

- Mori, A., Tanaka, H., Maekita, T., Ichinose, M., Tatematsu, M., Ushijima, T. Inflammatory processes triggered by *Helicobacter pylori* infection cause aberrant DNA methylation in gastric epithelial cells. *Cancer Res* 70: 1430-1440, 2010.
- (2) Yanaoka, K., Oka, M., Yoshimura, N., Deguchi, H., Mukoubayashi, C., Enomoto, S., Maekita, T., Inoue, I., Ueda, K., Utsunomiya, H., Iguchi, M., Tamai, H., Fujishiro, M., Nakamura, Y., Tsukamoto, T., Inada, K., Takeshita, T., Ichinose, M. Preventive effects of etodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on cancer development in extensive metaplastic gastritis, a *Helicobacter pylori*-negative precancerous lesion. *Int J Cancer* 126: 1467-1473, 2010.
- (3) Hur, K., Niwa, T., Toyoda, T., Tsukamoto, T., Tatematsu, M., Yang, H.K., Ushijima, T. Insufficient role of cell proliferation in aberrant DNA methylation induction and involvement of specific types of inflammation. *Carcinogenesis*. 32: 35-41, 2011.
- (4) 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*. 2011 (in press)
2. 学会発表
- (1) 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) 抄録集、p. 71、札幌、(2010 年 7 月)
- (2) 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) 抄録集、p. 77、札幌、(2010 年 7 月)
- (3) 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、p. 132、大阪 (2011 年 1 月)
- (発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
- 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

大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

分担研究者 氏名 高山哲治 所属 徳島大学 職名 教授

研究要旨 最近、右側大腸癌の前病変と考えられている大腸鋸歯状病変 Sessile Serrated Adenoma/Polyp (SSAP) の患者を対象に、拡大内視鏡を用いて微小病変である Aberrant crypt foci (ACF) を観察したところ、高頻度(97.1%, 34/35)に多く(4.2±2.3 個/右側大腸)の ACF を認めた。ACF は、病理組織学的に腺上部から底部まで拡張した腺管から構成されており、SSAP と類似の所見を呈していた。ACF の Ki67 染色では、腺管底部から中部にかけて陽性細胞を認め、細胞増殖活性が高まっていた。ACF は B-RAF 変異が高率に認められ、HIC1 や p16 などのメチル化も半数以上に認められた。一方、SSAP では B-RAF 変異(77.1%)であり、メチル化も高率に認められることから、B-RAF 変異とメチル化により ACF が生じ、メチル化が蓄積して SSAP に進展し、ついには MLH1 がメチル化されて MSI 陽性癌に進展す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、ACF が adenoma-cancer sequence の前病変である可能性を指摘した。一方、最近 Sessile Serrated Adenoma (SSA) などの serrated polyp からの発癌が右側大腸癌の発生経路として注目されている。本研究では、35 例の SSAP 患者を対象に右側大腸の ACF を観察し、健常人と比較することにより右側大腸における ACF の SSAP-cancer sequence の前病変としての意義を検討した。また、ACF や SSAP の細胞生物学的及び分子生物学的な異常を検索し、ACF の発生機序及び SSAP への進展の機序を検討した。

B. 研究方法

1) SSAP 患者における ACF の観察

SSAP 患者 35 例を対象に、拡大内視鏡

(Fujinon-Toshiba, EC-485ZW) を用いて大腸内視鏡検査を行い、右側大腸(上行結腸及び盲腸)全体にメチレンブルーを散布し、拡大観察することにより ACF を観察した。その後、ACF を生検して病理学的及び遺伝子学的解析を行った。また、対照群として、健常人の右側大腸の ACF を観察した。

2) ACF 及び SSAP の細胞生物学的解析

生検採取した ACF 及び SSAP 組織のフォルマリン固定パラフィン包埋切片を作製し、Ki67 の免疫染色、TUNEL 染色等を行い、細胞増殖活性やアポトーシスの程度を検討する。

3) ACF 及び SSAP の遺伝子解析

生検採取した ACF 及び SSAP 組織を直ちに凍結し、保存する。これらの組織より常法により DNA を抽出し、B-RAF や K-RAS 遺伝子を 2-step PCR RFLP 法により、p53

は免疫染色により、MSI は PCR SSCP 法より、P16 や HIC1 のメチル化は Bisulfite 法により検討する。

#### (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った。ACF の解析は、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った。また、データの解析は個人情報漏洩しないように十分な管理を行っている。

### C. 研究結果

#### 1) SSAP 患者における ACF の発生頻度及び数

SSAP 患者 35 例における ACF の発生頻度は 97.1% (34/35) であり、健常人 (6.7%, 1/15) に比べて有意に高かった ( $p < 0.01$ )。また、SSAP 患者に認められる平均 ACF 数は  $4.2 \pm 2.3$  個であり、健常人 ( $0.07 \pm 0.13$  個) に比べて有意に多かった ( $p < 0.01$ )。

