

レプチン抵抗性が誘発されづらいことを示す結果であり、今後その機序の解析を要する。

Zucker ラットを用いた実験における乳がんの発生については、その発生時期に関し Zucker (+/fa) ラットの各群において、野生型 (+/+) の各群に比し早期化傾向がみられ、若齢時の高レプチン血症が関与していることが示唆された。腫瘍体積については、Zucker (+/fa) ラットにおいて、コーン油の促進作用 ( $p < 0.01$ ,  $0.05$ ) 及び BCAA によるその抑制傾向がみられた。しかし、前述の如く、(+/fa) ラットでは幼若期及び実験終了時ともにコーン油添加食を与えることによる高レプチン血症は誘発されておらず、腫瘍体積に影響を与えた機序については引き続き検討を要する。

F344 ラットにおける DMBA 誘発乳がんに対する高脂肪食及び BCAA の影響を解析する実験において、特に牛脂添加食である QF を与えた群において基礎食群を含む他の群に比して乳がんの発生早期化する傾向がみられた。また、発生頻度及び発生数については、QF 群及びコーン油群において、対照群に比し増加あるいは増加傾向を示し、QF+BCAA 群ではこれら 2 群よりもやや遅れて増加傾向を示したことから、高脂肪食を幼若期のみ短期間与えることで乳腺発がんが促進され、BCAA はそれを抑制することを示す結果が得られた。我々が以前に実施した予備実験において、5 週齢の F344 ラ

ットに 2 週間、コーン油添加あるいは牛脂添加食を与えることにより血中レプチン値が上昇あるいは上昇傾向を示し、BCAA がそれを抑える作用を示すことを明らかにしており、今回の高脂肪食による発がん促進作用及び BCAA によるその抑制作用の機序として高レプチン血症が関与している可能性が示された。肥満モデルマウスを用いた実験では、BCAA は肝臓あるいは骨格筋における脱共役タンパク質 (UCP) の発現を増加させ (Arakawa M et al., 2011)、インシュリン抵抗性を改善する可能性があることが報告されている (Shimizu M et al., 2009)。本研究においても肝臓あるいは骨格筋における UCP 発現量を測定するなど、高脂肪食及び BCAA による乳腺発がんに及ぼす影響について、引き続き詳細な機序検討を要する

## E. 結論

DMBA 誘発ラット乳腺発がんモデルにおいて、実験期間中あるいは幼若期に限定して高脂肪食を与えることにより、乳腺発がんが促進されること、更に BCAA がそれに対して抑制的に作用することを示す結果を得た。乳腺発がんに対する高脂肪食及び BCAA の作用については、一部血中レプチン濃度の関与を示す結果が得られたが、それ以外の機序についても考慮する必要があり、今後の詳細な検討を要する。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし。

2. 学会発表

- 1) 今井俊夫：低・中分化型形質を呈するDMBA誘発ラット乳がんの分子病理学的解析。第58回日本実験動物学会総会、東京（2011年5月）
- 2) 今井俊夫、高橋真美：DMBA誘発ラット乳腺発がんにおける若齢期高レプチン血症の影響。第18回日本がん予防学会、京都（2011年6月）
- 3) 今井俊夫、高橋真美：ラット乳腺発がんにおけるレプチンの働きとその制御。第26回発癌病理研究会、札幌

（2011年8月）

- 4) 今井俊夫、高橋真美：DMBA誘発ラット乳腺発がんに対する高レプチン血症の促進作用。第70回日本癌学会学術総会、名古屋（2011年10月）
- 5) 今井俊夫、高橋真美：ラットにおける高レプチン血症による乳腺発がん促進と乳がんの悪性化。第153回日本獣医学会学術集会、大宮（2012年3月）

