、腫瘍微小環境や各種 mediators の観点から注目され、解析が進み、成果が報告されつつある。したがって、今回の結果を踏まえ、今後、メカニズム解析のため、大腸組織におけるサイトカインの発現など、詳細な解析が必要である。加えて、大腸がんを含むヒト各種がん組織での肥満細胞あるいはその mediators の解析を行う予定である。

#### E. 結論

肥満細胞は大腸腫瘍の発育とともに、大腸発がんにも影響することが示唆され、

肥満細胞欠如による炎症関連大腸発がん抑制が示唆された。今回の実験結果から、肥満細胞浸潤やその数をコントロールすることにより、炎症関連大腸発がんを抑制出来る可能性が示唆された。今後、メカニズム解析のため、大腸組織におけるサイトカインの発現など、詳細な解析が必要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Yasui Y. and Tanaka, T. Chemoprevention of colorectal carcinogenesis by natural anti-inflammatory agents. *Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Special Issue, Guest Editor: Francesco Epifano)*, 9: 150-157, 2010.

Tanaka, T., Tanaka, M., Tanaka, T., and Ishigamori, R. Biomarkers for colorectal cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 11: 3209-3225, 2010.

Tanaka, T., de Azevedo, M.B.M., Durán, N., Alderete, J.B., Epifano, F., Genovese, S., Tanaka, M., Tanaka, T., and Curini, M. Colorectal cancer chemoprevention by two beta-cyclodextrin inclusion compounds of auraptene and 4'-geranyloxyferulic acid. *Int. J. Cancer*, 126: 830-840, 2010.

Miyamoto, S., Tanaka, T., Murakami, A. Increased visceral fat mass and insulin signaling in colitis-related colon carcinogenesis model mice. *Chem Biol Interact.*, 183: 271-275, 2010.

Miyamoto, S., Yasui, Y., Ohigashi, H., Tanaka, T., and Murakami, A. Dietary flavonoids suppress azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in male C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Chemico-Biol. Interact.*, 183: 276-283, 2010.

Iwasa, J., Shimizu, M., Shiraki, M.,

Shirakami, Y., Sakai, H., Terakura, Y., Takai, K., Tsurumi, H., Tanaka, T., and Moriwaki, H. Dietary supplementation with branched-chain amino acids suppresses diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Cancer Sci.*, 101: 460-467, 2010.

Kim, M., Murakami, A., Miyamoto, S., Tanaka, T., and Ohigashi, H. The modifying effects of green tea polyphenols on acute colitis and inflammation-associated colon carcinogenesis in male ICR mice. *BioFactors*, 36: 43-51, 2010.

Yasuda, Y., Shimizu, M., Shirakami, Y., Sakai, H., Kubota, M., Hata, K., Hirose, Y., Tsurumi, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. Pitavastatin inhibits azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in C57BL/KsJ-*db/db* obese mice. *Cancer Sci.* 101: 1701-1707, 2010.

Nakajima, H., Ishigaki, Y., Xia, Q.-S., Ikeda, T., Yoshitake, Y., Yonekura, H., Nojima, T., Tanaka, T., Umehara, H., Tomosugi, N., Takata, T., Shimasaki, T., Nakaya, N., Sato, I., Kawakami, K., Koizumi, K., Minamoto, T., and Motoo, Y. Induction of HITS, a newly identified family with sequence similarity 107 protein (FAM107B), in cancer cells by heat shock stimulation. *Int. J. Oncol.*, 37: 583-593, 2010.

坂本寛文、牛丸一樹、三輪則之、田中卓二：子宮頸部液状処理細胞診検体のセルブロックへの応用。日本臨床細胞学会誌 49: 449-450, 2010.

田中卓二：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会報 32号：36-47, 2010.