#### 2) ACF 及び SSAP の細胞増殖、アポトーシスの解析

SSAP 組織における Ki67 染色では、腺底部から腺中部にかけて陽性細胞を多く認めた。ACF においても、SSAP と同様に腺底部から腺中部にかけて陽性細胞が多かった。つまり、腺底部に Ki67 陽性細胞が限局する過形成性ポリープより増殖活性が高く、腺上部まで陽性を示す腺腫よりは増殖活性が低いことが明らかとなった。TUNEL 染色によるアポトーシスの解析では、SSAP では平均  $4.2 \pm 1.6$  個/HPF の陽性細胞を認め、ACF では平均  $2.8 \pm 1.4$  個/HPF の陽性細胞を認めた。つまり、ACF や SSAP のアポトーシス陽性細胞は、過形

成性ポリープ ( $1.5 \pm 1.4$  個) より多く、腺腫 ( $6.8 \pm 0.8$  個) より少ないことが明らかとなった。

#### 3) ACF 及び SSAP の遺伝子解析

SSAP における B-RAF 変異の陽性率は 77.1% (27/35) であったが、K-RAS 変異はわずか 17.1% (6/35) と低かった。ACF において B-RAF 変異は 67% (2/3) と高率に認められたが、K-RAS 変異は全く認められなかった (0%, 0/3)。SSAP における MSI は、MSI-L 8.6% (3/35)、MSI-H 0% (0/35) であったが、ACF ではいずれも認められなかった。P53 染色では、SSAP 及び ACF のいずれにおいても陽性細胞は認められなかった。SSAP における HIC1 及び p16 のメチル化解析では、それぞれ 74.3% (26/35) と 71.4% (25/35) にメチル化を認めたが、ACF では両者とも 50% (2/4) に陽性であった。尚、癌合併の SSAP では、癌の部分が MSI 陽性であり、MLH1 の発現が消失していた。

### D. 考察

SSAP 患者では、健常人に比べて右側大腸に ACF が高率に認められた。また、ACF は病理組織学的に細胞異型には乏しいものの、腺上部から底部に至る腺管の拡張を認め、SSAP と類似の所見を呈しており、SSAP の前病変であることが示唆された。ACF の細胞増殖活性及びアポトーシスのパターンも SSAP と類似の結果が得られた。ACF の遺伝子解析では、SSAP と同様に B-RAF 変異が高率に認められ、K-RAS 変異、MSI、p53 蓄積はごくわずかに認められるか、全く認められなかった。さらに、SSAP では高率にメチル化を認め、ACF でも半数

にメチル化を認めた。以上の結果より、右側の ACF は SSAP の前病変であることが強く示唆された。また、この ACF-SSAP-carcinoma sequence においては、B-RAF 変異及びいくつかの遺伝子のメチル化が生じて ACF が形成され、次いで、メチル化が蓄積して SSAP となり、ついには MLH1 などの修復遺伝子がメチル化されて癌になることが示唆された。

#### E. 結論

右側の ACF は SSAP の前病変であることが強く示唆された。また、この ACF-SSAP-carcinoma sequence においては、B-RAF 変異ならびにいくつかの遺伝子のメチル化が生じて ACF が形成され、次いで、メチル化が蓄積して SSAP となり、ついには MLH1 などの修復遺伝子がメチル化されて癌になることが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Takayama T, Nagashima H, Maeda M, Nojiri S, Hirayama M, Nakano Y, Takahashi Y, Sato Y, Sekikawa H, Mori M, Sonoda T, Kimura T, Kato J, Niitsu Y. Randomized double blind trial of sulindac and etodolac to eradicate aberrant crypt foci and to prevent sporadic colorectal polyps. Clin Cancer Res, in press.

##### 2. 学会発表

井上篤、岡本耕一、高山哲治. SSAP の NBI 併用拡大内視鏡所見と遺伝子異常に関する検討(ワークショップ). 第 81 回日

本消化器内視鏡学会総会 (日本消化器内視鏡学会雑誌 53 巻 Supplement 1, 740, 2011)

#### 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

がん化学予防剤の開発に関する基礎及び臨床研究に関する研究

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 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（1錠 100mg/day）による大腸腺腫予防効果を、二重盲検無作為割付臨床試験にて評価した。試験が完遂されたのは34人である。大腸ポリープの減少を認めた者は、有意差はないもののアスピリンでリスク比（95%信頼区間）2.33（0.72-7.55）と多い傾向であった。層別解析において腫瘍の平均径が2mm以下、女性、40歳以下、非喫煙、非飲酒、APC遺伝子変異保有、 $\beta$ カテニン染色陽性、上皮内COX2染色陽性の群でアスピリンのポリープ縮小効果が強い傾向があった。有害事象を認めた者は3人（18%）あり、全員アスピリン群であった。

家族性大腸腺腫症に対して、アスピリンは大腸腺腫を縮小する効果を持つ可能性が示唆されたが、有害事象の発生頻度も一般人に比して高い可能性が考えられた。

A. 研究目的

家族性大腸腺腫症(FAP)は極めて稀な常染色体優性遺伝疾患である。この病気の患者は大腸に多数の腺腫が発生することを特徴とし、40歳までに患者の半数で大腸癌が発症する。