G. 知的所有権の取得状況

該当なし。

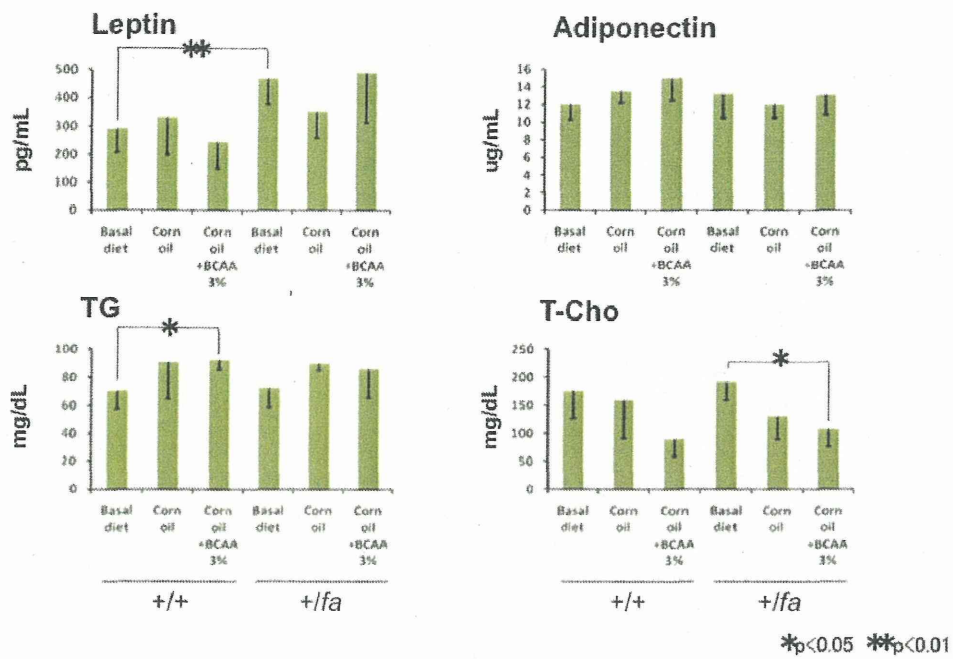


図1 中間採血(10週齢)時の血清検査値

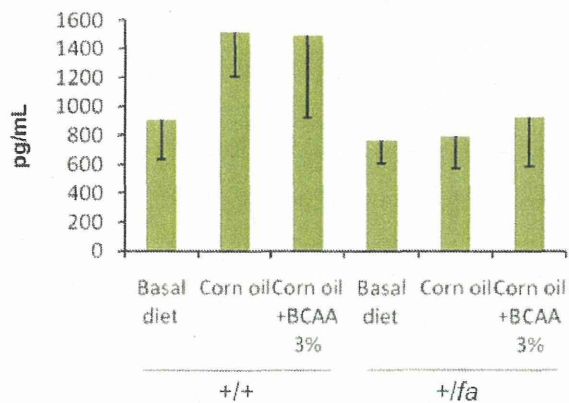


図2 切迫/最終剖検終了時の血中レプチン濃度

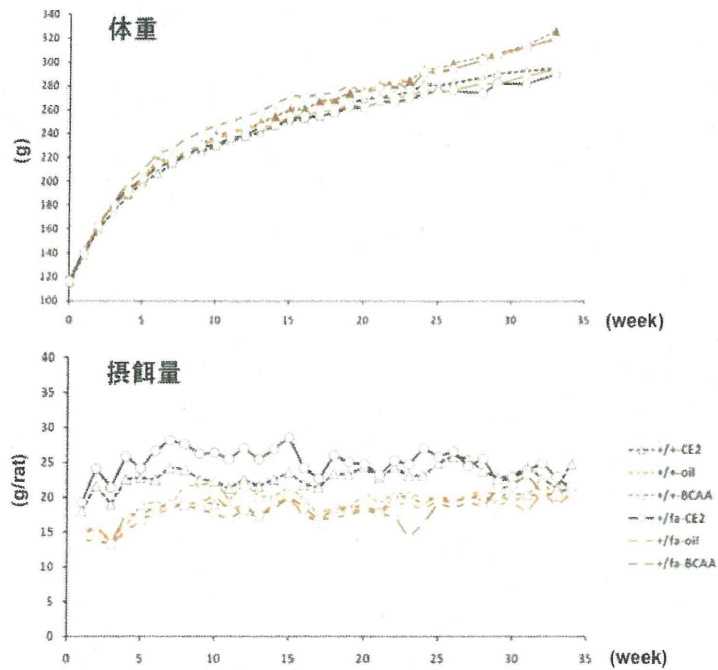


図3 体重及び摂餌量の推移

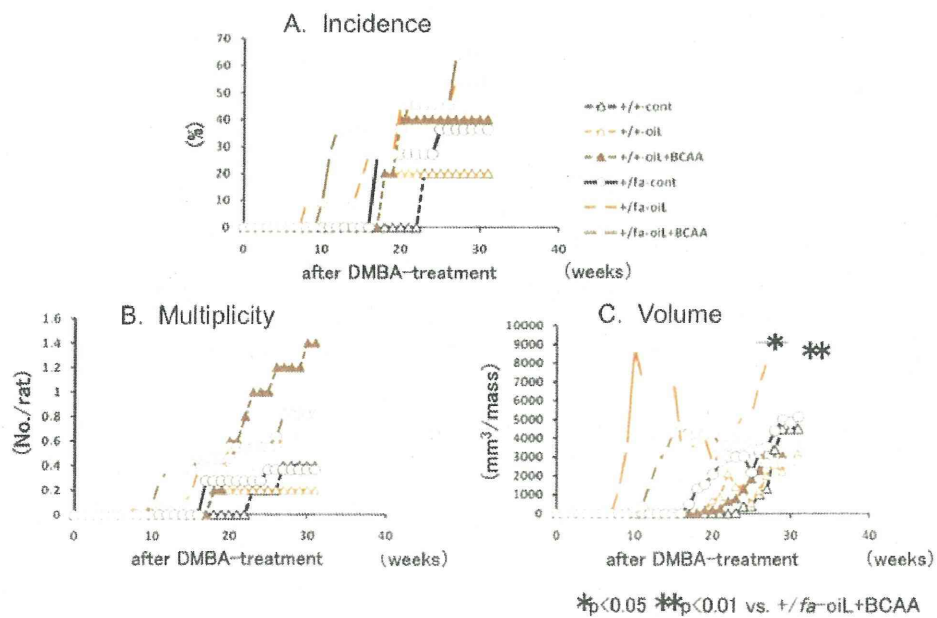


図4 触診による乳がんの発生状況の推移

表1 病理組織検査後の乳がんの発生頻度/数と異型度

No. of animals	+/+					
	Basal diet 5		Corn oil 5		Corn oil + BCAA 5	
	Incidence (%)	Multiplicity No./rat (breakdown %)	Incidence (%)	Multiplicity No./rat (breakdown %)	Incidence (%)	Multiplicity No./rat (breakdown %)
Adenocarcinoma (Total)	1 (20)	0.40 ± 0.89 (100)	1 (20)	0.20 ± 0.45 (100)	2 (40)	1.80 ± 2.68 (100)
Well differentiated (Grade 1)	1 (20)	0.40 ± 0.89 (100)	1 (20)	0.20 ± 0.45 (100)	2 (40)	1.80 ± 2.68 (100)
Moderately/poorly differentiated	0	-	0	-	0	-

No. of animals	+/ <i>fa</i>					
	Basal diet 11		Corn oil 11		Corn oil + BCAA 11	
	Incidence (%)	Multiplicity No./rat (breakdown %)	Incidence (%)	Multiplicity No./rat (breakdown %)	Incidence (%)	Multiplicity No./rat (breakdown %)
Adenocarcinoma (Total)	4 (36)	0.36 ± 0.50 (100)	8 (73)	1.00 ± 0.89 (100)	9 (82)	1.27 ± 1.01 (100)
Well differentiated (Grade 1)	3 (27)	0.27 ± 0.47 (75)	4 (36)	0.55 ± 0.82 (55)	7 (64)	0.91 ± 0.94 (69)
Moderately/poorly differentiated (Grade 2/3)	1 (9)	0.09 ± 0.30 (25)	5 (45)	0.45 ± 0.52 (45)	4 (36)	0.36 ± 0.50 (31)

表2 病理組織検査後の乳がんの体積と異型度

No. of animals	+/+					
	Basal diet 5		Corn oil 5		Corn oil + BCAA 5	
	Incidence (%)	Volume (mm <sup>3</sup> )	Incidence (%)	Volume (mm <sup>3</sup> )	Incidence (%)	Volume (mm <sup>3</sup> )
Adenocarcinoma (Total)	1 (20)	6031 ± 3153	1 (20)	1089.56	2 (40)	1347 ± 1665
Well differentiated (Grade 1)	1 (20)	6031 ± 3153	1 (20)	1089.56	2 (40)	1347 ± 1665
Moderately/poorly differentiated	0	-	0	-	0	-

No. of animals	+/ <i>fa</i>					
	Basal diet 11		Corn oil 11		Corn oil + BCAA 11	
	Incidence (%)	Volume (mm <sup>3</sup> )	Incidence (%)	Volume (mm <sup>3</sup> )	Incidence (%)	Volume (mm <sup>3</sup> )
Adenocarcinoma (Total)	4 (36)	2847 ± 2630	8 (73)	5213 ± 6065	9 (82)	2247 ± 2875
Well differentiated (Grade 1)	3 (27)	1628 ± 1210	4 (36)	2649 ± 5890	7 (64)	679 ± 1021
Moderately/poorly differentiated (Grade 2/3)	1 (9)	6503	5 (45)	8291 ± 5187	4 (36)	5775 ± 2511

