

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24年度 総括・分担研究報告書

(1 / 3)

研究代表者

武藤 倫弘 (国立がん研究センター研究所)

研究分担者

田中 卓二 (岐阜大学)
塚本 徹哉 (藤田保健衛生大学)
高山 哲治 (徳島大学)
石川 秀樹 (京都府立医科大学)
鈴木 貞夫 (名古屋市立大学)
今井 俊夫 (国立がん研究センター研究所)
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)
鰐渕 英機 (大阪市立大学)
清水 雅仁 (岐阜大学)
高橋 智 (名古屋市立大学)
窪田 直人 (東京大学)

平成25 (2013) 年5月

目 次

I. 総括研究報告

がん化学予防剤の開発に関する基礎及び臨床研究 武藤 倫弘	-----	1
---------------------------------	-------	---

II. 分担研究報告

1. 大腸・膵臓がん抑制物質の探索 武藤 倫弘	-----	23
2. 大腸・舌がん抑制物質の検索 田中 卓二	-----	29
3. 大腸がん抑制物質の検索 塚本 徹哉	-----	37
4. 大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価 高山 哲治	-----	43
5. 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 石川 秀樹	-----	45
6. 大腸ポリープ患者に対する発がん予防臨床試験 鈴木 貞夫	-----	51
7. 乳腺がん抑制物質の探索 今井 俊夫	-----	57
8. 乳がん・大腸腫瘍の予防要因の解析 岩崎 基	-----	65
9. 腎及び肝発がん抑制物質の検索 鰐淵 英機	-----	79
10. 非アルコール性肝炎と肝発がんの抑制 清水 雅仁	-----	85
11. 前立腺がん抑制物質の検索 高橋 智	-----	91
12. 発がんにおけるアディポカインの関与に関する解析 窪田 直人	-----	97

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	103
---------------------	-------	-----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	117
-----------------	-------	-----

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）
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 国立がん研究センター研究所
がん予防研究分野

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。本年度の研究成果として、NADPH oxidase の阻害作用を持つ apocynin の肥満関連発がんへの抑制作用をそれぞれの分担研究者が開発した大腸、腎臓、前立腺発がん抑制モデルを用いて検討した。肥満 KK-A^y マウス及び Apc 遺伝子変異のある Min マウスにおいては対照群に比較して、250 mg/L apocynin 投与群で ACF 数が約 30%減少した。更に Min マウスにおいては 500 mg/L 投与群で腸ポリープ生成数が約 40%減少した。EHEN 誘発ラット腎臓がんにおいて、apocynin は、腫瘍及び周囲尿細管組織における ROS 産生を低下させることで、腎臓がん抑制作用を有することが明らかとなった。100 及び 500 mg/L apocynin の投与により MEK、ERK1/2 リン酸化が抑制され、cyclin D1 や clusterin の発現低下を伴い、TRAP ラットにおける前立腺がんを抑制できることが明らかとなった。GOFA に L-NAME を付加した NO ドナー化合物である GOFA-L-NAME に GOFA より強い炎症関連大腸発がん抑制効果が見出された。RAS の farnesyltransferase 阻害剤である manumycin A は、AOM 誘導ラット大腸発がんモデルにおける ACF と腸ポリープの発生を有意に抑制した。DMBA 誘発 F344 乳腺発がん実験において、高脂肪食に BCAA を併用することにより、コーン油群及び Quick Fat 群において増加した高分化腺がんの発生頻度及び数が減少した。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/日）による試験の解析が終了し、2 mm 以下の大腸ポリープが有意に縮小することを見出した。現在、腸ポリープ摘除後のアスピリンの効果を確認する検討が進行中である。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介入試験の結果を解析中である。アディポサイトカインの異常と肝臓がんの関連性として、①血清ビスファチン値の上昇が、肝細胞がんの臨床病期進行および腫瘍径の増大と相関すること、また、がん患者保存血清の解析にて、②高レプチン血症と③肝酸化ストレスの指標である血清 d-ROM 高値（570 Carr U 以上）が、肝がん根治治療後早期再発の予測因子として有用であることが示唆された。

分担研究者

武藤倫弘 国立がん研究センター研究所
ユニット長
田中卓二 岐阜大学 客員講師
塚本徹哉 藤田保健衛生大学 准教授
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
鈴木貞夫 名古屋市立大学 教授
今井俊夫 国立がん研究センター研究所
動物実験支援施設長
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
室長
罇淵英機 大阪市立大学 教授
清水雅仁 岐阜大学 助教
高橋 智 名古屋市立大学 教授
窪田直人 東京大学 特任准教授

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・膵臓発がん抑制物質の検索
【NADPH oxidase 阻害剤の肥満 KK-A^y マウス大腸前がん病変に与える影響の検討】

6 週齢雌 KK-A^y マウスに、azoxymethane (AOM) を 1 匹当たり 200 μ g の用量で、週 1 回、計 3 週間腹腔内投与した。AOM 投与と同時に NADPH oxidase 阻害剤、

apocynin を 250、500 mg/L 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。全身における酸化ストレスの評価は血液中の酸化(ox)LDL 値を ELISA で測定することにより評価した。

【NADPH oxidase 阻害剤の Min マウス腸ポリープ生成に与える影響の検討】

7 週齢雄 Min マウスも KK-A^y マウスと同様に apocynin を 500 mg/L の用量で 6 週間飲水投与した。13 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)、血清トリグリセリド及び総コレステロール量を測定した。全身における酸化ストレスの評価として血中酸化(ox)LDL 値を ELISA で測定した。ROS の評価として、腸ポリープ部位及び非ポリープ部位(上皮)より抽出した mRNA より各種炎症マーカーを real-time PCR にて評価した。更に生成する一酸化窒素(NO)の評価としてニトロチロシンの発現を、また細胞増殖の指標として PCNA の発現を免疫染色にて評価した。

(2) 大腸・舌発がん抑制物質の検索

雄性 ICR マウス (5 週齢) 56 匹を、AOM/ dextran sulfate sodium (DSS) 群、AOM/DSS/100 ppm 抗腫瘍作用のある 3-(4'-geranyloxy-3'-methoxyphenyl)-2-trans propenoic acid (GOFA)-L-NAME 群、AOM/DSS/500 ppm GOFA-L-NAME 群、500 ppm GOFA-L-NAME 群、AOM 群、DSS 群、無処置群の 7 群に分けて実験を行った。大腸腫瘍は AOM (10 mg/kg 体重) を単回腹腔内投与後、1.5% DSS を 1 週間飲水投与して誘発し、GOFA-L-NAME は DSS 投与 1 週間後より 15 週間混餌投与した。実験開始後 18 週で病理学的解析を行った。別に、4 週間の短期実験にて、1.5% DSS (1 週間飲水投与) 誘導マウス大腸粘膜炎症性サイトカインの mRNA 発現に対する GOFA-L-NAME 混餌投与の影響を解析した。

(3) 大腸発がん抑制物質の検索

C57BL/6J マウスに AOM および 2% DSS を投与し、水道水 (A 群: 対照群)、ヒトが 1 日 5 杯飲む量に相当したインスタントコーヒー (B 群) あるいは同量のフレンチプレスコーヒー (C 群) を自由飲水投与した。また、chlorogenic acid (D 群、2500 ppm) あるいは cafestol (E 群、72 ppm) を混餌投与し、実験第 8 および 12 週で屠殺し、生成した腫瘍の解析を行った。

(4) 大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

ラットに AOM を皮下投与し、manumycin A 群と vehicle 群の 2 群に分けた。Manumycin A 群には、manumycin A 5 mg/kg (3 日/週) を 8 週間または 4 週間 (5~8 週) 投与し、vehicle 群は vehicle のみを投与し、8 週後の ACF 数を評価した。同様に、manumycin A 投与を行った群と対照群を 24 週後に屠殺し、腸ポリープの評価を行った。さらに、治療途中のラットを屠殺し、リン酸化 MEK, ERK, Ki67 の免疫染色及び TUNEL 染色を行い、細胞増殖及びアポトーシスを評価した。

(5) 家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

家族性大腸腺腫症患者 (FAP) を対象として、低用量アスピリン腸溶錠とプラシーボを用いた二重盲検法による無作為割付試験を行った。大腸がん予防のための食生活指導を全員に実施した上で、低用量アスピリン (100 mg) 腸溶錠を投与する群とプラシーボ錠を投与する群に分けた。投与期間は 6 から 10 ヶ月間である。主エンドポイントは腸ポリープの減少の有無とした。副エンドポイントはポリープの平均直径、高さの変化、有害事象の有無とした。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、自記式食事摂取頻度票 (FFQ) にて食事内容を把握した。なお、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。

上記試験の結果を受けて、大腸腺腫を摘除してクリーンコロンにした FAP 患者にアスピリンを投与する試験を実施予定である。16 歳以上の FAP 200 例に対して、多施設で前向きにエントリーし、継続して大腸腺腫を内視鏡にて徹底的摘除する。主エンドポイントは、介入期間の大腸手術の有無とする。副エンドポイントは、有害事象 (穿孔、出血、大腸がん死、それ以外の死亡)、大腸発がん、粘膜内がん、内視鏡的治療困難腫瘍の有無である。

(6) 大腸ポリープ患者に対する発がん予防臨床介入試験

試験参加者は、組織診断で確診された大腸腫瘍 (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 歳以下の患者である。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/日) 腸溶錠またはプラシーボ錠である。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。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 (腺腫、がん) の有無であり、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。