家族性大腸腺腫症は、これまで大腸を全て摘除することが唯一の大腸癌の予防法であった。大腸を全摘すると、頻回の下痢などにより患者の生活の質(QOL)は著しく低下する。手術を避けるために、腺腫の増大を候補物質で抑制し、その後発生する大腸癌を予防する化学予防の研究が進められている。これまでに最も臨床試験が多く行われてきた候補物質は非ステロイド系抗炎症剤(NSAIDs)の一つであるスリンダクである。スリンダクは大腸腺腫を退縮させる効果はあるが、スリンダクを長期投与することにより胃

潰瘍や貧血などの有害事象を引き起こす可能性が高く、広く臨床では用いられていない。粘膜への傷害が少ないCOX2選択的阻害剤も有力な候補物質であったが、心毒性があることが判明し長期間の投与が必要な癌予防のための使用は行われていない。

世界中で循環器疾患において抗血小板療法として長期投与の経験が豊富な低容量アスピリン腸溶錠は比較的安全性が高いと考えられる。散発性大腸腺腫の発生予防に関する臨床試験はいくつか行われアスピリンによる大腸腺腫予防効果が認められている。しかし、家族性大腸腺腫症に対するアスピリンを用いた臨床試験の報告はない。そこで、私たちは本試験を実施した。

## B. 研究方法

### 試験方法

本研究は、低容量アスピリン腸溶錠とプラシーボを用いた二重盲検無作為割付試験である。試験薬投与期間は6から10ヶ月間である。

割付は、施設、性、年齢（30歳未満・30歳以上）、大腸手術の有無を割付因子とした層別化ブロックランダム法により、無作為にアスピリンを服用するアスピリン群と、プラシーボを服用するプラシーボ群に分ける。

エントリー施設は大阪中央病院と産業医科大学付属病院の2施設である。本試験のために倫理モニタリング委員会を設置し、有害事象発生把握について経時的観察ができるシステムを設置した。参加施設は各施設に設置されている倫理委員会の承認を得た。

### 対象者

対象は家族性大腸腺腫症である。家族性大腸腺腫症は大腸に腺腫を100個以上認められた者、またはAPC遺伝子に生殖細胞系列の病的変異を持つ者とした。対象条件として、直腸は2cm以上残存していること、16歳以上70歳以下、日本人であることとした。

除外基準は、根治的治療のできない癌を持つ者、抗血栓剤、抗凝固剤を服用中の者、脳卒中既往者、胃潰瘍・十二指腸潰瘍既往者（ヘリコバクターピロリ菌の除菌成功後に癒痕治療が確認できた者を除く）、炎症性腸疾患、出血性憩室炎、出

血傾向のある者、血小板数 $10\text{万}/\text{mm}^3$ 以下、プロトロンビンタイム（PT）の異常値の者、アスピリンに対するアレルギー既往者、抗癌剤使用中の者、妊娠中及び試験期間中に妊娠予定のある者、痛み止めなどのためNSAIDsを週3回以上服用している者である。これまでにポリープの縮小を目的にスリダクなどを服用していた場合、それを試験前に6ヶ月以上中止している者は参加可能とした。

目標症例数は100人（各群50人）である。目標症例数の算定根拠は下記の通りである。プラシーボ群におけるポリープ減少者率を20%、アスピリン群のそれを50%とし、両側有意水準5%の検定を実施したとき、80%の検出力を確保することができるのは、1群当たり39人であり、脱落者の発生を考慮し必要症例数を算定した。

参加同意は個別に面接により行い、インフォームドコンセントを得た場合、書面で同意の証拠を残した。

### 試験薬

試験薬はドイツのバイエル社より低容量アスピリン腸溶錠（1錠100mg）とプラシーボ錠の提供を受け、日本に輸入した。本研究は日本の厚労省の研究費で実施され、バイエル社とは利益相反の関係がないことを示す契約を交わした。

試験薬は、輸入後に両面アルミで作られたPTPシート（1シート31錠のカレンダーシート）に包装し、試験統計家（鈴木貞夫）により封印した。

毎月、参加者は服用中の状況を記した服用日誌と併せて、服用の終了した PTP シートをデータセンターに返送することにより、有害事象と受容性は把握された。

#### 評価項目

試験開始前と終了時に大腸内視鏡検査を実施する。主エンドポイントは大腸ポリープの減少の有無とする。大腸ポリープが 1 視野に 4 個以上認められる部位に墨汁にて入れ墨し、その場所にメジャー鉗子を置いて写真を複数枚撮影する。割付結果がキーオープンされる前に、どちらの群かがわからないようにして、内視鏡写真によりポリープの前後の変化を判定会議にて判定する。判定は大きさと数の両方が減少している場合に「減少あり」と判定する。