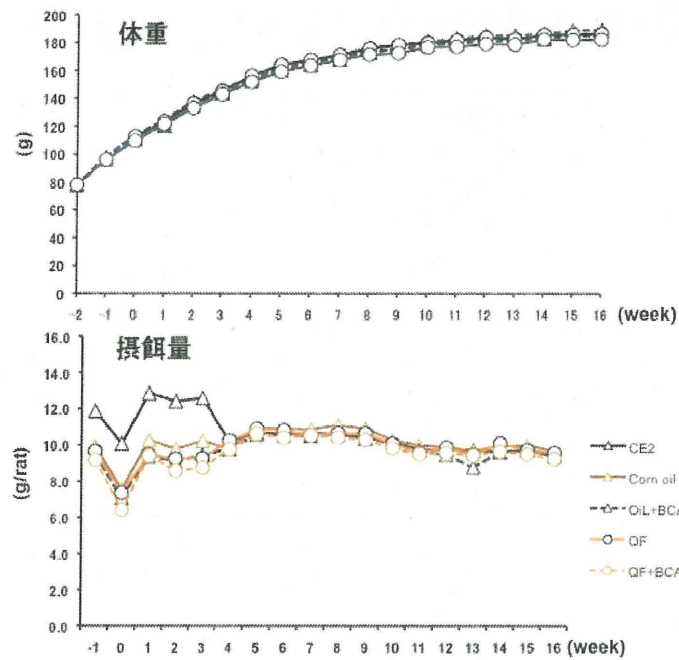


図5 体重及び摂餌量の推移

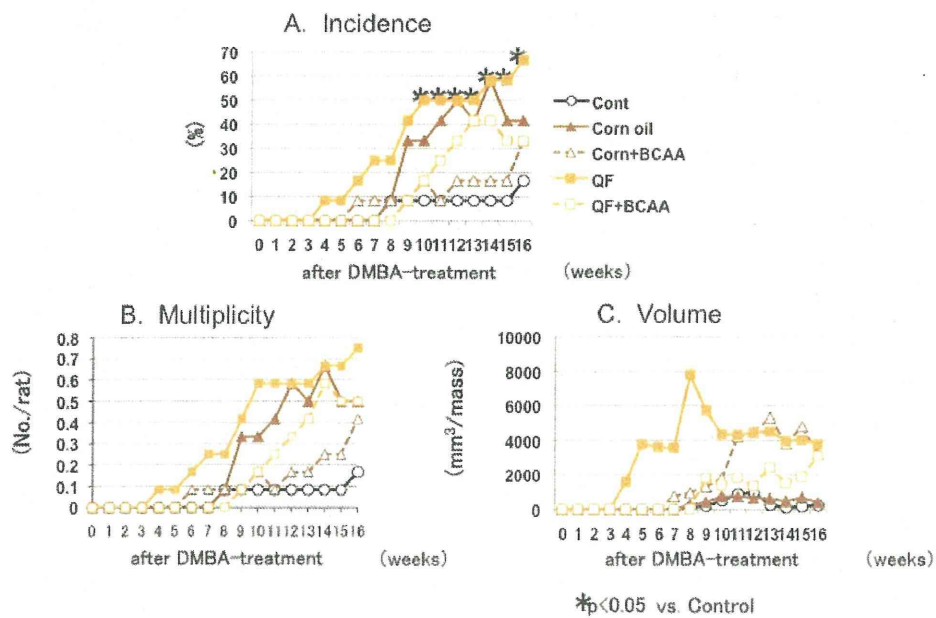


図6 触診による乳がんの発生状況の推移

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

乳がん・大腸腫瘍の予防要因の解析

研究分担者 岩崎 基

国立がん研究センターがん予防・検診研究センター予防研究部 室長

研究要旨

乳がんおよび大腸腫瘍に関連する予防要因の探索を行い、新規がん化学予防剤の開発、また効果的ながん予防法の開発に資するエビデンスを構築することを目的に、今年度は、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究のデータを用いて分岐鎖アミノ酸摂取量の妥当性を検討し、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究のデータを用いて分岐鎖アミノ酸摂取と大腸腺腫との関連を予備的に検討した。食物摂取頻度調査票の妥当性研究では、食事記録調査と食物摂取頻度調査票の両者から算出した摂取量との相関係数は、男性で0.6程度、女性で0.5程度であり、比較的高い相関が見られた。一方、食事記録調査による摂取量と血漿中アミノ酸レベルの間には相関が見られず、血中レベルは実際の摂取量を反映しないことが示唆された。このように食物摂取頻度調査票から推定した分岐鎖アミノ酸の摂取量の妥当性の検討により、対象者のランキングに使えることが示唆されたことから、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究のデータを用いて、分岐鎖アミノ酸摂取と大腸腺腫との関連を予備的に検討した。その結果、個別の分岐鎖アミノ酸摂取量および分岐鎖アミノ酸摂取量の合計値との間に有意な関連は見られなかった。

A. 研究目的

乳がんは日本人女性において最も頻度の高いがんであり、罹患率・死亡率は、欧米に比べれば低いものの一貫して上昇している。一方、大腸がんの罹患率・死亡率は1990年代まで増加し、その後は横ばい傾向であるが、特に男性の罹患率は国際的にみてもトップクラスである。したがって、日本人においてこれらの部位のがんのリスク要因および予防要因を解明し、その予防法を確立することの重要性が高まっている。

本研究は、地域住民約14万人を対象とした多目的コホート研究、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象としたフォローアップ研究、長野・ブラジルにおける乳がん症例対照研究などの疫学研究のデータを用いて、乳がんおよび大腸腫瘍（大腸がんと大腸腺腫）に関連する予防要因の探索を行い、新規がん化学予防剤の開発、また効果的ながん予防法の開発に資するエビデンスを構築することが目的である。

今年度の具体的な目的は、がん予防・

検診研究センターの検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究のデータを用いて分岐鎖アミノ酸摂取量の妥当性を検討し、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究のデータを用いて分岐鎖アミノ酸摂取と大腸腺腫との関連を予備的に検討することである。

## B. 研究方法

### 1. がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究

#### 1-1. 対象者

2004年1月から2006年7月までのがん予防・検診研究センターのがん検診受診者のうち、東京都、埼玉県、千葉県、神奈川県在住の40歳から69歳で、がんおよび循環器疾患の既往のないものを対象とした。このうち、初回受診季節ごとに性・年齢10歳階級別に無作為に対象者を選び、郵送法によるリクルートを行い、同意が得られた者を対象者とした。

#### 1-2. 調査方法

##### 1-2-1. 調査項目

調査は2007年5月から1年間にわたり、以下の項目について調査を行った。

- ・週末を含む連続した4日間の秤量法食事記録調査（デジタルカメラによる写真撮影を含む）
- ・自記式の半定量食物摂取頻度調査票調査（食事記録調査開始前日）
- ・身体計測（食事記録調査開始前日）
- ・採血（血清および血漿）（食事記録調査