(7) 乳腺発がん抑制物質の探索

雌性 F344 ラットの幼若期に高脂肪食 (コーン油あるいは牛脂添加食 Quick Fat) 及び分岐鎖アミノ酸 (BCAA) 添加食を与えた際の DMBA 乳腺発がんに及ぼす影響を検討した。更に、得られた乳がん組織に対し DNA チップ解析を行い、発がん促進に関与する遺伝子の候補を選抜した。また、高脂肪食/BCAA の DMBA 投与時における血清生化学値及び乳腺組織に対する影響を検索する目的で、予備実験を併せて実施した。

(8) 乳がん・大腸腫瘍の予防要因の解析

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 (144 人) の血漿検体を用いて、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。また肥満関連バイオマーカーは免疫測定法により分析した。血漿中バリン、イソロイシン、ロイシンの値の分布に基づき四分位点で 4 群に分けたグループごとに肥満関連バイオマーカーの幾何平均値を算出した。

(9) 腎及び肝発がん抑制物質の探索

雄性 Wistar ラット 6 週齢 36 匹を 3 群に分け、Group 2 及び 3 には、EHEN を 500 ppm の用量で 2 週間飲水投与し、Group 1 には、通常水を投与した。実験開始第 3 週から 32 週まで、Group 3 には apocynin を 15 mg/kg BW の用量で、また Group 1 及び 2 には、溶媒である saline を 1 回/日、5 日/週で強制胃内投与を行った。実験終了後、腎腫瘍をサンプリングし、各種解析を行った。

(10) 非アルコール性肝炎と肝発がんの抑制

肥満・NASH 関連マウス肝発がんモデルに BCAA を投与し、腫瘍形成抑制効果を検討した。BCAA と非環式レチノイド、および非環式レチノイドと FXR agonist GW4064 の併用処理が、肝がん細胞の増殖を相乗的に抑制するか検討した。また肝

がん患者の保存血清を用いて、肥満・糖尿病関連血清因子を解析し、肝発がん (再発) の予測因子として臨床的に有用な biomarker を検索した。

(11) 前立腺発がん抑制物質の探索

雄性 6 週齢の TRAP ラットに apocynin を 100、500 mg/L 濃度で飲料水投与した。apocynin を投与しない対照群も設けた。実験期間 8 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。前立腺標本を用いて Ki67、TUNEL 免疫染色を行い、細胞増殖、アポトーシスを評価した。また、腹葉前立腺を用いてウエスタン解析、マイクロアレイ解析を行い、発がん抑制効果の機序の解析を行った。

(12) 発がんにおけるアディポカインの関与に関する解析

ヒトケラチノサイトを用いた *in vitro* の解析では、mRNA レベルにおける adiponectin 受容体発現の確認をまず行い、続いて adiponectin 投与による細胞増殖能・細胞遊走能を検討した。またその分子メカニズムを解明するため、adiponectin による ERK の活性化、ERK 阻害薬の効果および adiponectin 受容体ノックダウンの効果について検討した。*in vivo* の解析では、adiponectin 欠損マウスにおける創傷治癒の検討、adiponectin 欠損マウスに対する adiponectin 補充実験、および糖尿病・肥満モデル動物として *db/db* マウスに対する adiponectin 投与による創傷治療効果の検討を行った。

(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倫理委員会の承認を得た後、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・膵臓発がん抑制物質の探索【NADPH oxidase 阻害剤の肥満 KK-*A^y* マウス大腸前がん病変に与える影響の検討】

Apocynin を投与した 13 週齢の KK-*A^y* マウスの血清における oxLDL 量を測定したところ、非投与 KK-*A^y* マウスでは平均 216 pg/mL、250 pg/L 投与では平均 195 mg/mL、500 mg/L 投与では平均 188 pg/mL

であった。大腸 ACF 生成数は、対照群では 70.5 ± 17.2 (SD)個に比較して、250 mg/L apocynin 投与群で 48.3 ± 20.6 個 ($p < 0.05$)と減少し、500 mg/L apocynin 投与群では 55.8 ± 22.3 個と減少傾向を認めた。

【NADPH oxidase 阻害剤の Min マウス腸ポリープ生成に与える影響の検討】
Min マウスの腸ポリープ上皮における NADPH oxidase の構成因子 (NOX1, NOX2, p22phox) の発現量を Real-time PCR にて測定したところ、NOX1 は非ポリープ部位の約 5 倍、p22phox は約 10 倍にその発現量が上昇していた。NOX2 の発現量は変わらなかった。

13 週齢における雄 Min マウスの腸ポリープ数は 50.4 ± 6.1 (SE) 個であった。500 mg/L apocynin 投与によって腸ポリープ数は減少し、 30.6 ± 3.3 個となった ($p < 0.05$)。次に腸ポリープ数減少のメカニズムを明らかにする目的で、酸化関連因子に注目し、且つ発がん促進に寄与すると考えられている inducible nitric oxide synthase (iNOS)、Pai-1、IL-6 の発現変化を検討した。その結果、apocynin 投与によって iNOS の発現が低下していた。その他、細胞増殖に関わる c-Myc の発現が減少していた。そこで、腸ポリープ部位における免疫染色を行うと、投与群の腸ポリープにおいてニトロチロシンの抗体で染まる核の数の若干の低下を主に腸ポリープ基底部にて認めることが出来た。しかしながら、細胞の増殖を示す PCNA 染色では腸ポリープ全体的な染色陽性像が認められた。

(2) 大腸・舌発がん抑制物質の検索

実験終了時の肉眼的観察後、病理組織学的解析を実施した結果、大腸腺がんの発生率は AOM/DSS 群：100%、AOM/DSS/100 ppm GOFA-L-NAME 群：42% ($p < 0.005$)、AOM/DSS/500 ppm GOFA-L-NAME 群：17% ($p < 0.001$) であった。一方、大腸腺がんの発生個数 (/匹) は AOM/DSS 群： 3.50 ± 2.47 、AOM/DSS/100 ppm GOFA-L-NAME 群： 0.50 ± 1.67 ($p < 0.01$ 、93%抑制率)、AOM/DSS/500 ppm GOFA-L-NAME 群： 0.17 ± 1.39 ($p < 0.001$ 、95%抑制率) であった。短期実験では、GOFA-L-NAME の 500 ppm 混餌投与で大腸粘膜の cyclooxygenase (COX)-2, nitric oxide synthase (NOS) 2, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)、interleukin (IL)-1 β 、IL-6、Mip-2 の mRNA 発現が有意 ($p < 0.05 \sim p < 0.001$) に低下し、100 ppm 混餌投与では Mip-2 発現が有意 ($p < 0.05$) に低下した。

(3) 大腸発がん抑制物質の検索

第 8 週屠殺時には、A(対照)群に比して、B(インスタント) (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$)、C(フレンチプレス) ($p < 0.05$)、D(chlorogenic acid) ($p < 0.05$)、E(cafestol) ($p < 0.01$)群のいずれも、大腸腫瘍発生数に有意な減少が見られた。大腸腫瘍の体積を比較すると、C群では、A群より有意に腫瘍体積の低下が見られた (Dunn's multiple comparison test, $p < 0.05$)。炎症性マーカーの検討では、C群で TNF- α (Dunn's multiple comparison test, $p < 0.02$)、iNOS ($p < 0.01$)、IL-17A ($p < 0.01$)、FoxP3 ($p < 0.02$)の低下、E群で FoxP3 ($p < 0.05$)の低下が見られた。しかし、第 12 週における腫瘍発生数、腫瘍体積、炎症性マーカーの発現量の有意な差は見られなかった。

(4) 大腸 ACF を用いた大腸がん予防薬の評価

Manumycin A の 8 週投与群では平均 72.9 ± 20.1 個の ACF が認められ、vehicle 群 (155.6 ± 56.7 個) に比べて有意に減少した ($p = 0.003$)。同様に、manumycin A 4 週(第 5~8 週目)投与群においても、平均 ACF 数 (92.2 ± 13.0 個) は vehicle 群 (222.3 ± 83.3) に比べて有意に減少した ($p = 0.004$)。また、manumycin A を 8 週投与したラットの 24 週後の平均ポリープ数は 0.73 ± 0.6 個であり、対照群 (3.0 ± 1.6 個) に比べて有意に減少していた ($p < 0.05$)。AOM 投与ラットに manumycin A を 4 回投与し、摘出した大腸の ACF におけるリン酸化 ERK, リン酸化 MEK, Ki67 の発現は、いずれも manumycin A 群で低下していた。同様に、TUNEL 染色を行ったところ、manumycin A 群では対照群に比べ TUNEL 陽性細胞が有意に増加していた。

(5) 家族性大腸腺腫症患者の発がん予防

34 人が試験薬を服用し完遂した。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。主エンドポイントである大腸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 2 mm 未満の者において、アスピリン群では有意に減少を認めた。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、投与後に摘除した腸ポリープの β カテニンの染色率が高い者、上皮内 COX-2 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い傾向を認めた。

一方、手術を希望しない FAP 患者に対して、これまで 1 施設で内視鏡により大腸腺腫を摘除した。手術を希望しない 87 人の患者に対して、最大 19 回、平均 5.2 回の大腸内視鏡検査により、平均 353 個、最大 1,522 個の大腸腺腫を摘除し、平均 4.1 年、最長 16 年の経過 (353.6 人年) を観察しているが、これまでに内視鏡的に摘除困難な大腸がんの発生は認めていない。また、内視鏡的摘除により穿孔や輸血を要するような出血もない。そこで、この度、この成績をもとに多施設臨床試験実施のプロトコールを作成し、倫理委員会の得られた施設より、リクルートを開始した。

(6) 大腸ポリープ患者に対する発がん予防臨床介入試験

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、エントリーを終了とした。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。そのうち 72 人が試験途中で脱落し、318 人が試験を完遂した。現在、割付を閉鎖し、結果を解析中である。