副エンドポイントはポリープの平均直径、高さの変化、有害事象の有無とする。

試験参加時に、身長、体重、既往疾患、NSAIDs 服用の有無などをアンケートし、名古屋市立大学公衆衛生学教室にて作成した自記式食事摂取頻度票 (FFQ) にて食事内容を把握した。

統計処理はリスク比と 95%信頼区間を計算し、値に 0 を含む場合にはフィッシャーの直接確率を計算した。

#### (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

エントリーは 2007 年 6 月から開始した。51 例まで参加を呼び掛け、35 人 (69%) から同意を得た 2008 年 8 月の時点において終了時の大腸内視鏡検査が実施されたのは 10 人であった。そのうち 2 人 (20%) に巨大な吻合部潰瘍とヘモグロビンが 3mg/dl 低下する著しい貧血を認めた。有害事象の頻度が高いため、共同研究者および倫理モニタリング委員会で試験実施の諾否について検討し、さらなる参加呼びかけは中止すること、割付結果は試験終了まで開示せず、参加している患者は嚴重に症状を観察しつつ試験を完遂することになった。

試験参加に同意した内の 1 人は、割付の前に交通事故に遭ったため、試験に参加しなかった。34 人が試験薬を服用、完遂した。アスピリン群、プラシーボ群ともに 17 人ずつに割り付けられていた。

参加者では、性別、年齢、手術歴、飲酒、喫煙状況など、2 群間に有意な差はなかった。



主エンドポイントであるポリープ減少を認めた者は、アスピリンでリスク比(95%信頼区間)は 2.33(0.72-7.55)と多い傾向であったが、有意差はなかった。

層別化解析では、投与前の平均腫瘍径が 2mm 未満の者において、アスピリン群では有意に減少を認める者が多かった。女性、40 歳未満、手術未施行、非喫煙・禁煙、非飲酒、APC 遺伝子変異保有者、投与後に摘除したポリープのβカテニンの染色率が高い者、上皮内 COX2 染色率が高い者で、有意差はないもののアスピリンの効果が強傾向を認めた。

なお、2 群間でβカテニンや COX2 の染色率に差は認めなかった。

ポリープの高さの変化では、減少したものがアスピリン群でリスク比 1.7 と多い傾向を認めたが有意差はなかった。

ポリープの直径では、投与後にはプラシーボ群に比べてアスピリン群では有意に小さかった。

強い有害事象を認めた者は 3 人で、全員アスピリン群(18%)であった(P=0.23)。有害事情の内容は吻合部潰瘍や貧血の進行、大腸アフタであった。全員、40 歳未満の女性、喫煙はせず、βカテニンの染色率は高かった。

吻合部潰瘍は回腸ポーチの縫合部に一致して、巨大な潰瘍を認めた。本患者はこの内視鏡検査後に試験薬の服用を中止、服用中止後 6 ヶ月後の内視鏡検査においてこの潰瘍は治癒していた。貧血を認めた者も、試験薬休止後に貧血は改善した。

#### D. 考察

本臨床試験では、試験途中で有害事象が発生したため、残念ながら目標症例数までエントリーをすることができなかった。有害事象を認めた症例は全例アスピリン群であり、有意差はないものの、投与を中止後にそれらの有害事象はアスピリンを中止後改善したこともあり、アスピリンが原因であった可能性は極めて高いと考える。

本試験で用いた低容量アスピリン腸溶錠は、日本を含めた世界中で抗血小板治療として広く使われている薬と同じであり、日本においても長期間投与の経験は豊富であり、有害事象の頻度は低い。バイエル社が行ったドイツにおける市販後調査試験においても軽度の有害事象も含めた発現率は 2.67%、日本人におけるデータとしては川崎病に対する厚生省の集計によると 6.54%であった。それに対して本試験では 18%と極めて高いことより、家族性大腸腺腫症患者の消化管粘膜は特にアスピリンに対して有害事象の感受性が高い可能性が考えられた。私たちが以前に報告したスリダクによる臨床試験)においても、家族性大腸腺腫症における有害事象の発現頻度は極めて高いことも、この可能性を支持している。

本試験では必要症例数をエントリーできていないため、検証的知見は得ることができなかった。しかし、探索的な検討により、腫瘍径が小さい群、女性、若年、手術未施行、非喫煙、非飲酒、APC 遺伝子病的変異保有、βカテニン染色陽性、

上皮内 COX2 染色陽性の者でアスピリンによる大腸腺腫縮小効果が強い可能性を認めた。これらより、アスピリンは大腸腺腫発生の早期段階で作用している可能性が考えられた。