開始前日）

- ・自宅で調整した味噌汁の回収（食事記録調査開始前日）
- ・24時間蓄尿検査（食事記録調査最終日から翌日まで）
- ・毛髪（食事記録調査から直近の散髪時に回収）

合計896人の候補者に調査協力を依頼し、187人(20.9%)が調査に同意をした。

このうち調査説明会に参加し、実際に調査の協力が得られた対象者は144人（男性69人、女性75人）であった。

##### 1-2-2. 調査説明会

調査開始の前日にがん予防・検診研究センターにおいて、対象者および対象者の食事を準備する家族を対象に、秤量法食事記録調査（秤量法）および料理画像撮影（撮影法）の実施方法について調査説明会を行った。秤量法調査の説明では、栄養士が計量器具等を使って詳しく説明した上、実際の計量の練習などを行った。また、事前に配布した自記式の半定量食物摂取頻度調査票の回答の確認作業、身長・体重・腹囲の測定、採血を行い、蓄尿容器（ユリンメート、住友ペークライト）を配布した。蓄尿容器については、使用方法を説明した上で、食事記録調査の4日目に24時間蓄尿を行うよう依頼し、その後宅配便にて回収した。

##### 1-2-3. 食事記録調査

説明会の翌日から、対象者自らによる、週末を含む4日間の秤量法調査の実施と同時に、デジタルカメラによる、その期間の食事の写真撮影を依頼した。調査期



間、対象者にはできるかぎり普段どおりの食事を摂取するよう依頼した。

秤量法では、対象者自身が摂取した全ての食品と飲料について、貸与した計量カップ・スプーン、デジタルスケールを用いて、料理前の状態として計量し、そのうちのどのぐらいを食べたかを記録した。ただし、外食などについては「かさ」や「皿、椀」などを基準とした目安量を記録した。調査の期間中は1日の記録が終了した秤量法調査用紙を、翌日、研究事務局にファックスにより送信し、内容を栄養士がその日のうちに確認して、記入漏れ、不明な点について電話にて対象者に問い合わせた。その後、栄養士がコード付与、重量換算を行った。コード付与は5訂増補日本食品標準成分表に準じて行い、1群の穀類から17群の調味料及び香辛料類までの食品を使用し、18群の調理加工食品は使用せずに、食品レベルに分解を行った。

#### 1-2-4. アミノ酸成分表の整備・データベース化

2010年12月に文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会より「日本食品標準成分表準拠アミノ酸成分表2010」が公表された。この成分表に収載されている食品数は、日本食品標準成分表2010に収載されている1878食品のうち337食品のみである。またこの成分表で対象となるアミノ酸は、以下の18種類である（イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、シスチン、フェニルアラニン、チロシン、スレオニン、トリプトファン、

バリン、ヒスチジン、アルギニン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、プロリン、セリン）。

未収載の食品については、同一種異部位、類似種、アメリカ合衆国農務省食品成分値、レシピによる推定値から置換可能な食品については補完作業を行った。その際、18群の調理加工食品、タンパク質の重量比が1%未満かつ3群の砂糖及び甘味類、4群の豆類、5群の種実類、16群の嗜好飲料類、17群の調味料及び香辛料類は、置換の対象外とした。この方法により、本研究の4日間の食事記録に出現した1094食品を対象にアミノ酸成分表データベースを作成した。

#### 1-2-5. 生体試料

採血後、遠心分離した血液は、血清、血漿、赤血球毎に分注し、蓄尿は、尿量を計算し、分注した後、それぞれ-80度ディープフリーザーで凍結保管をした。

血漿中アミノ酸分析を味の素株式会社イノベーション研究所との共同研究により行った。保存血漿500ulを用いて、液体クロマトグラフィー/質量分析法（LC/MS：Liquid Chromatography / Mass Spectrometry）により、以下の35種類のアミノ酸を分析した（アスパラギン酸、グルタミン酸、ヒドロキシプロリン、セリン、 $\alpha$ -アミノアジピン酸、アスパラギン、グリシン、ザルコシン、グルタミン、タウリン、ヒスチジン、スレオニン、アラニン、シトルリン、 $\gamma$ -アミノ酪酸、1-メチルヒスチジン、カルノシン、 $\beta$ -アミノイソ酪酸、アルギニン、プロリ

ン、3-メチルヒスチジン、アンセリン、エタノールアミン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、シスチン、チロシン、バリン、ヒドロキシリジン、メチオニン、オルニチン、リジン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン)。

### 1-3. 解析方法

4日間の秤量法食事記録調査および食物摂取頻度調査票から計算した摂取量は残差法によりエネルギー調整を行い解析に使用した。食物摂取頻度調査票から計算した摂取量の妥当性を検討するために食事記録調査から計算した摂取量との間のスピアマンの順位相関係数を男女別に算出した。また、血漿中アミノ酸レベルがアミノ酸摂取量を反映したバイオマーカーであるかどうかを検討するために、両者の間のスピアマンの順位相関係数を男女別に算出した。

## 2. がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究

### 2-1. 対象者

2004年2月から2005年2月末までのがん予防・検診研究センターの大腸内視鏡検診受診者3,212人のうち、全大腸内視鏡検査が施行された2,234人(大腸腺腫や大腸がんなどの既往者は除く)が本研究の適格対象者である。このうち拡大内視鏡診断により男性526人と女性256人に大腸腺腫が認められ、本研究の症例とした。残りの1,452人のうち、過形成性ポリープを持たない男性482人と女性256人を本研究の対照とした。なお女性

対照については、女性症例の年齢と検診時期で1:1の層別サンプリングを行っている。本研究の最終的な対象者は、症例782人と対照738人の計1,520人である。

### 2-2. 調査方法

がん予防・検診研究センターでは、全受診者を対象に自記式質問票を配布し、食生活を含む生活習慣の詳細な情報を得ている。また生体試料として7mLEDTA-2Na真空採血管2本分の血漿検体を収集し、血漿検体とbuffy coat検体に分離・分注後、-80度ディープフリーザーで凍結保管している。

### 2-3. 解析方法

食物摂取頻度調査票の回答から分岐鎖アミノ酸(バリン、ロイシン、イソロイシン)の摂取量を算出した。残差法によるエネルギー調整摂取量を用いて、対照群の分布に基づき4分位にて群分けし、大腸腺腫の有無をエンドポイントとしてロジスティック回帰分析を用いてオッズ比を算出した。オッズ比は、年齢、性別、スクリーニング時期、喫煙、飲酒、BMI、身体活動度、大腸がん家族歴、アスピリン/NSAIDs使用、カルシウム摂取、ビタミンD摂取、葉酸摂取、食物繊維摂取、赤肉摂取、加工肉摂取で調整した。