試験参加中に患者の希望または重篤な副作用のためキーオープンしたのは 9 例あった。そのうち、特に重篤な副作用であった出血性十二指腸潰瘍、ステーブンス・ジョンソン症候群、硬膜下血腫、肺線維症の 4 例は全例プラシーボ群であった。

(7) 乳腺発がん抑制物質の探索

F344 ラットの 5~6 週齢時に高脂肪食/BCAA を与えた予備実験では、基礎飼料を与えた対照群と比べ血清レプチン値の上昇/上昇傾向及びアディポネクチン値の低下がみられたが、BCAA はこれらに対して明らかな改善作用を示さなかった。DMBA 誘発乳腺発がん実験においては、腺がんの発生時期、発生頻度、数および体積の各指標にて、対照群に比し高脂肪食群では、発がん促進作用がみられ、発生する腺がんの形質も異なることが明らかになった。また、BCAA は高脂肪食による発がん促進作用に対し、抑制傾向を示すことが明らかになった。更に、発がん促進及び腺がんの形質変化に関与する遺伝子の探索を試みた結果、キナーゼ A については、正常乳腺に比し対照群の乳がんで発現が増加し、高脂肪食群では更に増

加する傾向を示した。キナーゼ B については、乳がんにおける mRNA の発現量に群間の明らかな差はみられなかったが、タンパク量は中・低分化腺がんが増加していた。

(8) 乳がん・大腸腫瘍の予防要因の解析

血漿中 BCAA 濃度は body mass index (BMI)、レプチン、C ペプチド、insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) との間に正の関連が見られ、adiponectin と insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) との間には負の関連が観察された。また TNF- α 、IL-6、insulin-like growth factor-1 (IGF-1) とは関連が見られなかった。さらに、C ペプチドをはじめとする肥満関連バイオマーカーで調整をした結果、血漿中パリン濃度と C ペプチドとの間に有意な正の関連、また男性において、血漿中 BCAA 濃度と adiponectin との間に有意な負の関連が見られた。

(9) 腎及び肝発がん抑制物質の探索

Apocynin 投与による体重推移、飲水量及び摂餌量に変化はなく、明らかな毒性は認められなかった。剖検時の腎腫瘍体積測定において、EHEN 単独投与群と比較し、EHEN-apocynin 投与群で有意な減少を認めた。病理組織学的解析の結果、異型尿細管、腎細胞腺腫、腺がん及び合計腫瘍においても EHEN 単独投与群と比較し、EHEN-apocynin 投与群で発生頻度及び発生個数ともに減少した。次に腫瘍及び周囲尿細管組織に対して、酸化ストレス (DHE 染色及び 8-OHdG 染色)、細胞増殖能 (Ki-67 染色)、アポトーシス能 (TUNEL 染色) 及び微小血管密度 (MVD: CD34 染色) について検討した結果、apocynin 投与による腫瘍及び周囲組織内での酸化ストレス、細胞増殖能及びアポトーシス能の低値が認められた。加えて血管密度も減少した。

(10) 非アルコール性肝炎と肝発がんの抑制

BCAA の投与によって、肥満・NASH 関連マウス肝発がんモデルに自然発症する肝前がん病変の発生数は有意に減少した。その作用機序として、肝細胞の増殖活性の抑制とアポトーシスおよび細胞周期の制御、肝臓および脂肪組織における慢性炎症状態の改善、脂肪組織における adiponectin、PPAR α 、PPAR γ mRNA の発現亢進と MCP-1 mRNA の発現抑制が確認さ

れた。また BCAA と非環式レチノイドの併用、および非環式レチノイドと GW4064 の併用によって、肝がん細胞における RXR α 蛋白のリン酸化抑制と、p21 および RAR β 蛋白の発現亢進が認められ、腫瘍細胞の増殖および腫瘍細胞移植片の増大が相乗的に抑制されることが確認された。さらに肝がん患者保存血清の解析にて、酸化ストレスの指標である血清 d-ROM 高値 (570 Carr U 以上) が、肝がん根治的治療後再発の独立した危険因子でることが明らかになった。

(11) 前立腺発がん抑制物質の検索

群間において最終体重、肝、腎、精巣および前立腺腹葉重量に差は認められなかった。血中テストステロンは apocynin 500 mg/L 投与群でわずかに有意な上昇を認めたが、エストラジオール、アディポネクチンに群間差は見られなかった。腺房ごとに低異型度 PIN、高異型度 PIN、腺がんの3種類の病変に分類し、全腺房に対する割合を評価した結果、腺がんの割合は、腹葉、側葉のいずれにおいても apocynin 濃度依存性に有意に低下した。腹葉、側葉において、Ki67、アポトーシスの標識率はいずれも apocynin 濃度依存性に低下するとともに有意な減少を認めた。apocynin 投与群において MEK、ERK1/2 リン酸化が抑制され、cyclin D1 の発現低下も認められた。また、マイクロアレイ解析にて apocynin 投与により発現低下する遺伝子として抽出した clusterin は apocynin 投与群で mRNA、タンパクとも低下していた。

(12) 発がんにおけるアディポカインの関与に関する解析

ヒトケラチノサイトでは mRNA レベルで adiponectin 受容体 AdipoR1 および AdipoR2 の両方の発現が確認された。adiponectin はヒトケラチノサイトにおいて用量依存的に細胞増殖・細胞遊走を促進した。adiponectin はヒトケラチノサイトにおいて、ERK の活性化を促進し、adiponectin によるヒトケラチノサイトの細胞増殖能・細胞遊走能は ERK シグナル依存的であった。adiponectin による ERK 活性化は、AdipoR1/AdipoR2 のノックダウンにより、有意に抑制された。adiponectin 欠損マウスでは野生型マウスに比し皮膚創傷治癒が遅延していたが、adiponectin の補充によりその遅延はほぼ完全に回復した。db/db マウスにおいて、adiponectin 塗布により皮膚創傷治癒の遅延が改善した。

D. 考察

近年、NADPH oxidase 阻害剤は動脈硬化を阻害する薬剤としても期待されており、NADPH oxidase の構成成分で NOX1 はヒト大腸上皮において強く発現しているため大腸がん予防のターゲットとしても期待される。今回、Min マウスに生成した腸ポリープにおける NADPH oxidase の構成成分の発現量を検討すると NOX1 も p22phox も上昇しており、その発現が腺腫にて上昇していることが初めて分かった。両マウスにおける全身的酸化ストレスを血液中の酸化 (ox) LDL 値より測定すると、apocynin の投与により改善することが分かった。Apocynin の投与により KK-A^y マウスにおける ACF 生成数を減少させた。また、Min マウスに生成した腸ポリープ数も減少させた。更に、腸ポリープ部位における ROS の影響として iNOS の発現量を検討すると apocynin の投与によりその発現量が減少した。NADPH oxidase 阻害と NF-kappaB 活性阻害との関連が報告されており、iNOS の発現が NF-kappaB によっても制御されていることを考えると今後、apocynin による NF-kappaB 転写活性阻害能を検討する必要がある。

これまで、腫瘍発生における NO の役割を検討するためにいくつかの NO ドナー化合物が使用されてきた。NO は、従来の治療薬に対する腫瘍細胞耐性を克服する薬剤としても有効とされる。本研究の結果から、GOFA に L-NAME を付加した NO ドナー化合物、GOFA-L-NAME に GOFA より強い炎症関連大腸発がん抑制効果が見出された。NO ドナーの医療適用は、顕著な低血圧を惹起する血管拡張やシアン化物のような中毒性代謝産物の蓄積などの副作用によって制限されてきた。しかし、近年は、最大の抗増殖性活性と最小副作用を有する理想的な NO ドナー化合物を作出するための研究が進行中である。例えば、NO-NSAID は、NCI 後援の第一相無作為試験 (結腸直腸がんの高危険群患者に対する NO-アスピリン錠の効果) が進行中である。

未熟ヘルパー T 細胞 (Th0) は、サイトカイン刺激により、Th1、Th2、Th17、Treg に分化する。本研究では、Th1 優位である C57BL/6J を用いて、AOM+DSS 投与対照群 (A 群) に対して、インスタントコーヒー (B 群)、フレンチプレスコーヒー (C 群) およびコーヒー主成分である chlorogenic acid (D 群)、caffestol (E 群) による炎症反応抑制効果と腫瘍発生数を検討したところ、実験第 8 週では、B

からE群全てで腫瘍発生数の低下があり、C群では腫瘍体積の有意な低下が見られた。E群で用いたコーヒーオイル成分である Cafestol は、フレンチプレスコーヒー (C群) に多く含まれることから、Cafestol および何らかのオイル成分が AOM+DSS 発がん抑制に有効であることが示唆された。一方で、chlogogenic acid のような抗酸化物質は、有効性を証明できなかった。今後、コーヒー摂取によって、Th1, Th2 のみならず、Th17 や Treg 経路の変動、あるいは DSS 誘発大腸炎および大腸発がんにも及ぼす影響について検討する必要があると考えられた。

RAS の farnesyltransferase 阻害剤である manumycin A は、AOM 誘導ラット大腸発がんモデルにおける ACF、腸ポリープの発生を有意に抑制した。その機序として、manumycin A が RAS を阻害することにより、その下流の RAF/MEK/ERK pathway のシグナル伝達を阻害し、細胞増殖を抑制すること、及びアポトーシスを誘導することの2つの機序が関与することが明らかとなった。