### 2. 学会発表

塚本徹哉、時 亮、斎藤亜弓、豊田武士、高須伸二、斎藤典子、山本昌美、田中卓二、立松正衛：Cylooxygenase-2 阻害剤 Etodolac びよる DSS 誘発 Min マウス大腸腫瘍就職効果. 第 26 回日本毒性病理学会、金沢 (2010 年 2 月)

尾山 武、安井由美子、杉江茂幸、田中卓二：高コレステロール血症モデルマウスにおける大腸発がん感受性. 第 26 回日本毒性病理学会、金沢 (2010 年 2 月)

豊田尚美、安井由美子、村松美那、増村健一、田中卓二：gpt delta transgenic rat におけるカプサイシンとシリマリンの化学予防効果. 第 26 回日本毒性病理学会、金沢 (2010 年 2 月)

Tanaka, T.: Novel two stage colon carcinogenesis models for the investigation of inflammation-associated colon carcinogenesis and the development of chemopreventive interventions. 2010 International Symposium "Recent Trends in Aging Research and Age-related Inflammatory Disorders", Busan, Korea (Feb. 2010)

寺崎 将、高上馬希重、関崎春雄、長尾明彦、田中卓二、増田園子：薬用植物及び食品由来成分による複合的大腸がん細胞増殖抑制効果. 日本薬学会第 130 年会、岡山 (2010 年 3 月)

塚本徹哉、時 亮、斎藤亜弓、豊田武士、田中卓二、立松正衛：COX-2 阻害剤 Etodolac による DSS 誘発 Min マウス大腸腫瘍抑制効果. 第 99 回日本病理学会総会、東京 (2010 年 4 月)

尾山 武、安井由美子、杉江茂幸、田中卓二：LDL 受容体欠損マウスにおける大腸発がん感受性. 第 99 回日本病理学会総会、東京 (2010 年 4 月)

杉江茂幸、尾山 武、田中卓二：BBN 誘発ラット膀胱発がんにおける BITC、PEITC の修飾効果. 第 99 回日本病理学会総会、東京 (2010 年 4 月)

村上 明、宮本真吾、大東 肇、安井由美子、田中卓二：Leptin 産生と大腸発がんに対するフラボノイドの抑制効果. 第 10 回 AOB 研究会、神戸 (2010 年 6 月)

寺崎 将、高上馬希重、関崎春雄、長尾明

彦、田中卓二、細川雅史、宮下和夫、増田園子：活性型ビタミン D3、shikonin、fucoxanthin による複合的大腸がん細胞増殖抑制作用. 日本ビタミン学会第 62 回大会、盛岡 (2010 年 6 月)

尾山 武、杉江茂幸、田中卓二：大腸発がんに対する LDL 受容体ファミリー発現の影響. がん予防学術大会 2010 札幌 (第 17 回日本がん予防学会・第 33 回日本がん疫学研究会・第 11 回日本がん分子疫学研究会)、札幌 (2010 年 7 月)

長澤友樹、馬淵良太、三好規之、田中卓二、大島寛史：ヤムイモ成分による大腸がんの化学予防. がん予防学術大会 2010 札幌 (第 17 回日本がん予防学会・第 33 回日本がん疫学研究会・第 11 回日本がん分子疫学研究会)、札幌 (2010 年 7 月)

安井由美子、田中卓二、細川雅史、宮下和夫：Fucoxanthin による AOM/DSS モデルマウス大腸発がん抑制効果. がん予防学術大会 2010 札幌 (第 17 回日本がん予防学会・第 33 回日本がん疫学研究会・第 11 回日本がん分子疫学研究会)、札幌 (2010 年 7 月)

田中卓二：米ぬか由来トリシンの発がん予防作用とそのメカニズム. がん予防学術大会 2010 札幌 (第 17 回日本がん予防学会・第 33 回日本がん疫学研究会・第 11 回日本がん分子疫学研究会)、札幌 (2010 年 7 月)

寺崎 将、田中卓二、増田園子：ヒト大腸がん細胞に対する食品由来油溶性成分による複合的 PPAR $\gamma$  発現抑制. 第 25 回発癌病理研究会、松島 (2010 年 8 月)

吉見一人、田中卓二、芹川忠夫、庫本高志：APC タンパク質 C 末端ドメインは DSS 誘発大腸炎症に重要な役割を果たす. 第 25 回発癌病理研究会、松島 (2010 年 8 月)

Sugie, S., Yasui, Y., Oyama, T., Tanaka, T., and Nakagama, H.: Reduced susceptibility to inflammation associated colon carcinogenesis model in *ob/ob* mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka (Sept. 2010)