アスピリンにより有害事象を認めた3人は、これらのアスピリンによる大腸腺腫縮小効果が高いと考えられる特徴を持っており、大腸腺腫の縮小効果と有害事象発現は同一の特徴を持つ者に認める可能性があり、有害事象が少なく縮小効果を認める集団の同定方法の開発や、アスピリンの投与量の検討、新しい発癌予防物質の開発が必要であろう。また、家族性大腸腺腫症に対して、低容量アスピリン腸溶錠を用いた臨床試験を実施するには若い女性や APC 保有者では投与量を減らすことや、プロトンポンプ阻害剤 (PPI) を併用するなどの検討も必要かもしれない。一般人におけるアスピリンの有害事象は男性、高齢者で多いとの報告があり、アスピリンの粘膜に与える影響が一般人と家族性大腸腺腫症では異なる可能性も考えられる。

家族性大腸腺腫症において、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いくつか報告されている。また、散发性の大腸腺腫患者においても、スリダクの投与中に直腸癌が発生したことも報告されている。従って、アスピリンが家族性大腸腺腫症の大腸腺腫を縮小させることは判明しても、大腸癌を予防できるかどうかについて、さらに長期間アスピリン

を投与する試験を行うことも必要である。

## E. 結論

家族性大腸腺腫症に低容量アスピリン腸溶錠を投与する二重盲検無作為割付試験を行ったところ、高頻度の有害事象が発生した。

腫瘍の平均径が 2mm 以下、女性、40 歳以下、非喫煙、非飲酒、APC 遺伝子変異保有、 $\beta$  カテニン染色陽性、上皮内 COX2 染色陽性の者でアスピリンのポリープ縮小効果が強い可能性が示唆された。有害事象を認めた者はアスピリンによる大腸ポリープ縮小効果を示す可能性のある特徴と同じであった。

今後、これらの情報を検証するため、さらなる臨床試験の実施が必要と考える。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

河野 敦子, 石川 秀樹, 中村 富予, 河野 公一. 大腸癌と腸内細菌叢に関する疫学研究の検討～発酵乳製品や乳酸菌製剤による研究を中心に～ 日本衛生学会誌. 2010 May;65(3):422-46.

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., and 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. Journal of Clinical Oncology in-press.

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. Nutr Cancer. 2010;62(2):154-63.

Wang J, Zhao Y, Jiang J, Gajalakshmi V, Kuriki K, Nakamura S, Akasaka S, Ishikawa H, Suzuki S, Nagaya T, Tokudome S.: Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes and susceptibility to colorectal cancer: A case-control study in an Indian population. Cancer Epidemiol. 2010 Aug 3. [Epub ahead of print]

Wang J, Zhao Y, Jiang J, Gajalakshmi V, Kuriki K, Nakamura S, Akasaka S, Ishikawa H, Suzuki S, Nagaya T, Tokudome S. Polymorphisms in DNA repair genes XRCC1, XRCC3 and XPD, and colorectal cancer risk: a case-control study in an Indian population. J Cancer Res Clin Oncol. 2010 Oct;136(10):1517-25. Epub 2010 Mar 15.

Kawano A., Ishikawa., Kamano T., Karino M., Sakamoto K., Nakamura T., Otani T.,

Saki T., Kono K.,: Influence of Fecal Deoxycholic Acid on Recurrence of Large Colorectal Tumors. Asian Pac J Cancer Prev, in-press

Ishikawa H., Matsumoto S., Ohashi Y., Imaoka A., Setoyama H., Umesaki Y., Tanaka R., Otani T., :Beneficial Effects of Probiotic Bifidobacterium and Galacto-oligosaccharide in Patients with Ulcerative Colitis: A Randomized Controlled Study. Digestion, in-press

## 2. 学会発表

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)

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)

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 (P03-3) ポスター、札幌 (2010年7月)

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 (S5) シンポジウム、京都 (2011年1月)

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 講演、宝塚 (2011年3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

大腸ポリープ患者に対する発癌予防臨床試験

分担研究者 鈴木貞夫 名古屋市立大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 教授

研究要旨

日本における大腸癌化学予防薬の開発のために、低用量アスピリン腸溶錠(100mg/day)を用いた多施設二重盲検無作為割付臨床試験を実施中である。臨床試験の対象は大腸腫瘍（腺腫または大腸粘膜内癌）患者である。試験薬は2年間投与する。主エンドポイントは、2年目の大腸内視鏡検査における大腸腫瘍の発生の有無とする。2007年1月から2009年7月末まで31カ月間に491人へ参加を呼び掛け390人（79%）が参加同意した。重篤な副作用はなく、試験は順調に進捗し、2011年3月末時点で99人が脱落、265人が2年間の服用を完了、26人が服用中である。2011年9月には試験は完遂する予定である。

A. 研究目的

本邦では大腸癌の罹患が急激に増加しているため、大腸癌発生を予防する方法の開発が急務である。これまでも、われわれは食生活指導、食品成分の投与などによる臨床試験を行い、多くの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る。そこで今回は、低用量アスピリン腸溶錠を用いたより強力な大腸癌予防法の開発するために臨床試験を実施することにした。

B. 研究方法

対象者は、組織診断で確診された大腸腫瘍（粘膜内癌・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者である。他の条件として、大腸腫瘍の内視鏡的治療歴がすべて判明していること、