FAP 患者は大腸がんを発症したり、腺腫が大きくなったりすることにより、下血や貧血、腹痛などの症状が発生してから診断されることが多かったが、大腸がん検診の普及などにより大腸内視鏡検査の機会が増えたことや、FAP の遺伝診療体制の充実により血縁者のサーベイランスがされることにより、未症状にて腺腫が小さな段階で診断される FAP 患者が増えてきている。また、日本の診療現場では、大腸腺腫数が比較的少ない場合や、大腸腺腫が小さい場合には、FAP と診断されても、すぐに手術をするのではなく、大きな腺腫を内視鏡的に摘除して経過をみることも行われてきている。しかし、腺腫を摘除することにより大腸がんの発生が予防でき、且つ大腸切除を避けることができるのか、または手術の時期を遅らせることができるのか、などについての知見はまったく得られていないため、臨床現場における治療方針は定まっていない。

そこで、手術を希望しない FAP 患者に対して、積極的に内視鏡により大腸腺腫を摘除し、日本における大腸内視鏡専門施設による多施設研究により、手術の時期を遅らせることができるのかを検討することが必要と考え、新たな計画をスタートさせた。また、本試験のエントリーが順調に行われたのちに、アスピリンを組み合わせた大腸がん予防試験を実施する予定である。

大腸ポリープ患者に対する発がん予防臨床介入試験としてエントリー期間を 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。しかし、本研究と類似した米国で行われた研究 (NEJM, 348, 883-890, 2003) 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。つまり、試験開始前の必要症例数は再計算したところ、現時点で必要症例数に達成していると考えられた。

現在、層別化解析を行っており、非喫煙者、通常飲酒者におけるアスピリンの効果を検討している。

F344 雌ラットの 5~9 週齢時に高脂肪食を与えた際の DMBA 誘発乳腺発がんにも及ぼす影響として、発がん促進作用を示すこと、及び発生する腺がんの形質にも影響することを明らかにした。これらは、SD 系雌ラットの離乳後 (30~50 日齢時) に高脂肪食を与えることで DMBA 誘発乳腺発がんが促進される報告と矛盾しない。しかし、幼若期の一定期間のみ高脂肪食を与えた結果、その後の発がん過程に影響する詳細な機序は今後の課題である。

今回実施した F344 雌ラットを用いた DMBA 誘発乳腺発がん実験において、高脂肪食に BCAA を併用することにより、コーン油群及び Quick Fat 群において増加した高分化腺がんの発生頻度及び数が減少あるいは減少傾向を示した。高分化腺がんに対する発がん促進作用については Smad2/3 をリン酸化するキナーゼ A の発現増加が関与している可能性があることから、BCAA の活性として既に報告されている肝がん細胞における PI3K/Akt 阻害による抗アポトーシス作用などの関連性も踏まえながら研究を進める予定である。

血漿中 BCAA 濃度と肥満関連バイオマーカーとの関連を検討した。今回の結果は、C ペプチドが BMI や他の肥満関連バイオマーカーとは独立して血漿中バリリン濃度に関連することを示している。また adiponectin も BMI や他の肥満関連バイオマーカーとは独立して血漿中 BCAA 濃度に関連することが示唆された。現在のところ、血漿中 BCAA と adiponectin の間に負の関連を観察した研究は、我々の知る限り本研究が初めてである。本研究の結果の問題点は、研究デザインが断面研究であるため、原因か結果かを区別できない点である。つまり、BCAA 濃度が高いから C ペプチド濃度が高くなったのかは不明である。また、今回の分析対象である BCAA および肥満関連バイオマーカーの濃度は採血時の空腹時間の影響を受ける

可能性がある。幾何平均値を算出する際に、統計的に調整はしているものの、その影響を完全に排除することは困難であり、結果に何らかの影響を与えている可能性もある。

腎臓は異物排泄の主臓器であることから常に高いレベルの酸化ストレスに曝されており、腎臓がんにおいて酸化ストレスの影響は重要であると考えられる。内因性 NADPH oxidase inhibitor である apocynin 投与により、EHEN 誘発ラット腎臓がんモデルにおいて腫瘍体積を減少させ、腫瘍のみならず異型尿細管の発生頻度及び個数においても減少した。さらに腫瘍内の酸化ストレスが低下し、細胞増殖能及び微小血管密度においても減少した。以上より、apocynin は EHEN 誘発ラット腎臓がんモデルにおいて発がん抑制作用を有することが明らかとなった。

BCAA は肥満・NASH 関連肝臓がんモデルにおいて、肝および脂肪組織における慢性炎症状態を改善するとともに、肝における PPAR γ の発現亢進、アポトーシスの誘導、および細胞周期の制御を介して肝細胞の増殖活性を抑制し、肝前がん病変の発生を抑制することが明らかになった。また BCAA は、IGF/IGF-1R シグナルと核内受容体 RXR α 、RAR β の発現・機能を制御することで、非環式レチノイドの肝臓がん抑制作用を増強し、肝がん細胞の増殖を相乗的に抑制する可能性が示めされた。核内受容体 FXR の agonist である GW4064 は、RXR α 、ERK、Stat3 のリン酸化を抑制することで、非環式レチノイドの肝がん細胞増殖抑制作用を促進する可能性が示めされた。さらに臨床試験によって、肥満や糖尿病、NASH 患者において認められる酸化ストレスの亢進が、肝がん治療後再発の予測マーカーとして有用であることが明らかになった。

NADPH oxidase 阻害剤である apocynin により、TRAP ラットにおける前立腺臓がんを抑制できることが明らかとなった。apocynin はマウスで血中 adiponectin を上昇させることが報告されており、当初は adiponectin を介した前立腺臓がん抑制を期待したが、今回の実験系では明らかではなかった。発がん抑制メカニズムとして MEK-ERK シグナル伝達経路の不活化および cyclin D1、clusterin 発現低下を介した細胞増殖抑制が考えられた。Clusterin は去勢抵抗性ヒト前立腺がんにおいて高発現していることが知られており、clusterin を対象とした分子標的治療薬(OGX-011)の開発が現在 Phase II まで進んでいる。また、phenethyl isothiocyanate (PEITC) による TRAMP マ

ウス前立腺臓がん抑制の際にも血中 clusterin の低下が報告されており、apocynin は前立腺がんに対する化学予防のみならず、治療にも応用できる可能性が示めされた。

近年、皮膚創傷治癒過程において脂肪組織の役割が注目されている。脂肪組織は様々なサイトカインや成長因子といった生理活性物質を分泌し、皮膚創傷治癒に関与する。具体的には線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子、上皮成長因子様増殖因子といった物質が脂肪細胞から分泌され、皮膚創傷治癒を促進することが報告されている。また血管内皮細胞増殖因子やアンジオポエチン-1 といった物質も脂肪細胞から分泌され、血管新生を促し、創傷治癒を促進する。本研究において、adiponectin はヒトケラチノサイトに対して皮膚創傷治癒において最終段階の、上皮化に関わる重要なステップである細胞増殖、細胞遊走を促進することが明らかとなった。

E. 結論

NADPH oxidase は一部 iNOS 発現を介し大腸臓がんに関与している可能性が示された。NADPH oxidase 阻害剤の発がん抑制作用が、他の肥満関連がんにおいても認められるか、また、腺がんではなく腺腫の状態における NADPH oxidase の発現量も検討する必要がある。これらの研究を進めることにより、より詳細な大腸臓がんの機序や大腸臓がん予防方策のデータが得られるものと考えられる。

NO ドナー化合物として新規に合成した GOFA-L-NAME は炎症関連大腸臓がんを顕著に抑制することが判明した。抑制機構として、GOFA-L-NAME の抗炎症作用が示唆された。NO ドナー化合物は新規がん化学予防剤の素材として有用であると考えられた。

C57BL/6 マウスを用いて、AOM+DSS 大腸臓がん系に対するコーヒーおよびその主成分による炎症の抑制効果と発がん抑制効果を検討した。Cafestol および何らかのオイル成分が AOM+DSS 発がん抑制に有効であることが示唆された。

RAS 阻害剤である manumycin A の大腸臓がんに対する抑制効果が示唆され、K-RAS 分子を標的とした大腸がん予防薬の有効性が示唆された。

家族性大腸腺腫症に対して、徹底的な大腸腺腫摘除を行う前向き登録研究を行い、さらに大腸がん予防効果を高めるために、その集団に対してアスピリンを用い臨床試験を実施する予定である。

大腸がん化学予防のため、低用量アスピリン腸溶錠 (100 mg/day) の効果を評価する臨床試験は試験が完遂し、データを解析中である。

DMBA 誘発ラット乳腺発がんモデルにおいて高脂肪食を幼若期に与えることが、発がんを促進し、発生する腺がんの形質にも影響することを明らかにした。また、BCAA は高脂肪食による発がん促進作用に対し、抑制傾向を示した。また、発がん促進及び腺がんの形質変化に関与する遺伝子としてキナーゼ A とキナーゼ B の乳がん細胞に対する機能解析を進める必要がある。

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、BCAA が大腸発がんに関与するメカニズムの理解のために、血漿中 BCAA 濃度と肥満関連バイオマーカーとの関連を検討した。その結果、血漿中 BCAA レベルが高いことが、大腸がんなどの肥満関連がんのリスク上昇と関連する可能性を示すものであった。

EHEN 誘発ラット腎発がんにおいて、内因性 NADPH oxidase inhibitor である apocynin は、腫瘍及び周囲尿細管組織において ROS 産生を低下させることで、腎発がん抑制作用を有することが明らかとなった。今回の実験から、NADPH oxidase inhibitor 等を用いて、腫瘍及び周囲尿細管組織で ROS 産生を低下させることは、腎発がん予防に有効であると考えられた。