Yoshimi, K., Tanaka, T., and Kuramoto, T.: Increased susceptibility to dextran sulfate sodium induced colitis in rat model lacking APC carboxy

terminal domains. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka (Sept. 2010)

Oyama, T., Kohno, H., Sugie, T., and Tanaka, T.: Sensitivity of a hypercholesterolemic apolipoprotein E deficient mice model to AOM/DSS-induced colon carcinogenesis. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka (Sept. 2010)

Tanaka, T., Yasui, Y., Terasaki, M., and Masuda, S.: Dietary morin, a LOX/COX inhibitor, suppresses colitis-associated rat colorectal carcinogenesis. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka, Sept (Sept. 2010)

Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., and Tanaka, T.: Inhibitory effects of fucoxanthin on colitis-related colon carcinogenesis in mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka, Sept (Sept. 2010)

Toyoda, N., Yasui, T., Masumura, K., Muramatsu, M., Tanaka, T., and Noumi, T.: Chemopreventive effects of capsaicin and silymarin on chemically-induced carcinogenesis in *gpt* delta transgenic rats. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka, Sept (Sept. 2010)

Miyoshi, N., Nagasawa, T., Yasui, Y., Tanaka, T., and Ohshima, H.: Yams and its constituent diosgenin suppress azoxymethane/dextran sodium sulfate-induced colon cancer in mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka, Sept (Sept. 2010)

Kubota, M., Shmizu, M., Sakai, H., Yasuda, Y., Tanaka, T., Moriwaki, H.: Curcumin suppresses obesity-related colonic preneoplastic lesions in obese and diabetic C57BL/KsJ-*db/db* mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka, Sept (Sept. 2010)

Yasuda, Y., Shimizu, M., Kubota, M., Sakai, H., Tanaka, T., and Moriwaki, H.: Pitavastatin inhibits azoxymethane (AOM)-induced colonic preneoplastic

lesions in C57BL/KsJ-*db/db* (*db/db*) obese mice. 69<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Osaka, Sept (Sept. 2010)

Toyoda-Hokaiwado, N., Yasui, Y., Muramatsu, M., Masumura, K., Takamune, M., Yamada, M., Ohta, T., Tanaka, T., and Nohmi, T.: Chemopreventive effects of silymarin, a plant constituent, against the carcinogenicity of dimethylhydrazine plus dextran sodium sulfate in the colon of *gpt* delta transgenic rats. 10<sup>th</sup> International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (ICMAA), Guarujá, SP, Brazil, Sept (Sept. 2010)

井上博文、秋山聡子、根角厚司、山本(前田)万理、斎藤猛、田中卓二、村上 明: DSS 誘発大腸炎モデルマウスに対する緑茶カテキンの逆作用機序の解明。第 15 回日本フードファクター学会 (JSOFF2010)、仙台 (2010 年 10 月)

村松美那、豊田尚美、安井由美子、増村健一、高宗万希子、山田雅巳、田中卓二、太田敏博、能美健彦: *gpt* delta transgenic rat を用いたシリマリソとカプサイシンの化学予防効果の検討。日本環境変異原学会第 39 回大会つくば市 (2010 年 11 月)

Tanaka, T., Yasui, Y., Terasaki, M., and Masuda, S.: Dietary morin suppresses colitis-associated rat colorectal carcinogenesis. XVIIIth International Workshop on Genetic Systems in the Rat. Kyoto (Nov. 2010)

Yoshimi, K., Tanaka, T., Serikawa, T., and Kuramoto, T.: Enhanced colonic inflammation in an Apc-mutant rat strain that lacks carboxyl terminal domains. XVIIIth International Workshop on Genetic Systems in the Rat. Kyoto, (Nov. 2010)

吉見一人、橋本貴生、田中卓二、畑 和也、芹川忠夫、庫本高志: KAD ラットを用いた大腸癌化学療法試験法の確立。第 108 回関西実験動物研究会、京都 (2010 年 12 月)