### (倫理面への配慮)

がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究は、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得ている。またがん予防・検診研究センターの検診受診者を対

象とした大腸腺腫研究は、国立がんセンター遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得ている。なお、各研究団体の取り扱いについては、関連する倫理指針を遵守し、個人情報保護に関して細心の注意を払いながら研究を実施している。

## C. 研究結果

### 1. がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究

#### 1-1. 食事記録調査と食物摂取頻度調査票による摂取量の比較（妥当性の検討）

本報告書では、大腸腺腫との関連を検討する分岐鎖アミノ酸（バリン、ロイシン、イソロイシン）の結果を示す。男性におけるエネルギー調整摂取量を用いたスピアマンの相関係数は、バリンが 0.59、ロイシンが 0.58、イソロイシンが 0.60 であった。同様に女性は、バリンが 0.54、ロイシンが 0.51、イソロイシンが 0.52 であった。

#### 1-2. 食事記録調査による摂取量と血漿中アミノ酸レベルの比較

男性における食事記録調査によるエネルギー調整摂取量と血漿中レベルのスピアマンの相関係数は、バリンが 0.05、ロイシンが -0.02、イソロイシンが -0.12 であった。同様に女性では、バリンが -0.09、ロイシンが -0.08、イソロイシンが -0.04 であった。

### 2. がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究

4分位によるカテゴリのうち、最少摂取群を基準にした最多摂取群のオッズ比（95%信頼区間）は、バリンが 1.12（0.69-1.81）、ロイシンが 1.03（0.64-1.65）、イソロイシンが 1.14（0.71-1.83）であった。また傾向性の検定の p 値は、バリンが 0.70、ロイシンが 0.86、イソロイシンが 0.84 であった。バリン、ロイシン、イソロイシンの3つの分岐鎖アミノ酸の合計摂取量を用いて同様の検討をしたところ、最少摂取群を基準にした最多摂取群のオッズ比（95%信頼区間）は、1.11（0.68-1.79）、傾向性の検定の p 値は 0.75 であった。

## D. 考察

### 1. がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究

食事記録調査と食物摂取頻度調査票による摂取量の間相関係数は、男性で 0.6 程度、女性で 0.5 程度であり、比較的高い相関が見られた。この結果は、本研究対象者における他の栄養素の妥当性研究の結果と比較しても同程度であり（45 栄養素の中央値が男性で 0.57、女性が 0.47）、食物摂取頻度調査票による摂取量は対象者のランキングに使えることが示唆された。

一方、食事記録調査による摂取量と血漿中アミノ酸レベルの間には相関が見られず、血中レベルは実際の摂取量を反映しないことが示唆された。血中レベルは食事により短期的には変化することが示

されているものの、今回の結果は血中レベルの個人間差を規定する要因が食事量でない可能性を示唆するもので、今後は血中レベルの規定要因の探索が必要と考えられる。

## 2. がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究

食物摂取頻度調査票から推定した分岐鎖アミノ酸の摂取量の妥当性の検討により、対象者のランキングに使えることが示唆されたことから、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究のデータを用いて、分岐鎖アミノ酸摂取と大腸腺腫との関連を予備的に検討した。その結果、個別の分岐鎖アミノ酸摂取量および分岐鎖アミノ酸摂取量の合計値との間に有意な関連は見られなかった。

バリン、ロイシン、イソロイシンの3つの分岐鎖アミノ酸の合計値を計算するに当たり、食物摂取頻度調査票の妥当性研究の食事記録調査による摂取量を用いてこれらの分岐差アミノ酸の間の相関係数を算出した。その結果、いずれの組み合わせにおいても0.98以上と非常に高い相関があり、同様にタンパク質とも0.95以上と非常に高く相関していた。つまり食事記録調査および食物摂取頻度調査票から計算した分岐鎖アミノ酸の摂取量は、個別のアミノ酸摂取量を把握できていないことを示唆している。その理由のひとつに、各アミノ酸の寄与食品が類似している可能性が考えられる。いずれにして

も上記の分岐鎖アミノ酸と大腸腺腫との関連の結果の解釈には注意が必要であり、食物摂取頻度調査票から推定した摂取量の意義について更なる検討が必要である。

## E. 結論

今年度は大腸腫瘍の予防要因の解析として、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究のデータを用いて分岐鎖アミノ酸摂取量の妥当性を検討し、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究のデータを用いて分岐鎖アミノ酸摂取と大腸腺腫との関連を予備的に検討した。その結果、食事記録調査と食物摂取頻度調査票の摂取量の間には相関が見られたが、食事記録調査の摂取量と血漿レベルの間には相関が見られなかった。また予備的な検討において、分岐鎖アミノ酸摂取量と大腸腺腫との間には有意な関連は観察されなかった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hara A, Sasazuki S, Inoue M, Shimazu T, Iwasaki M, Sawada N, Yamaji T, Ishihara J, Iso H, Tsugane S. Use of vitamin supplements and risk of total cancer and cardiovascular disease among the Japanese general population: A population-based survey. BMC Public Health. 2011;11:540.

2. Iwasaki M, Kasuga Y, Yokoyama S,

- Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Hamada GS, Nishimoto IN, Maciel Mdo S, Motola J, Jr., Laginha FM, Anzai R, Tsugane S. Comparison of postmenopausal endogenous sex hormones among Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. *BMC Med.* 2011;9:16.
3. Iwasaki M, Shimada N, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Hamada GS, Nishimoto IN, Iyeyasu H, Motola J, Jr., Laginha FM, Anzai R, Tsugane S. Fragment c gamma receptor gene polymorphisms and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;126:497-505.
  4. Iwasaki M, Tsugane S. Risk factors for breast cancer: epidemiological evidence from Japanese studies. *Cancer Sci.* 2011;102:1607-14.
  5. Shimazu T, Inoue M, Sasazuki S, Iwasaki M, Sawada N, Yamaji T, Tsugane S. Plasma Isoflavones and the Risk of Lung Cancer in Women: A Nested Case-Control Study in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20:419-27.
  6. Suzuki R, Iwasaki M, Inoue M, Sasazuki S, Sawada N, Yamaji T, Shimazu T, Tsugane S. Body weight at age 20 years, subsequent weight change and breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status--the Japan public health center-based prospective study. *Int J Cancer.* 2011;129:1214-24.
  7. Suzuki R, Iwasaki M, Yamamoto S, Inoue M, Sasazuki S, Sawada N, Yamaji T, Shimazu T, Tsugane S. Leisure-time physical activity and breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status--the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Preventive medicine.* 2011;52:227-33.
  8. Yamaji T, Iwasaki M, Sasazuki S, Tsugane S. Gender difference in the association of insulin and the insulin-like growth factor axis with colorectal neoplasia. *Int J Obes (Lond).* 2012;36:440-7.
  9. Takachi R, Ishihara J, Iwasaki M, Hosoi S, Ishii Y, Sasazuki S, Sawada N, Yamaji T, Shimazu T, Inoue M, Tsugane S. Validity of a self-administered food frequency questionnaire for middle-aged urban cancer screenees: comparison with 4-day weighed dietary records. *Journal of epidemiology.* 2011;21:447-58.
  10. Hara A, Sasazuki S, Inoue M, Iwasaki M, Shimazu T, Sawada N, Yamaji T, Tsugane S. Isoflavone intake and risk of gastric cancer: a population-based prospective cohort study in Japan. *Am J Clin Nutr.* 2012;95:147-54.
  11. Yamaji T, Iwasaki M, Sasazuki S,