全大腸内視鏡検査を2回以上受けて全大腸のクリーンコロンを3カ月以内に確認していること、40歳以上、70歳以下である。

除外基準は、粘膜下浸潤(sm)以深の大腸癌の既往、抗凝固剤、抗血栓剤を服用中、脳卒中（一過性脳虚血発作：TIAを含む）の既往、大腸切除者（虫垂切除を除く）、家族性大腸腺腫症、胃潰瘍、十二指腸潰瘍の治療既往、炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）、出血性憩室炎、高度の出血性胃炎などの易出血性疾患の合併、出血傾向（血小板数10万以下、PT異常値）、癌保有、抗癌剤服用、アスピリンアレルギーの既往、妊娠中及び試験期間中に妊娠予定、非ステロイド系抗炎症剤（NSAIDs）を週3回以上服用しているものである。

参加呼びかけは、各施設の試験担当者が、面談により対象者本人へ試験内容を詳しく説明する。対象者がこれらの試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加を依頼する。対象者が試験参加に同意した場合は、説明文書に自署による署名を得る。

試験手順は下記の通りである。

- 1)各施設にて条件に合致した者を診察した場合、「参加者情報カード」のチェックリストを用いて、適格か否かを判断する。
- 2)適格条件を満たした場合、対象者に本試験を説明し、参加同意を得る。
- 3)参加時ケースカードに必要事項を記入する。
- 4)参加者情報を試験統計家に連絡し、割付番号を受ける。
- 5)割付番号の記載された試験薬を3カ月から6カ月分手渡す。
- 6)参加者は、1カ月毎に服用日誌と服用後PTPシートを事務局に郵送する。
- 7)定期的に受診し、次回受診日までの試験薬を手渡す。
- 8)2年目に大腸内視鏡検査を行う。

割り付けは、施設、性、年齢（60歳未満・60歳以上）を割付因子とした層別化ブロックランダム法を採用する。試験統計家の鈴木貞夫（名古屋市立大学）が症例の登録、割付を管理する。

有害事象が発生した場合、その都度、主治医は『有害事象報告書』に必要事項を記入し、事務局にFAXする。事務局は追加事項を記入の上、FAXを試験統計家に転送する。試験統計家は割付内容を記

載する。有害事象がきわめて本研究において重大であると考えられたとき、または有害事象の発生の偏りが、両群共に等しいという仮説を20%以下の危険率で棄却された場合、試験統計家は倫理モニタリング委員会委員長に直ちに報告する。倫理モニタリング委員会委員長は倫理モニタリング委員会を至急開催し、協議を行う。

参加者が試験の中止を希望した場合は、中止とする。ただし、参加者本人の意思による本試験参加への同意撤回により試験薬の服用を中止した場合でも、参加者の了解が得られれば intent to treat (ITT) 解析を行うために大腸内視鏡検査は実施する。

試験データの使用や2年目の大腸内視鏡検査受検を参加者が了解しなかった場合のみ中断とし、ITT解析には含めない。

追跡調査として、2年目の大腸内視鏡検査が終了後、その後2年から3年後に大腸内視鏡検査を実施して、その結果を把握する。その大腸内視鏡検査までは、アスピリンの服用はしないように指導する。その後も参加者の了解が得られれば、可能な限り大腸内視鏡検査結果を把握する。

使用する試験薬は、アスピリン（100mg/day）腸溶錠またはプラシーボ錠である。登録の実務はデータセンターにて行う。

検査は、エントリー時と2年目に大腸内視鏡検査（服用開始前、服用開始2年目）、一部施設ではS状結腸大腸粘膜

mRNA 発現（石川担当症例のみ）、直腸 ACF 計測（高山担当症例のみ）を行う。

エントリー時に、血液検査（PT、末梢血球数、AST、ALT、 $\gamma$ GTP、尿酸、T-Chol、HDL-Chol、中性脂肪）、食事調査（FFQ）、生活習慣アンケートを行う。

1年目、2年目に服用内容認識の確認と採血による貧血確認を行う。

低用量アスピリン腸溶錠による有害事象は消化管粘膜傷害（胃痛、胃部不快感、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、小腸潰瘍）や出血傾向に起因する疾患（脳出血、吐血、下血、貧血）などが考えられる。重大な副作用（頻度不明）としてショック、出血、皮膚粘膜眼症候群、再生不良性貧血、喘息発作などが考えられる。

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（腺腫、癌）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、他臓器癌の発生の有無、2年目の大腸内視鏡検査における新たな大腸腫瘍の大きさ・個数・組織（異型度、絨毛状腺腫成分の有無）、介入後2～3年後の大腸腫瘍発生状況、直腸粘膜の ACF 数、S 状結腸粘膜の大腸癌関連蛋白の mRNA 発現程度である。

700名の試験参加を目標とする。参加者数算定の根拠は下記の通りである。プラシーボ群の2年目の腫瘍発生率を過去の報告から25%とし、アスピリンの投与によりポリープの発生減少率を60%とした場合、両側有意水準5%の検定を実施したとき、80%の検出力を確保することが