Masumura, K., Toyoda, N., Yasui, Y., Muramatsu, M., Takamune, M., Yamada, M.,

Tanaka, T., and Nohmi, N.:  
Chemopreventive effects of silymarin  
on mutagenesis and carcinogenesis in  
Gpt delta transgenic rats. 2nd Asian  
Conference on Environmental Mutagens  
(2nd ACEM), Pattaya, Thailand (Dec.  
2010)

Tanaka, T.: An animal model of  
inflammation-associated colon  
carcinogenesis (TANAKA-model) for  
preclinical cancer chemoprevention  
studies. 2nd International Cancer  
Research Symposium,  
Thiruvananthapuram, India (Dec. 2010)

#### G. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

特許第 4570184 号

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし。



大腸発がん抑制物質の検索

分担研究者 塚本徹哉 三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学分野 准教授

研究要旨 ICR マウスに Azoxymethane+dextran sulfate sodium を投与して大腸がんを誘発し、GH と拮抗する somatostatin analogue である Octreotide を投与して成長ホルモン(GH)–insulin like growth factor-1 (IGF1) 経路の抑制による大腸発がん制御への有用性を検討した。その結果、腫瘍発生率や発生数に明らかな変化は見られなかったが、腫瘍体積の有意な低下が見られた。Octreotide 投与により、下垂体 GH mRNA は低下傾向を、その下流の肝 IGF1 mRNA は、経時的に用量依存性に有意に低下した。大腸粘膜では、IGF receptor やその下流のシグナル伝達経路に有意な変動は見られなかったが、Octreotide 投与群で IGF に抑制的に働く IGFBP2 mRNA の増加が見られた。以上より、GH-IGF1 経路の制御による大腸発がん抑制効果の可能性が示唆された。

A. 研究目的

大腸がんは、増加傾向のあるがんのひとつであり、その予防は重要な課題と考えられている。近年ではメタボリックシンドロームの概念に普及とともに、糖尿病や高脂血症の発がんへの関与が示されつつある。特に II 型糖尿病では、細胞側のインスリン応答性の低下とともに高インスリン血症が誘発される。インスリンは、細胞の insulin receptor (IR) A、B、homodimer あるいはそれらの heterodimer に結合する。一方、IGF-1、IGF-2 は、insulin like growth factor 1 receptor (IGF1R) homodimer、あるいは IGF1R と IRA、IGF1R と IRB の heterodimer に結合し、それらは、下流の insulin receptor substrate (IRS) を介して PI3K、AKT、mTOR を活性化する。IGF-1 は、somatomedin と呼ばれ、成長ホルモン(Growth hormone, GH)の刺激により、肝臓から産生されて全身臓器

の成長に関与する。逆に、IGF-binding proteins (IGFBPs) は、IGF と結合し、その機能を抑制する。

GH-IGF1 経路と、大腸発がんについては、種々の疫学的検討がなされており、IGF1 が高値であることや IGFBP3 が低値であることは、大腸発がんのリスクを高めるとの報告があるが、一方では、IGF1 レベルや IGFBP2 あるいは IGFBP3 のレベルとは有意な相関がないとの報告もあり今後の研究が待たれている。

Octreotide (somatostatin analogue, Sandostatin) は、GH の分泌を抑制し、巨人症、末端肥大症、あるいは神経内分泌腫瘍の治療に用いられている GH 拮抗剤である。今回、Octreotide を用いて、マウス大腸発がん抑制効果を検討した。

B. 研究方法

【方法】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、その後は水道水を自由飲水投与した。エサはCE-7 (クレア) を用いた。実験第2, 6, 10週に、B群、C群に Octoreotide (Sandostatin LAR, Novartis Pharma, Basel, Switzerland) をそれぞれマウス1匹当たり1回、0.01 (ヒト投与量相当)、あるいは0.2 mg (ヒト投与量の20倍相当) を大腿部の筋肉内に注射した。A群には、溶媒である生理食塩水を同様に投与した。実験第8, 11, 14週にそれぞれ、5, 10, 25匹ずつ屠殺し、大腸腫瘍の発生率、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解析した。