BCAA は肝臓のみならず脂肪組織にも作用することで、より積極的かつ多角的に肥満関連分子異常を改善・制御し、肥満・NASH に関連した肝腫瘍形成を抑制することが明らかになった。また、BCAA と肝発がん抑制薬として臨床応用が進められている非環式レチノイドの併用によって、相乗的な肝がん細胞の増殖抑制効果が認められたことは、今後の肝がん診療を考える上で興味深い。さらに、酸化ストレスの亢進や、我々が今までに報告してきたインスリン抵抗性や高レプチン血症は、肝発がん (再発) 危険群のスクリーニングマーカーとなる可能性が示された。

前立腺がん好発トランスジェニックラットを用いて apocynin の前立腺発がんに対する影響を検討した結果、apocynin は MEK-ERK シグナル伝達経路の不活性化および cyclin D1、clusterin 発現低下を介して前立腺がん細胞増殖を抑制し、前立腺発がんを抑制することが明らかとなった。これらの結果から apocynin は前立腺がんに対する化学予防剤として有望であると思われた。

Adiponectin は adiponectin

-AdipoR1-ERK 経路を介してケラチノサイトの細胞増殖および細胞遊走を促進することで皮膚創傷治癒を促進していることが示唆された。肥満に伴うインスリン抵抗性の原因に脂肪細胞から分泌される adiponectin の低下が報告されているが、本研究によりこの低 adiponectin は 2 型糖尿病やメタボリックシンドロームの原因となっているばかりでなく、皮膚の創傷治癒遅延の原因となりうる事が明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Arai, Y., Totoki, Y., Takahashi, H., Nakamura, H., Hama, N., Kohno, T., Tsuta, K., Yoshida, A., Asamura, H., Mutoh, M., Hosoda, F., Tsuda, H., Shibata, T. Mouse model for ROS1-rearranged lung cancer. *PLoS One*, **8**:e56010, 2013.
- 2) Ueno, T., Imaida, L., Yoshimoto, M., Hayakawa, T., Takahashi, M., Imai, T., Yanaka, A., Tsuta, K., Komiya, M., Wakabayashi, K., Mutoh, M. Non-invasive X-ray micro-computed tomographic evaluation of indomethacin on urethane-induced lung carcinogenesis in mice. *Anticancer Res.*, **32**:4773-4780, 2012.
- 3) Ueno, T., Teraoka, N., Takasu, S., Nakano, K., Takahashi, M., Yamamoto, M., Fujii, G., Komiya, M., Yanaka, A., Wakabayashi, K., Mutoh, M. Suppressive effect of pioglitazone, a PPAR gamma ligand, on azoxymethane-induced colon aberrant crypt foci in KK-*A*^y mice. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **13**:4067-4073, 2012.
- 4) Ishino, K., Mutoh, M., Totsuka, Y., Nakagama, H. Metabolic syndrome : A novel high-risk state for colorectal cancer. *Cancer Lett.*, in press.
- 5) Shimura, M., Yamamoto, M., Fujii, G., Takahashi, M., Komiya, M., Noma, T., Tanuma, S., Yanaka, A., Mutoh, M. Novel compound SK-1009 suppresses interleukin-6 expression through modulation of activation of nuclear factor-kappaB pathway. *Bio. Pharm. Bull.*, **35**:2186-2191, 2012.

- 6) Takahashi, M., Mutoh, M., Ishigamori, R., Fujii, G., Imai, T. Involvement of inflammatory factors in pancreatic carcinogenesis and preventive effects of anti-inflammatory agents. *Semin. Immunopathol.*, **35**:203-227, 2013.
- 7) Hori, M., Onaya, H., Takahashi, M., Hiraoka, N., Mutoh, M., Kosuge, T., Nakagama, H. Invasive ductal carcinoma developing in pancreas with severe Fatty infiltration. *Pancreas*, **41**:1137-1139, 2012.
- 8) Yoshimoto, M., Hayakawa, T., Mutoh, M., Imai, T., Tsuda, K., Kimura, S., Umeda, IO., Fujii, H., Wakabayashi, K. In vivo SPECT imaging with ¹¹¹In-DOTA-c(RGDfK) to detect early pancreatic cancer in a hamster pancreatic carcinogenesis model. *J. Nucl. Med.*, **53**:765-771, 2012.
- 9) Takasu, S., Mutoh, M., Takahashi, M., Nakagama, H. Lipoprotein lipase as a candidate target for cancer prevention/therapy. *Biochem. Res. Int.*, **2012**:398697, 2012.
- 10) 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*, **130**:259-266, 2012.
- 11) Ito, K., Ishigamori, R., Mutoh, M., Ohta, T., Imai, T., Takahashi, M. *A⁺* allele promotes azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis via macrophage migration in hyperlipidemic/diabetic KK mice. *Cancer Sci.*, in press.
- 12) Komiya, M., Fujii, G., Takahashi, M., Iigo, M., Mutoh, M. Prevention and intervention trials for colorectal cancer. *Jpn. J Clin. Oncol.*, in press
- 13) Tanaka, T., Tanaka, T., Tanaka, M., Kuno, T. Cancer chemoprevention by citrus pulp and juices containing high amounts of beta-cryptoxanthin and hesperidin. *J. Biomed. Biotechnol.*, **2012**:516981, 2012.
- 14) Tanaka, T. Development of an inflammation-associated colorectal cancer model and its application for research on carcinogenesis and chemoprevention. *Int. J. Inflammation*, **2012**:658786, 2012.
- 15) Tanaka, T., Shimizu, M., Moriwaki, H. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules*, **17**:3202-3242, 2012.
- 16) Kuno, T., Tsukamoto, T., Hara, A., Tanaka, T. Cancer chemoprevention through the induction of apoptosis by natural compounds. *J. Biophys. Chem.*, **3**:156-173, 2012.
- 17) Mann, P.C., Vahle, J., Keenan, C.M., Baker, J.F., Bradley, A.E., Goodman, D.G., Harada, T., Herbert, R., Kaufmann, W., Kellner, R., Nolte, T., Rittinghausen, S., Tanaka T. International harmonization of toxicologic pathology nomenclature: an overview and review of basic principles. *Toxicol. Pathol.*, **40**:7S-13S, 2012.
- 18) Tanaka, T. Animal models of carcinogenesis in inflamed colorectum: Potential use in chemoprevention study. *Curr. Drug Targets*, **13**:1689-1697, 2012.
- 19) Katsurano, M., Niwa, T., Yasui, Y., Shigematsu, Y., Yamashita, S., Takeshima, H., Lee, M.S., Kim, Y.J., Tanaka, T., Ushijima, T. Early-stage formation of an epigenetic field defect in a mouse colitis model, and non-essential roles of T- and B-cells in DNA methylation induction. *Oncogene*, **31**:342-351, 2012.
- 20) Hata, K., Kubota, M., Shmizu, M., Moriwaki, H., Kuno, T., Tanaka, T., Hara, A., Hirose, H. Monosodium glutamate-induced diabetic mice are susceptible to azoxymethane-induced colon tumorigenesis. *Carcinogenesis*, **33**:702-707, 2012.
- 21) Shimasaki, T., Ishigaki, Y., Nakamura, Y., Takata, T., Nakaya, N., Nakajima, H., Satoh, I., Zhao, X., Kitano, A., Kawakami, K., Tanaka, T., Takegami, T., Tomosugi,

- N., Minamoto, T., Motoo, Y. Glycogen synthase kinase 3beta inhibition sensitizes pancreatic cancer cells to Gemcitabine. *J. Gastroenterol.*, **47**:321-333, 2012.
- 22) Okada, H., Honda, M., Campbell, J.S., Sakai, Y., Yamashita, T., Takebuchi, Y., Hada, K., Shirasaki, T., Takabatake, R., Nakamura, M., Sunakozaka, H., Tanaka, T., Fausto, N., Kaneko, S. Acyclic retinoid targets platelet-derived growth factor signaling in the prevention of hepatic fibrosis and hepatocellular carcinoma development. *Cancer Res.*, **72**:4459-4471, 2012.
- 23) Tanaka, T. Preclinical cancer chemoprevention studies using animal model of inflammation-associated colorectal carcinogenesis. *Cancers*, **4**:673-700, 2012.
- 24) Nakajima, H., Koizumi, K., Tanaka, T., Ishigaki, Y., Yoshitake, Y., Yonekura, H., Sakuma, T., Fukushima, T., Umehara, H., Ueno, S., Minamoto, T., Motoo, Y. Loss of HITS (FAM107B) expression in cancers of multiple organs: tissue microarray analysis. *Int. J. Oncol.*, **41**:1347-1357, 2012.
- 25) Yoshimi, K., Hashimoto, T., Niwa, Y., Hata, K., Serikawa, T., Tanaka, T., Kuramoto, T. Use of a chemically induced-colon carcinogenesis-prone *Apc*-mutant rat in a chemotherapeutic bioassay. *BMC Cancer*, **12**:448, 2012.
- 26) Terakura, D., Shimizu, M., Iwasa, J., Baba, A., Kochi, T., Ohno, T., Kubota, M., Shirakami, Y., Shiraki, M., Takai, K., Tsurumi, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. Preventive effects of branched-chain amino acid supplementation on the spontaneous development of hepatic preneoplastic lesions in C57BL/KsJ-*db/db* obese mice. *Carcinogenesis*, **33**:2499-2506, 2012.
- 27) Kawabata, K., Tung, N.H., Shoyama, Y., Sugie, S., Mori, T., Tanaka, T. Dietary crocin inhibits colitis and colitis-associated colorectal carcinogenesis in male ICR mice. *Evid. Based Complement. Alternat. Med. (eCAM)*, **2012**:820415, 2012.
- 28) Sakamoto, H., Takenaka, M., Ushimaru, K., Tanaka, T. Use of liquid-based cytology (LBC) and cell blocks from cell remnants for cytologic, immunohistochemical, and immunocytochemical diagnosis of malignancy. *Open J. Pathol.*, **2**:58-65, 2012.
- 29) Tanaka, T. Introduction for inflammation and cancer. *Semin. Immunopathol.*, **35**:121-122, 2013.
- 30) Kuno, T., Hatano, Y., Tomita, H., Hara, A., Hirose, Y., Hirata, A., Mori, H., Terasaki, M., Masuda, S., Tanaka, T. Organo-magnesium suppresses inflammation-associated colon carcinogenesis in male Crj: CD-1 mice. *Carcinogenesis*, **34**:361-369, 2013.
- 31) Jiang, J., Cao, D., Tsukamoto, T., Wang, G., Jia, Z., Suo, J., Cao, X. Anticancer effects of 4-vinyl-2,6- dimethoxyphenol (canolol) against SGC-7901 human gastric carcinoma cells. *Oncol. Lett.*, **5**: 1562-1566, 2013.
- 32) Tsukamoto, T., Toyoda, T., Mizoshita, T., Tatematsu, M. Helicobacter pylori infection and gastric carcinogenesis in rodent models. *Semin. Immunopathol.*, **35**: 177-190, 2013.
- 33) Kimura, T., Okamoto, K., Miyamoto, H., Kimura, M., Kitamura, S., Takenaka, H., Muguruma, N., Okahisa, T., Aoyagi, E., Kajimoto, M., Tsuji, Y., Kogawa, T., Tsuji, A., Takayama, T. Clinical benefit of high-sensitivity KRAS mutation testing in metastatic colorectal cancer treated with anti-EGFR antibody therapy. *Oncology*, **82**:298-304, 2012.
- 34) Ikematsu, H., Saito, Y., Tanaka, S., Uraoka, T., Sano, Y., Horimatsu, T., Matsuda, T., Oka, S., Higashi, R., Ishikawa, H., Kaneko, K. The impact of narrow band imaging for colon polyp detection:a multicenter randomized controlled trial by tandem colonoscopy. *J. Gastroenterology*, **47**:1099-1107, 2012.