- Sakamoto H, Yoshida T, Tsugane S. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and colorectal adenoma according to dietary calcium intake and vitamin D receptor polymorphism. *Am J Epidemiol.* 2012;175:236-44.
12. Cai Q, Long J, Lu W, Qu S, Wen W, Kang D, Lee JY, Chen K, Shen H, Shen CY, Sung H, Matsuo K, Haiman CA, Khoo US, Ren Z, Iwasaki M, Gu K, Xiang YB, Choi JY, Park SK, Zhang L, Hu Z, Wu PE, Noh DY, Tajima K, Henderson BE, Chan KY, Su F, Kasuga Y, Wang W, Cheng JR, Yoo KY, Zheng H, Liu Y, Shieh YL, Kim SW, Lee JW, Iwata H, Le Marchand L, Chan SY, Xie X, Tsugane S, Lee MH, Wang S, Li G, Levy S, Huang B, Shi J, Delahanty R, Zheng Y, Li C, Gao YT, Shu XO, Zheng W. Genome-wide association study identifies breast cancer risk variant at 10q21.2: results from the Asia Breast Cancer Consortium. *Hum Mol Genet.* 2011;20:4991-9.
13. Takachi R, Tsubono Y, Baba K, Inoue M, Sasazuki S, Iwasaki M, Tsugane S, For The Japan Public Health Center-Based Prospective Study G. Red meat intake may increase the risk of colon cancer in Japanese, a population with relatively low red meat consumption. *Asia Pacific journal of clinical nutrition.* 2011;20:603-12.
14. Long J, Cai Q, Sung H, Shi J, Zhang B, Choi JY, Wen W, Delahanty RJ, Lu W, Gao YT, Shen H, Park SK, Chen K, Shen CY, Ren Z, Haiman CA, Matsuo K, Kim MK, Khoo US, Iwasaki M, Zheng Y, Xiang YB, Gu K, Rothman N, Wang W, Hu Z, Liu Y, Yoo KY, Noh DY, Han BG, Lee MH, Zheng H, Zhang L, Wu PE, Shieh YL, Chan SY, Wang S, Xie X, Kim SW, Henderson BE, Le Marchand L, Ito H, Kasuga Y, Ahn SH, Kang HS, Chan KY, Iwata H, Tsugane S, Li C, Shu XO, Kang DH, Zheng W. Genome-wide association study in East asians identifies novel susceptibility Loci for breast cancer. *PLoS Genet.* 2012;8:e1002532.
2. 学会発表
1. 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. 余暇運動とエストロゲン・プロゲステロン受容体別乳がん罹患との関連:多目的コホート(JPHC 研究)より. がん予防大会、京都. 2011年6月
2. Iwasaki M, Kasuga Y, Hamada GS, Tsugane S. Comparison of postmenopausal endogenous sex hormones among Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. XIX IEA World Congress of Epidemiology, Scotland, August 2011.
3. Suzuki R, Iwasaki M, Yamamoto S,

Inoue M, Sasazuki S, Sawada N, Yamaji T, Shimazu T, Tsugane S. Leisure-time physical activity and breast cancer risk defined by oestrogen and progesterone receptor status: the Japan public health center-based prospective study. XIX IEA World Congress of Epidemiology, Scotland, August 2011.

4. 山地太樹、岩崎 基、笹月静、坂本裕美、吉田輝彦、津金昌一郎。血漿ビタミンD濃度およびビタミンDレセプター遺伝子多型と大腸腺腫との関連。第70回日本癌学会学術総会、名古屋。2011年10月
5. 鈴木礼子、岩崎 基、津金昌一郎。余暇運動と乳がん罹患。ブラジル症例対照研究。第70回日本癌学会学術総会、名古屋。2011年10月
6. 高地リベカ、坪野吉孝、井上真奈美、笹月静、岩崎 基、津金昌一郎。赤肉・加工肉摂取量と大腸がん罹患リスクとの関連：JPHC Study。第22回日本疫学会学術総会、東京。2012年1月
7. 石原淳子、高地リベカ、細井聖子、石井有里、岩崎 基、津金昌一郎。料理画像を用いた栄養素摂取量推定の精度の検討-生体指標との比較。第22回日本疫学会学術総会、東京。2012年1月
8. 原梓、笹月静、井上真奈美、島津太一、岩崎 基、澤田典絵、山地太樹、石原淳子、磯博康、津金昌一郎。ビタミンサプリメント摂取と全がん・

循環器疾患リスクとの関連：多目的コホート研究。第22回日本疫学会学術総会、東京。2012年1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

肝発がん抑制物質の検索

鰐淵英機 大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学 教授

研究要旨 2010年、Lancet Oncology 誌に、Sipahi 氏らによって、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬（ARB）が肺発がんリスクを高める可能性があるとして報告された。そこで、肺腺癌及び肺扁平上皮癌のマウスモデルを用い、ARB であるロサルタンの肺発がん修飾作用の検討を行った。結果、NNK→ロサルタン群における過形成、腺腫、腺癌及び全腫瘍の発生頻度は、それぞれ 53, 71, 6 及び 71%であり、NNK 溶媒対照群では、50, 83, 17 及び 83%であった。NTCU→ロサルタン群における扁平上皮化生、異形成及び扁平上皮癌の発生頻度は、それぞれ 67, 25 及び 8%であり、NTCU 溶媒対照群では、31, 31 及び 8%であった。以上より、ロサルタンは、NTCU 誘発マウス肺扁平上皮癌及び NNK 誘発肺腺癌モデルにおいて肺発がん促進作用を有さないことが明らかとなった。

A. 研究目的

2010年4月、Lancet Oncology 誌に、Sipahi 氏らによって、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬（ARB）が発がんリスク（特に肺発がんリスク）を高める可能性があるとして報告された。そこで、肺腺癌及び肺扁平上皮癌のマウスモデルを用い、高血圧治療薬の一種である ARB であるロサルタンの肺発がん修飾作用の検討を行った。