実験第14週における各群の血清脂質値 (中性脂肪、総コレステロール、HDLコレステロール、LDLコレステロール) を測定した。

下垂体、肝臓、大腸粘膜の一部を採取し、total RNAを抽出し、下垂体成長ホルモン (Growth hormone, GH)、肝 insulin like growth factor-1 (IGF-1, somatomedin)、大腸 growth hormone receptor (Ghr)、IGF-1、IGF-1 receptor (IGF-1R)、IGF binding protein 2 (IGFBP2)、IGFBP3、IGFBP5、AKT、mammalian target of rapamycin (mTOR)、Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ )、cyclooxygenase-2 (COX2)、inducible nitric oxide synthase (iNOS)

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。

(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) 及び三重大学動物実験取扱規定を遵守し、三重大学動物実験委員会の承認 (承認番号 21-32) のもと遂行した。

### C. 研究結果

1) 大腸腫瘍発生率と発生数: ICRマウスにAOM, DSS投与後、実験第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。A、B、C群それぞれの腫瘍発生数は、第8週では  $5.3 \pm 2.9$ 、 $4.3 \pm 2.5$ 、 $9.0 \pm 1.4$  個/個体 (平均 $\pm$ SE)、第11週では  $8.9 \pm 1.2$ 、 $7.2 \pm 1.4$ 、 $9.1 \pm 1.1$  個/個体、第14週では  $12.7 \pm 1.4$ 、 $12.5 \pm 1.4$ 、 $14.3 \pm 1.1$  個/個体といずれの週数でも各群に有意な差は見られなかった。

2) 大腸腫瘍体積: 第8、11、14週の腫瘍の体積を比較した。第8週の  $1 \text{ mm}^3$  以上の大きさの腫瘍体積は、A、B、C群それぞれ、 $9.4 \pm 2.0$ 、 $2.9 \pm 0.6$ 、 $2.7 \pm 0.7 \text{ mm}^3$  (平均 $\pm$ SE)で、A群に比べて、C群で有意に腫瘍の体積が小さかった ( $P < 0.05$ )。第11週における  $1 \text{ mm}^3$  以上の大きさの腫瘍体積は、それぞれ、 $8.4 \pm 1.7$ 、 $9.1 \pm 2.8$ 、 $2.9 \pm 0.4 \text{ mm}^3$  と、C群でA ( $P < 0.05$ )、B ( $P < 0.05$ ) 群よりも有意に腫瘍の体積の減少があった。第14週では、それぞれ、

12.4±1.3、10.2±1.1、8.3±0.8 mm<sup>3</sup>と、C群でA群よりも腫瘍の体積の有意な低下が見られた (P<0.05)。

3) 血清脂質値：実験第 14 週における各群の血清脂質値を測定した。その結果、中性脂肪は、A、B、C 群それぞれ、120.7±8.4、129.5±9.6、153.1±9.2 (mg/dl、平均±SE)とAからC群に対して有意に上昇した (P<0.05)。一方、総コレステロールは、それぞれ、132.9±5.2、145.7±4.2、125.7±5.4 (mg/dl)、HDL コレステロールは、それぞれ、104.0±4.0、113.8±3.7、95.8±4.2 (mg/dl)、LDL コレステロールは、それぞれ、9.3±0.7、10.5±0.6、9.1±1.0 (mg/dl)と群間の有意な差は見られなかった。

4) 遺伝子発現の変化：

a) 下垂体 GH mRNA 相対値：実験第 8 および 11 週では、有意な変化は確認されなかったが、実験第 14 週においては、A群を 1 (1±0.06)とした時のB、C群のGH mRNA 相対値は、0.97±0.06、0.85±0.07と減少傾向にあった (P=0.10)。

b) 肝 IGF-1 mRNA 相対値：実験第 8 週では、有意な変化は確認されなかったが、実験第 11 週においては、A群を 1 (1.00±0.12)とした時のB、C群の肝 IGF-1 mRNA 相対値は、0.85±0.08、0.71±0.05と有意に減少した (Liner trend, P<0.05)。また、14 週では、A、B、C 群それぞれ 0.56±0.03、0.51±0.02、0.44±0.02とさらに減少した (Liner trend, P<0.05)。

c) 大腸における種々の遺伝子発現量：A、B、C 群における種々の遺伝子の発現量を

検討した結果、Ghr、IGF1、IGF1R、IGFBP3、IGFBP5、AKT、mTOR、TNF  $\alpha$ 、COX2、iNOS の mRNA 量に有意な変化は見られなかったが、IGFBP2 は、A群 1 (1.00±0.11)に対して、B、C 群では、1.22±0.18、1.69±0.19と有意な上昇が見られた (Liner trend, P<0.05)。