- 35) Yao, K., Iwashita, A., Nambu, M., Tanabe, H., Nagahama, T., Maki, S., Ishikawa, H., Matsui, T., Enjoji, M. Nature of white opaque substance in the gastric adenoma and cancer as visualized by magnifying endoscopy with narrow-band imaging. *Dig. Endosc.*, **24**:419-425, 2012.
- 36) Nemoto, H., Kataoka, K., Ishikawa, H., Ikata, K., Arimochi, H., Iwasaki, T., Ohnishi, Y., Kuwahara, T., Yasutomo, K. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis compared to healthy adult. *Dig. Dis. Sci.*, **57**:2955-2964, 2012.
- 37) Muroi, A., Kiyotani, K., Fujieda, M., Ishikawa, H., Takeshita, T., Iwano, S., Yamazaki, H., Kamataki, T. Effect of genetic polymorphism of CYP2A6 on individual susceptibility to colorectal tumors in Japanese smokers. *J. Cancer Therapy*, **3**:207-215, 2012.
- 38) Tanaka, T., Ishikawa, H. Mast cell and inflammation-associated colorectal carcinogenesis. *Semin. Immunopathol.*, **35**:245-254, 2012.
- 39) Ishikawa, H., Wakabayashi, K., Suzuki, S., Mutoh, M., Hirata, K., Nakamura, T., Takeyama, I., Kawano, A., Gondo, N., Abe, T., Tokudome, S., Goto, C., Matsuura, N., Sakai, T. Preventive effects of low-dose aspirin on colorectal adenoma growth in patients with familial adenomatous polyposis: double-blind, randomized clinical trial. *Cancer Med.*, in press.
- 40) Ishikawa, H., Goto, M., Matsuura, N., Murakami, Y., Goto, C., Sakai, T., Kanazawa, K. A pilot, randomized, placebo-controlled, double-blind phase 0/biomarker study on effect of artemisinin C-rich extract of Brazilian propolis in frequent colorectal adenoma polyp patients. *J. Am. Coll. Nutr.*, **31**: 327-337, 2012.
- 41) Nakajima, T., Saito, Y., Tanaka, S., Iishi, H., Kudo, S., Ikematsu, H., Igarashi, M., Saitoh, Y., Inoue, Y., Kobayashi, K., Hisashi, T., Tsuruta, O., Sano, Y., Yamano, H., Shimizu, S., Yahagi, N., Watanabe, T., Nakamura, H., Fujii, T., Matsuda, T., Ishikawa, H., Sugihara, K. Current status of endoscopic resection strategy for large, early colorectal neoplasia in Japan. *Surg. endos.*, in press.
- 42) Suzuki, S., Kojima, M., Tokudome, S., Mori, M., Sakauchi, F., Wakai, K., Fujino, Y., Lin, Y., Kikuchi, S., Tamakoshi, K., Tamakoshi, A. Obesity/weight gain and breast cancer risk: findings from the Japan collaborative cohort study for the evaluation of cancer risk. *J. Epidemiol.* **23**:139-145, 2013.
- 43) Sakane, N., Kotani, K., Takahashi, K., Sano, Y., Tsuzaki, K., Okazaki, K., Sato, J., Suzuki, S., Morita, S., Izumi, K., Kato, M., Ishizuka, N., Noda, M., Kuzuya, H. Japan Diabetes Outcome Intervention Trial-1 (J-DOIT1), a nationwide cluster randomized trial of type 2 diabetes prevention by telephone-delivered lifestyle support for high-risk subjects detected at health checkups: rationale, design, and recruitment. *BMC Public Health*, **13**:81, 2013.
- 44) Hishida, A., Wakai, K., Okada, R., Morita, E., Hamajima, N., Hosono, S., Higaki, Y., Turin, T.C., Suzuki, S., Motahareh, K., Mikami, H., Tashiro, N., Watanabe, I., Katsuura, S., Kubo, M., Tanaka, H., Naito, M. Significant interaction between RETN -420 G/G genotype and lower BMI on decreased risk of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Japanese—the J-MICC Study. *Endocr J.*, **60**:237-243, 2013.
- 45) Imai, T., Cho, Y.M., Takahashi, M., Kitahashi, T., Takami, S., Nishikawa, A., Ogawa, K. High susceptibility of heterozygous (+/fa) lean Zucker rats to 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis. *Oncol. Rep.*, **29**:1914-1922, 2013.
- 46) Cho, Y.M., Imai, T., Takami, S., Ogawa, K., Nishikawa, A. Female heterozygous (+/fa) Zucker rats as a novel leptin-related mammary carcinogenesis model. *J. Toxicol. Sci.*, **37**:1025-1034, 2012.

- 47) Hara, A., Sasazuki, S., Inoue, M., Iwasaki, M., Shimazu, T., Sawada, N., Yamaji, T., Takachi, R., Tsugane, S.; for the Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Zinc and heme iron intakes and risk of colorectal cancer: a population-based prospective cohort study in Japan. *Am. J. Clin. Nutr.*, **96**:864-873, 2012.
- 48) Ma, X., Beeghly-Fadiel, A., Lu, W., Shi, J., Xiang, Y.B., Cai, Q., Shen, H., Shen, C.Y., Ren, Z., Matsuo, K., Khoo, U.S., Iwasaki, M., Long, J., Zhang, B., Ji, B.T., Zheng, Y., Wang, W., Hu, Z., Liu, Y., Wu, P.E., Shieh, Y.L., Wang, S., Xie, X., Ito, H., Kasuga, Y., Chan, K.Y., Iwata, H., Tsugane, S., Gao, Y.T., Shu, X.O., Moses, H.L., Zheng, W. Pathway analyses identify TGFBR2 as potential breast cancer susceptibility gene: results from a consortium study among Asians. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **21**:1176-1184, 2012.
- 49) Michikawa, T., Inoue, M., Shimazu, T., Sawada, N., Iwasaki, M., Sasazuki, S., Yamaji, T., Tsugane, S. Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Seaweed consumption and the risk of thyroid cancer in women: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Eur. J. Cancer Prev.*, **21**:254-260, 2012.
- 50) Long, J., Cai, Q., Sung, H., Shi, J., Zhang, B., Choi, J.Y., Wen, W., Delahanty, R.J., Lu, W., Gao, Y.T., Shen, H., Park, S.K., Chen, K., Shen, C.Y., Ren, Z., Haiman, C.A., Matsuo, K., Kim, M.K., Khoo, U.S., Iwasaki, M., Zheng, Y., Xiang, Y.B., Gu, K., Rothman, N., Wang, W., Hu, Z., Liu, Y., Yoo, K.Y., Noh, D.Y., Han, B.G., Lee, M.H., Zheng, H., Zhang, L., Wu, P.E., Shieh, Y.L., Chan, S.Y., Wang, S., Xie, X., Kim, S.W., Henderson, B.E., Le, Marchand, L., Ito, H., Kasuga, Y., Ahn, S.H., Kang, H.S., Chan, K.Y., Iwata, H., Tsugane, S., Li, C., Shu, X.O., Kang, D.H., Zheng, W. Genome-wide association study in east Asians identifies novel susceptibility loci for breast cancer. *PLoS Genet.*, **8**:e1002532, 2012.
- 51) Sawada, N., Inoue, M., Iwasaki, M., Sasazuki, S., Shimazu, T., Yamaji, T., Takachi, R., Tanaka, Y., Mizokami, M., Tsugane, S. Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group. Consumption of n-3 fatty acids and fish reduces risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, **142**:1468-1475, 2012.
- 52) 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.*, **175**:236-244, 2012.
- 53) Hara, A., Sasazuki, S., Inoue, M., Iwasaki, M., Shimazu, T., Sawada, N., Yamaji, T., Tsugane, S. Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group. Isoflavone intake and risk of gastric cancer: a population-based prospective cohort study in Japan. *Am. J. Clin. Nutr.*, **95**:147-154, 2012.
- 54) Sasazuki, S., Inoue, M., Iwasaki, M., Sawada, N., Shimazu, T., Yamaji, T., Tsugane, S. JPHC Study Group. Combined impact of five lifestyle factors and subsequent risk of cancer: the Japan Public Health Center Study. *Prev. Med.*, **54**:112-116, 2012.
- 55) Kato, M., Wei, M., Yamano, S., Kakehashi, A., Tamada, S., Nakatani, T., Wanibuchi, H. DDX39 acts as a suppressor of invasion for bladder cancer. *Cancer Sci.*, **103**:1363-1369, 2012.
- 56) Wei, M., Kakehashi, A., Yamano, S., Tamano, S., Shirai, T., Wanibuchi, H., Fukushima, S. Lack of hepatocarcinogenicity of combinations of low doses of 2-amino-3, 8-dimethylimidazo[4, 5-f]quinoxaline and diethylnitrosamine in rats: Indication for the existence of a threshold for genotoxic