できるのは、1群当たり、250人である。

研究組織と各施設の参加予定人数は、阿部孝（大阪警察病院；36人）、水野元夫（広島市民病院；30人）、岡村正造（豊橋市民病院；40人）、小西尚巳（三重県立総合病院；5人）、楠正人（三重大学消化器外科；5人）、斉田芳久（東邦鎌谷病院；40人）、田近正洋（愛知がんセンター；40人）、工藤進英（昭和大学横浜市北部病院；30人）、平田敬治（産業医科大学；18人）、田中信治（広島大学病院；30人）、権藤延久（木村病院；40人）、山村誠（神戸掖済会病院；10人）、飯室正樹（東住吉森本病院；40人）、李喬遠（守口敬任会病院；10人）、小澤平太（北里大学医学部外科；10人）、佐々木誠人・城卓志（名古屋市立大学臨床機能内科；20人）、北村信次（市立堺病院；30人）、辻井正彦（大阪大学医学部消化器内科；10人）松田尚久（国立がんセンター中央病院；40人）、佐野寧（佐野病院；40人）、杉本憲治（杉本憲治クリニック；20人）、高山哲治（札幌医科大学第4内科；60人）、石川秀樹（大阪中央病院；200人）である。

運営委員は、若林敬二、徳留信寛、酒井敏行、松浦成昭、試験統計家は、鈴木貞夫、データセンターは大谷透（メディカル・リサーチ・サポート）である。

本試験のために独立して倫理モニタリング委員会（竹下達也（和歌山県立医科大学公衆衛生学；委員長）、若林直樹（京都府立医科大学）、平栗勲（弁護士）、辻直子（近畿大学堺病院消化器内科）を設

置した。

#### (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。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。

試験参加者の個人情報(名前、住所、電話番号、通院施設、試験開始日時、個人連絡用登録番号)は、試験精度維持のため、京都府立医科大学分子標的癌予防医学大阪研究室内に設置された事務局で管理するが、秘密保持のために十分な配慮を行う。具体的には、個人情報保護のため、参加者の個人情報にアクセスできる担当者を限定し、立ち入りが限定される部屋の鍵のかかるキャビネットに資料は保管され、データはインターネットとつながらないコンピューターのみに保存する。個人情報を含む文書等は、必ず封書による郵便を用い、FAX、E-mailは用いない。

#### C. 研究結果

全体会議によりプロトコルを作成し、倫理モニタリング委員会に申請、承認を

得て、参加施設の倫理委員会に申請を行った。

試験薬(低用量アスピリン腸溶錠、プラシーボ)はドイツのバイエル本社より輸入し、1シート31錠のカレンダー型PTP両面アルミ包装を行い、試験統計家により割付内容を匿名化して封印した。

倫理委員会の承認の得られた施設より参加呼びかけが開始された。2007年1月に呼び掛けを開始したが、当初のエントリー期間内に目標症例数に到達することができず、エントリー期間を2回延長し、2009年7月末(31ヶ月間)までエントリーを行った。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。

2011年3月末の時点にて、99人が脱落、265人が2年間の服用を完了、26人が服用中である。2011年9月には試験は完遂する予定である。

試験参加中の重篤な副作用としてキーオープンしたのは、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、肺線維症などがあるが、全例プラシーボ群であった。

#### D. 考察

エントリー期間を2度にわたり延期したにも関わらず、当初の目標症例数に到達することができなかった。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を服用者、胃潰瘍・十二



指腸潰瘍既往者が多かったこと、などがあった。

エントリー期間を終了する時点で、必要症例数を再度計算した。以前に石川らが日本にて実施した無作為割付臨床試験 (IJC, 116, 762-767, 2005) における対照群の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プラシーボ群 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、全症例数は 202 人であった。試験開始前の必要症例数算定に用いた2年目腫瘍発生率は、米国のデータを用いていたが、より本試験の実態に即したデータを用いて再計算したところ、現時点で必要症例数に達成していると考え、早く試験結果をだすことが求められていること、試験参加者に早く割付結果を伝える必要があることなどより、エントリーを終了することとした。

## E. 結論

大腸癌化学予防のため、低用量アスピリン腸溶錠 (100mg/day) 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。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

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, 15: 129-134 (2010).

Shibata K., Suzuki S., Sato J., Ohsawa I., Goto S., Hashiguchi M., Tokudome S.: Abdominal circumference should not be a required criterion for the diagnosis of metabolic syndrome. Environ Health Prev Med, 15: 229-235 (2010).

Yamada T., Suzuki S., Fukatsu M., Wada T., Yoshida T., Joh T.: Elevated serum uric acid is an independent risk factor for nonalcoholic fatty liver disease in Japanese undergoing a health checkup. Acta Gastroenterol Belg, 73: 12-17 (2010).

Yamada T., Fukatsu M., Suzuki S., Wada T., Yoshida T., Joh T.: Fatty liver predicts impaired fasting glucose and type 2 diabetes mellitus in Japanese undergoing a health checkup. J Gastroenterol Hepatol, 25: 352-356 (2010).