B. 研究方法

雌性 A/J マウス 6 週齢、80 匹を用いた。腺癌誘発群として、実験開始時に 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) を 2 mg/mouse の用量で単回腹腔内投与し、実験開始 1 週目より 200 mg/kgBW/day の用量でロサルタン、または生理食塩水を週 5 回、20 週まで胃内投与を行った。扁平上皮癌群では、N-nitroso-tris-chloroethylurea (NTCU) を実験開始時より 0.014M 75  $\mu$ l の用量で

週 2 回、2 週間背部に皮下投与し、実験開始 2 週目より 18 週まで、上記と同様に投与を行った。投与終了後、全匹剖検を行い、肺の病理組織学的解析を行った。動物実験に関しては、大阪市立大学動物実験委員会の承認を取り、動物実験施設の飼育規定を遵守し、動物愛護の精神で飼育した。

C. 研究結果

投与 8 週目で、NTCU→ロサルタン群で、死亡例がでたため、9 週目より投与量を 100 mg/kgBW/day に変更した。肺腺癌及び肺扁平上皮癌の各群において、最終体重及び肝臓、腎臓、脾臓及び心臓の絶対及び相対重量でロサルタン投与による有意な変化は認められなかった。NNK→ロサルタン群における過形成、腺腫、腺癌及び全腫瘍の発生頻度は、それぞれ 53, 71, 6 及び 71%であり、NNK 溶媒対照群では、50, 83, 17 及び 83%であった。NNK→ロサルタ



ン群における過形成、腺腫、腺癌及び全腫瘍の発生個数においては、0.71, 1.41, 0.06 及び 1.47 個/mouse であり、NNK 溶媒対照群では、0.72, 1.44, 0.17 及び 1.61 個/mouse であった。NTCU→ロサルタン群における扁平上皮化生、異形成及び扁平上皮癌の発生頻度は、それぞれ 67, 25 及び 8% であり、NTCU 溶媒対照群では、31, 31 及び 8% であった。

#### D. 考察

アンギオテンシン II 受容体拮抗薬であるロサルタンは、NTCU 誘発マウス肺扁平上皮癌及び NNK 誘発肺腺癌モデルにおいて肺発がん促進作用を示さなかった。ロサルタンは、アンギオテンシン II 受容体に拮抗することで、血圧上昇を抑止する役割を有する医薬品であるが、腫瘍においては、一部の ARB で、PPAR $\gamma$  agonist 作用を有することが知られており、本作用による腫瘍抑制効果が報告されている。ロサルタンにおける PPAR $\gamma$  agonist 作用は極めて低いとされている。一方で、Sipahi 氏らの報告より、ARB が発がんリスクを高める可能性があるとして報告されたが、その機序に関しては議論されておらず、根拠が不明瞭であった。加えて、Chang 氏らの報告では、ARB の種類により発がんリスクに違いがあり、カンデサルタン(1.79 倍) 及びテルミサルタン(1.54 倍) でリスクが増加するが、ロサルタン(0.78 倍) では低下していた。よって、ARB のアンギオテンシン II 受容体拮抗以外の作用機序が腫瘍へ影響する可能性が考えられる。

#### E. 結論

以上より、ロサルタンは、NTCU 誘発マウス肺扁平上皮癌及び NNK 誘発肺腺癌モデルにおいて肺発がん促進作用を有さないことが明らかとなった。過去の報告より、ロサルタンは、ラット及びマウスを用いた 2 年間発がん性試験においても発がん性を示さなかった。これらより、げっ歯類において、ロサルタンは、肺における発がんイニシエーション作用及びプロモーション作用を有さないことが明らかとなった。一方で ARB の種類により、PPAR $\gamma$  agonist 作用等種々のポテンシャルが異なるため、種々の ARB に対し、発がんリスク評価を行う必要があると考えられる。ARB は現在の臨床で非常に有用な治療薬であり、臨床成績を鑑みると、ヒトに対する発がん性を含めた危険性に関して十分に注意した上で、使用を継続していくことが重要であると考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Wei, M., Wanibuchi, H., Nakae, D., Tsuda, H., Takahashi, H., Hirose, M., Totsuka, M., Tatematsu, M., Fukushima, S. Low-dose carcinogenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in rats: Evidence for the existence of no-effect levels and a mechanism involving p21Cip/WAF1. *Cancer Sci.* 102, 88-94 (2011).  
Kakehashi, A., Ishii, N., Shibata, T., Wei, M., Okazaki, E., Tachibana, T., Fukushima, S., Wanibuchi, H.

- Mitochondrial prohibitins and septin 9 are implicated in the onset of rat hepatocarcinogenesis. *Toxicol Sci.* 119, 61-72 (2011).
- Chusiri, Y., Wongpoomchai, R., Kakehashi, A., Wei, M., Wanibuchi, H., Vinitketkumnuan, U., Fukushima, S. Non-genotoxic mode of action and possible threshold for hepatocarcinogenicity of Kojic acid in F344 rats. *Food Chem Toxicol.* 49, 471-6 (2011).
- Hoshi, H., Sawada, T., Uchida, M., Saito, H., Iijima, H., Toda-Agetsuma, M., Wada, T., Yamazoe, S., Tanaka, H., Kimura, K., Kakehashi, A., Wei, M., Hirakawa, K., Wanibuchi, H. Tumor-associated MUC5AC stimulates in vivo tumorigenicity of human pancreatic cancer. *International journal of oncology.* 38, 619-627 (2011).
- Ishii, N., Wei, M., Kakehashi, A., Doi, K., Yamano, S., Inaba, M., Wanibuchi, H. Enhanced urinary bladder, liver and colon carcinogenesis in Zucker diabetic fatty rats in a multi-organ carcinogenesis: Evidence for mechanisms involving activation of PI3K signaling and impairment of p53 on urinary bladder carcinogenesis. *J Toxicol Pathol.* 24, 1-12 (2011).
- Kohata, Y., Fujiwara, Y., Machida, H., Okazaki, H., Yamagami, H., Tanigawa, T., Watanabe, K., Watanabe, T., Tominaga, K., Wei, M., Wanibuchi, H., Arakawa, T. Role of Th-2 cytokines in the development of Barrett's esophagus in rats. *J Gastroenterol.* 46, 883-893 (2011).
- Nakatani, S., Kakehashi, A., Ishimura, E., Yamano, S., Mori, K., Wei, M., Inaba, M., Wanibuchi, H. Targeted proteomics of isolated glomeruli from the kidneys of diabetic rats: Sorbin and SH3 domain containing 2 is a novel protein associated with diabetic nephropathy. *Exp Diabetes Res.* (2011). in press.
- Xie, XL., Wei, M., Kakehashi, A., Yamano, S., Tajiri, M., Wanibuchi, H. 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline (IQ) promotes mouse hepatocarcinogenesis by activating transforming growth factor- $\beta$  and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways. *Toxicol Sci.* 125, 392-400 (2012)
- Nakatani, S., Wei, M., Ishimura, E., Kakehashi, A., Mori, K., Nishizawa, Y., Inaba, M., Wanibuchi, H. Proteome analysis of laser microdissected glomeruli from formalin-fixed paraffin-embedded kidneys of autopsies of diabetic patients: nephrin is associated with the development of diabetic glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transpl.* (2011). in press.