- carcinogens. *J. Toxicol. Pathol.*, **25**:209-214, 2012.
- 57) Xie, X.L., Wei, M., Yunoki, T., Kakehashi, A., Yamano, S., Kato, M., Wanibuchi, H. Long-term treatment with l-isoleucine or l-leucine in AIN-93G diet has promoting effects on rat bladder carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.*, **50**:3934-3940, 2012.
- 58) Xie, X.L., Wei, M., Kakehashi, A., Yamano, S., Okabe, K., Tajiri, M., Wanibuchi, H. Dammar resin, a non-mutagen, induces oxidative stress and metabolic enzymes in the liver of gpt delta transgenic mouse which is different from a mutagen, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline. *Mutat. Res.*, **748**:29-35, 2012.
- 59) Punvittayagul, C., Pompimon, W., Wanibuchi, H., Fukushima, S., Wongpoomchai, R. Effects of pinocembrin on the initiation and promotion stages of rat hepatocarcinogenesis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **13**:2257-2261, 2012.
- 60) Chung, K., Nishiyama, N., Wanibuchi, H., Yamano, S., Hanada, S., Wei, M., Suehiro, S., Kakehashi, A. AGR2 as a potential biomarker of human lung adenocarcinoma. *Osaka City Med. J.*, **58**:13-24, 2012.
- 61) Hoshi, H., Sawada, T., Uchida, M., Iijima, H., Kimura, K., Hirakawa, K., Wanibuchi, H. MUC5AC protects pancreatic cancer cells from TRAIL-induced death pathways. *Int. J. Oncol.*, **42**:887-893, 2013.
- 62) Toba, S., Tamura, Y., Kumamoto, K., Yamada, M., Takao, K., Hattori, S., Miyakawa, T., Kataoka, Y., Azuma, M., Hayasaka, K., Amamoto, M., Tominaga, K., Wynshaw-Boris, A., Wanibuchi, H., Oka, Y., Sato, M., Kato, M., Hirotsune, S. Post-natal treatment by a blood-brain-barrier permeable calpain inhibitor, SNJ1945 rescued defective function in lissencephaly. *Sci. Rep.*, **3**:1224, 2013.
- 63) Suzuki, Y., Imai, K., Takai, K., Hanai, T., Hayashi, H., Naiki, T., Nishigaki, Y., Tomita, E., Shimizu, M., Moriwaki, H. Hepatocellular carcinoma patients with increased oxidative stress levels are prone to recurrence after curative treatment: a prospective case series study using the d-ROM test. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, in press
- 64) Shimizu, M., Tanaka, T., Moriwaki, H. Obesity and hepatocellular carcinoma: targeting obesity-related inflammation for chemoprevention of liver carcinogenesis. *Semin. Immunopathol.*, **35**:191-202, 2013.
- 65) Shiraki, M., Nishiguchi, S., Saito, M., Fukuzawa, Y., Mizuta, T., Kaibori, M., Hanai, T., Nishimura, K., Shimizu, M., Tsurumi, H., Moriwaki, H. Nutritional status and quality of life in current patients with liver cirrhosis as assessed in 2007-2011. *Hepatol. Res.*, **43**:106-112, 2013.
- 66) Shimizu, M., Shirakami, Y., Sakai, H., Iwasa, J., Shiraki, M., Takai, K., Naiki, T., Moriwaki, H. Combination of acyclic retinoid with branched-chain amino acids inhibits xenograft growth of human hepatoma cells in nude mice. *Hepatol. Res.*, **42**:1241-1247, 2012.
- 67) Shimizu, M., Imai, K., Takai, K., Moriwaki, H. Role of acyclic retinoid in the chemoprevention of hepatocellular carcinoma: Basic aspects, clinical applications, and future prospects. *Curr. Cancer Drug Targets*, **12**:1119-1128, 2012.
- 68) Shimizu, M., Shirakami, Y., Imai, K., Takai, K., Moriwaki, H. Acyclic retinoid in chemoprevention of hepatocellular carcinoma: targeting phosphorylated retinoid X receptor- α for prevention of liver carcinogenesis. *J. Carcinog.*, **11**:11, 2012.
- 69) Shimizu, M., Kubota, M., Tanaka, T., Moriwaki, H. Nutraceutical approach for preventing obesity-related colorectal and liver carcinogenesis. *Int. J. Mol. Sci.*, **13**:579-595, 2012.
- 70) Shirakami, Y., Shimizu, M.,

- Moriwaki, H. Cancer chemoprevention with green tea catechins: from bench to bed. *Curr. Drug Targets*, **13**:1842-1857, 2012.
- 71) Ohno, T., Shirakami, Y., Shimizu, M., Kubota, M., Sakai, H., Yasuda, Y., Kochi, T., Tsurumi, H., Moriwaki, H. Synergistic growth inhibition of human hepatocellular carcinoma cells by acyclic retinoid and GW4064, a farnesoid X receptor ligand. *Cancer Lett.*, **323**:215-222, 2012.
- 72) Ogawa, K., Hara, T., Shimizu, M., Ninomiya, S., Nagano, J., Sakai, H., Hoshi, M., Ito, H., Tsurumi, H., Saito, K., Seishima, M., Tanaka, T., Moriwaki, H. Suppression of azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in rats by 1-methyltryptophan, an inhibitor of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Cancer Sci.*, **103**:951-958, 2012.
- 73) Kubota, M., Shimizu, M., Sakai, H., Yasuda, Y., Terakura, D., Baba, A., Ohno, T., Tsurumi, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. Preventive effects of curcumin on the development of azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in male C57BL/KsJ-*db/db* obese mice. *Nutr. Cancer*, **64**:72-79, 2012.
- 74) Fujiki, H., Imai, K., Nakachi, K., Shimizu, M., Moriwaki, H., Suganuma, M. Challenging the effectiveness of green tea in primary and tertiary cancer prevention. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **138**:1259-1270, 2012.
- 75) Kawaguchi, J., Adachi, S., Yasuda, I., Yamauchi, T., Nakashima, M., Ohno, T., Shimizu, M., Yoshioka, T., Itani, M., Kozawa, O., Moriwaki, H. Cisplatin and ultra-violet-C synergistically down-regulate receptor tyrosine kinases in human colorectal cancer cells. *Mol. Cancer*, **11**:45, 2012.
- 76) Naiki, T., Asamoto, M., Toyoda-Hokaiwado, N., Naiki-Ito, A., Tozawa, K., Kohri, K., Takahashi, S., Shirai, T. Organ-specific Gst-pi expression of the metastatic androgen independent prostate cancer cells in nude mice. *Prostate*, **72**:533-541, 2012.
- 77) Takahashi, S., Uemura, H., Seeni, A., Tang, M., Komiya, M., Long, N., Ishiguro, H., Kubota, Y., Shirai, T. Therapeutic targeting of angiotensin II receptor type 1 to regulate androgen receptor in prostate cancer. *Prostate*, **72**:1559-1572, 2012.
- 78) Long, N., Suzuki, S., Sato, S., Naiki-Ito, A., Sakatani, K., Shirai, T., Takahashi, S. Purple corn color inhibition of prostate carcinogenesis by targeting cell growth pathways. *Cancer Sci.*, **104**:298-303, 2013.
- 79) Kobayashi, D., Kawai, N., Sato, S., Naiki, T., Yamada, K., Yasui, T., Tozawa, K., Kobayashi, T., Takahashi, S., Kohri, K. Thermotherapy using magnetic cationic liposomes powerfully suppresses prostate cancer bone metastasis in a novel rat model. *Prostate*, in press.
- 80) Tang, D., Kryvenko, O.N., Wang, Y., Trudeau, S., Rundle, A., Takahashi, S., Shirai, T., Rybicki, B.A. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-DNA adducts in benign prostate and subsequent risk for prostate cancer. *Int. J. Cancer*, in press.
- 81) Nakamura, A., Togashi, Y., Orime, K., Sato, K., Shirakawa, J., Ohsugi, M., Kubota, N., Kadowaki, T., Terauchi, Y. Control of beta cell function and proliferation in mice stimulated by small-molecule glucokinase activator under various conditions. *Diabetologia*, **55**:1745-1754, 2012.
- 82) Shirakawa, J., Tanami, R., Togashi, Y., Tajima, K., Orime, K., Kubota, N., Kadowaki, T., Goshima, Y., Terauchi, Y. Effects of liraglutide on β -cell-specific glucokinase-deficient neonatal mice. *Endocrinology*, **153**:3066-3075, 2012.
- 83) Shibata, S., Tada, Y., Asano, Y., Hau, C.S., Kato, T., Saeki, H., Yamauchi, T., Kubota, N., Kadowaki, T., Sato, S. Adiponectin regulates cutaneous wound healing by promoting keratinocyte proliferation and migration via