Sugiura-Ogasawara M., Ozaki Y.,

Kitaori T., Kumagai K., Suzuki S. :  
Midline uterine defect size is  
correlated with miscarriage of  
euploid embryos in recurrent cases.  
Fertil Steril, 93: 1983-1988 (2010).

Tamakoshi A., Yatsuya H., Lin Y.,  
Tamakoshi K., Kondo T., Suzuki S.,  
Yagyu K., Kikuchi S. for the JACC  
Study Group: BNI and all-cause  
mortality among Japanese older  
adults: findings from the Japan  
collaborative cohort study. Obesity  
(Silver Spring), 18: 362-369 (2010).

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).

Obayashi S., Ozaki Y., Sugi T.,  
Kitaori T., Katano K., Suzuki S.,  
Sugiura-Ogasawara M. :  
Antiphosphatidylethanolamine  
antibodies might not be an  
independent risk factor for further  
miscarriage in patients suffering  
recurrent pregnancy loss. J Reprod  
Immunol, 85: 186-192 (2010).

Kojima M., Hayano J., Suzuki S.,  
Seno H., Kasuga H., Takahashi H.,

Toriyama T., Kawahara H., Furukawa T.,  
A. : Depression, alexithymia and  
long-term mortality in chronic  
hemodialysis patients. Psychother  
Psychosom, 79: 303-311 (2010).

Tanaka F., Yamamoto K., Suzuki S.,  
Inoue H., Tsurumaru M., Kajiyama Y.,  
Kato H., Igaki H., Furuta K., Fujita H.,  
Tanaka T., Tanaka Y., Kawashima Y.,  
Natsugoe S., Setoyama T., Tokudome S.,  
Mimori K., Haraguchi N., Ishii H., Mori  
M. : Strong interaction between the  
effects of alcohol consumption and  
smoking on oesophageal squamous cell  
carcinoma among individuals with ADH1B  
and/or ALDH2 risk alleles. Gut.  
2010;59:1457-64.

## 2. 学会発表

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)

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)

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)

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)

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)

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)

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)

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)

柴田清, 鈴木貞夫, 安田宜成, 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)

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)

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)

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)

## 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

乳腺発がん抑制物質の探索

分担研究者 今井俊夫

独立行政法人国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設長

研究要旨

高カロリー/高脂肪食摂取による高レプチン状態に着目し、7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA)誘発乳腺発がんに対するレプチンの影響を明らかにするとともに、高レプチン血症に対する改善作用が期待される分岐鎖アミノ酸(BCAA)のラット乳腺発がんに対する抑制作用を検討することを目的として研究を進めている。今年度はレプチン受容体遺伝子のヘテロ変異体である Zucker (+/fa) 及び野生型雌ラットにコーン油あるいは BCAA 添加食を与えて血清レプチン値に対する影響を検索する予備実験を行った。その結果、Zucker (+/fa) ラットにコーン油及び BCAA 添加飼料を与えた場合には血清レプチン値の明らかな変動はみられず、野生型ラットにコーン油を与えると血清レプチン値が上昇し、その上昇は BCAA 投与により抑制する傾向を示した。現在、コーン油あるいは BCAA 添加食の乳腺発がんに及ぼす影響を明らかにするため、Zucker (+/fa) 及び野生型ラットを用いた DMBA 乳腺発がん実験を開始し、継続している。

A. 研究目的

20歳の時点で痩せている女性は乳がんリスクが高い可能性を示す疫学データが示されているが(Suzuki Ret al., 2010)、生活習慣の変化に伴う乳がんの増加の原因を裏付ける詳細なデータは得られていない。一方、5日間高カロリー/高脂肪食を摂取した男性においてレプチン値を含む種々の血清パラメーターの顕著な変動がみられたとの報告がある(Brons C et al., 2009)。

本研究では、高カロリー/高脂肪食摂取による高レプチン状態に着目し、7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA)誘発乳腺発がんに対するレプチンの影響を明らかにする。また、マウスの高脂肪食/過食による高脂血症/高インシュリン・レプチン血症に対し改善作

用を示す分岐鎖アミノ酸(BCAA)について、ラット乳腺発がんに対する抑制作用を検討し、予防法の確立に向けた基礎データを構築することを目的とする。

これまでに我々が実施した研究において、レプチン受容体遺伝子のヘテロ変異体である Zucker (+/fa) ラットは野生型(+/+)ラットに比して7~11週齢時における血清レプチン値が高いこと、DMBA誘発性の乳がんの発生時期が早く、発生頻度、発生数、腫瘍体積が増加することを明らかにした。また、野生型(+/+)ラットに発生する乳がんは高分化型であるのに対し、乳がんの発生がみられた Zucker (+/fa) ラットの約半数例には強い浸潤性と豊富な間質増生を伴う中・低分化型がんが認められたことから、若齢期の高レプチン血症が乳腺発がんの促進のみなら