Takehashi, A., Tago, Y., Yoshida, M., Suokuza, Y., Wei, M., Fukushima, S., Wanibuchi, H. Hormonally active doses of isoflavone aglycones promote mammary and endometrial carcinogenesis and alter the molecular tumor environment in donryu rats. *Toxicol Sci.* 126, 39-51 (2012).

## 2. 学会発表

小松弘明、丁 奎光、梯アンナ、花田庄司、魏 民、西山典利、鰐淵英機：QSTAR Elite LC-MS/MS を用いたヒト肺腺癌におけるプロテオーム解析. 第 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

魏 民、山野荘太郎、加藤実、梯アンナ、鰐淵英機：膀胱がん新規浸潤因子 Carbonic anhydrase 2 の同定. 第 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

加藤実、魏 民、山野荘太郎、仲谷慎也、梯アンナ、鰐淵英機：プロテオーム解析による膀胱癌バイオマーカーの検討. 第 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

山野荘太郎、石井真美、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 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

田尻正喜、魏 民、金川明裕、謝 暁利、豊田武士、鰐淵英機：ピロリ菌誘発胃炎におけるラファノブラシカの修飾作用. 第 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

花田庄司、魏 民、丁 奎光、梯アンナ、

西山典利、鰐淵英機：肺扁平上皮癌におけるプロテオーム解析と臨床病理学的検討. 第 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

xie xiaoli、魏 民、梯アンナ、山野荘太郎、金川明裕、田尻正喜、鰐淵英機：Promotion effects of IQ in a two-stage hepatocarcinogenesis model of B6C3F1 mice. 第 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

仲谷慎也、魏 民、山野荘太郎、石井真美、梯アンナ、鰐淵英機：ヒト剖検例の単離糸球体を用いた糖尿病性腎症のプロテオーム解析. 第 100 回日本病理学会総会、横浜 (2011 年 4 月)

魏 民、梯アンナ、福島昭治、鰐淵英機：遺伝子毒性発がん物質における閾値の存在. 第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会、横浜 (2011 年 7 月)

山野荘太郎、魏 民、鰐淵英機：肺扁平上皮癌モデルにおける気管支肺胞幹細胞の役割. 第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会、横浜 (2011 年 7 月)

山野荘太郎、魏 民、梯アンナ、鰐淵英機：肺扁平上皮癌モデルにおける気管支肺胞幹細胞の関与. 第 26 回発癌病理研究会、札幌 (2011 年 8 月)

加藤実、魏 民、山野荘太郎、鰐淵英機：DDX39 の発現と膀胱癌の浸潤に関する検討. 第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋 (2011 年 10 月)

謝 暁利、魏 民、梯アンナ、田尻正喜、山野荘太郎、神吉将之、鰐淵英機：マウス肝発がんにおける IQ 促進作用のメカ

ニズムの検討. 第 70 回日本癌学会学術  
総会、名古屋 (2011 年 10 月)

小松弘明、西山典利、山野荘太郎、花田  
庄司、丁 奎光、梯アンナ、魏 民、鰐淵英機 : 肺大細胞神経内分泌癌 (LCNEC)  
の新たなバイオマーカーの同定. 第 70  
回日本癌学会学術総会、名古屋 (2011  
年 10 月)

鰐淵英機、魏 民 : ヒ素ばく露と発がん  
リスクー動物モデルを用いた発がん機  
序の解明一. 第 70 回日本癌学会学術総  
会、名古屋 (2011 年 10 月)

山野荘太郎、魏 民、石井真美、梯アン  
ナ、多胡善幸、謝 曉利、鰐淵英機 : NASH  
関連肝癌発症モデルである STAM マウス  
の有用性評価. 第 70 回日本癌学会学術  
総会、名古屋 (2011 年 10 月)

花田庄司、西山典利、山野荘太郎、小松  
弘明、丁 奎光、梯アンナ、魏 民、鰐淵英機 : 肺扁平上皮癌におけるプロテオ  
ーム解析と臨床病理学的検討. 第 70 回  
日本癌学会学術総会、名古屋 (2011 年  
10 月)

魏 民、山野荘太郎、加藤実、梯アンナ、  
多胡善幸、鰐淵英機 : Carbonic  
anhydrase 2 は膀胱がんの新規浸潤関連  
因子である. 第 70 回日本癌学会学術総  
会、名古屋 (2011 年 10 月)

岡部恭子、山野荘太郎、魏 民、加藤実、  
田尻正喜、謝 曉利、鰐淵英機 : ラット  
腎発がんにおける新規バイオマーカー  
の同定. 第 70 回日本癌学会学術総会、  
名古屋 (2011 年 10 月)

田尻正喜、魏 民、岡部恭子、山野荘太

郎、梯アンナ、神吉将之、鰐淵英機 : コ  
ウジ酸および IQ の *in vivo* 変異原性お  
よび発がん修飾作用の検討. 第 70 回日  
本癌学会学術総会、名古屋 (2011 年 10  
月)

梯アンナ、石井真美、山野荘太郎、魏 民、  
岡部恭子、鰐淵英機 : ヒト肝臓腫瘍の比  
較的プロテオーム解析及び新規バイオ  
マーカー候補分子の検討. 第 70 回日本  
癌学会学術総会、名古屋 (2011 年 10 月)  
田尻正喜、魏 民、山野荘太郎、鰐淵英機 : ジフェニルアルシンのラットにお  
ける慢性毒性および発がん性の検討. 第  
17 回ヒ素シンポジウム、つくば (2011  
年 11 月)

鰐淵英機、山野荘太郎 : 肺扁平上皮癌モ  
デルにおける気管支肺胞幹細胞の関与.  
第 11 回分子予防環境医学研究会、倉敷  
(2012 年 1 月)

岡部恭子、山野荘太郎、魏 民、田尻正  
喜、謝 曉利、神吉将之、北野光昭、鰐淵英機 : ラット腎発がんにおける新規バ  
イオマーカーの同定. 第 28 回日本毒性  
病理学会総会および学術集会、東京  
(2012 年 2 月)

田尻正喜、魏 民、岡部恭子、山野荘太  
郎、福永賢輝、林修次、鰐淵英機 : コウ  
ジ酸の *in vivo* 変異原性および発がん修  
飾作用の検討. 第 28 回日本毒性病理学  
会総会および学術集会、東京 (2012 年 2  
月)

Xiao-Li XIE、魏 民、梯アンナ、田尻  
正喜、岡部恭子、多胡善幸、鰐淵英機 :  
マウス肝がんにおける IQ 促進作用のメ