D. 考察

ICR マウスに Octreotide を投与することによって、下垂体 GH mRNA に低下傾向が見られた。肝 IGF-1 mRNA 値は、経時的かつ用量依存性に有意に低下した。以上の点から Octreotide 投与による GH-IGF1 経路の抑制の効果ありと判定した。

Octreotide によって、AOM-DSS 誘発大腸腫瘍の発生率、発生数に有意な差は確認されなかったが、腫瘍の体積に有意な低下が見られた。

大腸粘膜における種々の遺伝子発現を検討した結果、大腸粘膜における local な IGFBP2 の有意な上昇が見られた。IGFBP2 は、IGF1 および IGF2 に結合し拮抗的に働くことが知られており、大腸粘膜局所において、腫瘍の進展の抑制に関与した可能性が示唆された。一方で、肝臓における IGFBPs の発現の検討が必要と考えられた。

大腸粘膜における Akt, mTOR mRNA の発現に有意な差は見られなかったが、translational あるいは post-translational な変化の検討が必要と考えられた。

以上より、マウスの系においても、GH-IGF 経路の制御が大腸がんの制御に有用である可能性が示唆された。

## E. 結論

大腸がんは増加傾向にあり胃がんや肺がんとともにがんによる主な死因を占めており、治療法の開発とともにその予防も重要な課題のひとつである。近年では、大腸がんのリスクファクターとして、高脂血症や糖尿病の関与が示唆されている。GH-IGF1 経路と、大腸がんについては、種々の疫学的検討が報告されているが、個体レベルでの実験的検討は未だなされていない。Epidermal growth factor (EGF) と比べると、IGF 経路はその生体における重要性から分子標的治療の標的として今まで手つかずの状態であったが、近年、その開発が着手されている。GH をその上流から制御する因子である somatostatin の analogue である octreotide は、somatostatin を分子構造的に安定化させたペプチドであり、GH の分泌を抑制することによって IGF 経路を抑制する。今回の実験では、ICR マウスに octreotide を投与することによって、統計学的に有意とは言えないものの下垂体 GH mRNA に低下傾向が伺われた。その下流である肝 IGF-1 mRNA 値は、実験第 11 および 14 週において、経時的かつ用量依存性に低下した。以上の点からマウスにおいても octreotide 投与による GH-IGF1 経路の抑制にある程度の効果を認めたと判定した。

Octreotide によって、AOM-DSS 誘発大腸腫瘍発生率、発生数に有意な差は確認されなかったが、腫瘍の体積に有意な低下が見られ、大腸がん過程において腫瘍の進展の抑制に効果があったと考えられた。

大腸粘膜において、種々の遺伝子発現を検討した結果、大腸粘膜における local な IGFBP2 mRNA の有意な上昇が見られた。IGFBP2 は、IGF1 および IGF2 に結合し拮抗的に働くことが知られており、大腸粘膜局所において、腫瘍の進展の抑制に関与した可能性が示唆された。一方で、肝臓における IGFBP の発現の検討が必要と考えられた。

大腸粘膜における Akt, mTOR mRNA の発現に有意な差は見られなかったが、translational あるいは post-translational な変化の検討が必要と考えられた。

以上より、マウスの系においても、GH-IGF 経路の制御が大腸がんの制御に有用である可能性が示唆された。

今後、ヒト大腸がん患者における insulin, IGF1, 2 の発現、大腸がん組織における insulin および IGF receptor、さらには、それらをブロックする IGFBP の局所的発現を検討し、ヒト大腸がん機構の解明とその予防への貢献が待たれると考える。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

(1) Niwa, T., Tsukamoto, T., Toyoda, T.,