- the ERK signaling pathway. *J. Immunol.*, **189**:3231-3241, 2012.
- 84) Nakamura, A., Tajima, K., Zolzaya, K., Sato, K., Inoue, R., Yoneda, M., Fujita, K., Nozaki, Y., Kubota, K.C., Haga, H., Kubota, N., Nagashima, Y., Nakajima, A., Maeda, S., Kadowaki, T., Terauchi, Y. Protection from non-alcoholic steatohepatitis and liver tumorigenesis in high fat-fed insulin receptor substrate-1-knockout mice despite insulin resistance. *Diabetologia*, **55**:3382-3391, 2012.
- 85) Shojima, N., Hara, K., Fujita, H., Horikoshi, M., Takahashi, N., Takamoto, I., Ohsugi, M., Aburatani, H., Noda, M., Kubota, N., Yamauchi, T., Ueki, K., Kadowaki, T. Depletion of homeodomain-interacting protein kinase 3 impairs insulin secretion and glucose tolerance in mice. *Diabetologia*, **55**:3318-3330, 2012.
- 86) Nakaya, K., Kubota, N.*, Takamoto, I., Kubota, T., Katsuyama, H., Sato, H., Tokuyama, K., Hashimoto, S., Goto, M., Jomori, T., Ueki, K., Kadowaki, T*. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor anagliptin ameliorates diabetes in mice with haploinsufficiency of glucokinase on a high-fat diet. *Metabolism*, in press, 2013 (*co- corresponding authors).
2. 学会発表
- 1) Yanaka, A., Hifumi, Y., Fujii, G., Takahashi, M., Yamamoto, M., Nakano, K., Shimura, M., Mutoh, M. Combination effects of angiotensin II receptor blocker and metformin on suppression of intestinal polyp formation in Min mice Digestive Disease Week, San Diego, CA (May, 2012)
- 2) 武藤倫弘。大腸発がんメカニズムにおける脂質代謝の寄与。第19回日本がん予防学会、岐阜 (2012年6月)
- 3) 志村美聖、山本真史、藤井 元、高橋真美、小宮雅美、中西るり、石ヶ守里加子、一二三佳恵、野間寛陽、谷中昭典、田沼靖一、武藤倫弘。SK1009におけるIL-6産生阻害メカニズムの検討。第19回日本がん予防学会、岐阜 (2012年6月)
- 4) 高須伸二、武藤倫弘、一二三佳恵、若林敬二、中釜斉。アンジオテンシンII受容体拮抗薬のMinマウス腸ポリープ生成抑制効果。第19回日本がん予防学会、岐阜 (2012年6月)
- 5) 一二三佳恵、藤井 元、高橋真美、山本真史、高須伸二、小宮雅美、中西るり、志村美聖、野間寛陽、谷中昭典、武藤倫弘。Metformin及びlosartan併用投与によるMinマウス腸ポリープ生成抑制。第19回日本がん予防学会、岐阜 (2012年6月)
- 6) 小宮雅美、藤井 元、高橋真美、中西るり、志村美聖、野間寛陽、武藤倫弘。AdiponectinとPai-1の相互作用機構の解明。第19回日本がん予防学会、岐阜 (2012年6月)
- 7) 高橋真美、石ヶ守里加子、中西るり、武藤倫弘、今井俊夫。膵臓特異的K-ras変異体発現マウスの膵臓発がん過程におけるオステオポンチンの作用。第19回日本がん予防学会、岐阜 (2012年6月)
- 8) 武藤倫弘。アディポサイトカインと大腸発がん。第44回日本動脈硬化学会、福岡 (2012年7月)
- 9) 堀美香、高橋真美、女屋博昭、平岡伸介、山路太樹、武藤倫弘、金井弥栄、中釜斉。脂肪膵の膵がんにおける意義及びCTを用いた評価方法の確立。第71回日本癌学会総会、札幌 (2012年9月)
- 10) 高橋真美、石ヶ守里加子、小宮雅美、武藤倫弘、今井俊夫。膵臓特異的K-ras変異体発現マウスと肥満モデルKK-A^yマウスとの交配による膵臓発がん促進。第71回日本癌学会総会、札幌 (2012年9月)
- 11) 石野孔祐、戸塚ゆ加里、武藤倫弘、中釜斉。ヒト白血球を用いた肥満関連DNA付加体の網羅的解析。第71回日本癌学会総会、札幌 (2012年9月)
- 12) 新井康仁、十時泰、高橋裕之、中村浩実、濱奈津子、河野隆志、薦幸治、吉田朗彦、武藤倫弘、細田文恵、津田均、柴田龍弘。肺腺癌からのROS1融合遺伝子の単離とマウスモデルの作成。第71回日本癌学会総会、札幌 (2012年9月)
- 13) 武藤倫弘。糖尿病関連がんにおける高トリグリセリド血症の役割。第71回日本癌学会総会、札幌 (2012年9月)
- 14) 藤井 元、山本真史、高橋真美、野間寛陽、志村美聖、武藤倫弘。Min

- マウス腸ポリープ生成抑制に対するロサルタン+メトホルミンの相乗的効果。第71回日本癌学会総会、札幌(2012年9月)
- 15) 志村美聖、山本真史、藤井元、小宮雅美、野間寛陽、高橋真美、谷中昭典、田沼靖一、武藤倫弘。SK-1009におけるIL-6産生阻害作用メカニズムの検討。第71回日本癌学会総会、札幌(2012年9月)
 - 16) 野間寛陽、武藤倫弘、藤井元、志村美聖、小宮雅美、高橋真美、田沼靖一。松かさリグナン配糖体の大腸がん細胞におけるCOX-2発現の抑制効果。第71回日本癌学会総会、札幌(2012年9月)
 - 17) 小宮雅美、藤井元、野間寛陽、志村美聖、高橋真美、武藤倫弘。肥満関連がんにおけるアディポネクチンとPai-1の相互作用の役割。第71回日本癌学会総会、札幌(2012年9月)
 - 18) 吉留弘子、藤本京子、櫻井瞳、波多江日成子、木本裕、小川浩一、藤井元、武藤倫弘、和田守正。Apc^{Min/+}マウスにおけるトウモロコシ繊維の腸ポリープ数減少効果。第29回日本薬学会九州支部大会、熊本(2012年12月)
 - 19) 藤本京子、櫻井瞳、波多江日成子、吉留弘子、木本裕、小川浩一、藤井元、武藤倫弘、和田守正。トウモロコシ繊維によるApc^{Min/+}マウスにおける腸ポリープ数の減少。第35回日本分子生物学会年会、福岡(2012年12月)
 - 20) Mutoh, M., Fujii, G., Komiya, M., Takahashi, M., Nakagama, H. Role of hyperlipidemia in intestinal carcinogenesis in association with lipoprotein receptor. Ninth AACR-Japanese Cancer Association Joint Conference, Maui, Hawaii (February, 2013)
 - 21) Takahashi, M., Hori, M., Hiraoka, N., Yamaji, T., Mutoh, M., Kanai, Y., Nakagama, H. Involvement of fatty infiltration in pancreatic cancer in humans and animals. Ninth AACR-Japanese Cancer Association Joint Conference, Maui, Hawaii (February, 2013)
 - 22) 吉見一人、田中卓二、芹川忠夫、庫本高志。Apc変異ラットにおけるDSS誘発大腸炎感受性機構の解明。第59回日本実験動物学会総会、別府(2012年5月)
 - 23) 竹中麻紀代、牛丸一樹、坂本寛文、田中卓二。液状処理細胞シンによる子宮内膜の細胞像について。第53回日本臨床細胞学会総会(春期大会)、幕張メッセ、千葉(2012年6月)
 - 24) 豊田武士、塚本徹哉、高須伸二、時亮、田中卓二、立松正衛、西川秋佳、小川久美子。ヘリコバクター・ピロリ感染齧歯類モデルにおけるHMG-CoA還元酵素阻害剤の化学予防効果の検討。第19回日本がん予防学会、岐阜(2012年6月)
 - 25) 川端邦裕、Nguen Huu Tung、久野壽也、原明、正山征洋、田中卓二。Crocinによる炎症関連大腸発がんモデルに対する修飾効果。第19回日本がん予防学会、岐阜(2012年6月)
 - 26) 杉江茂幸、田中卓二。炎症関連マウス大腸発がんにおけるバイカリンの修飾効果。第19回日本がん予防学会、岐阜(2012年6月)
 - 27) 三好規之、永沢友樹、田中卓二、若林敬二、大島寛史。肥満モデルマウスKK-Ayにおける山薬およびジオスゲニンの大腸発がん予防分子機構解析。第19回日本がん予防学会、岐阜(2012年6月)
 - 28) 久野壽也、田中卓二、廣瀬善信、平田暁大、原明。Fenofibrateの4-NQO誘発肥満、高脂血症マウス肺増殖性病変に及ぼす影響。第19回日本がん予防学会、岐阜(2012年6月)
 - 29) Tanaka, T., Epifano, F., Kochi, T., Genovese, S., Scauri, L., Shimizu, M., Moriwaki, H. 4'-Geranyloxyferulic acid-L-NAME inhibits inflammation-related colorectal carcinogenesis in mice. International Congress on Natural Products Research (ICNPR) 2012, New York City (July, 2012)
 - 30) Tanaka, T., Kawabata, K. A water-soluble carotenoid crocin suppresses AOM/DSS-induced colorectal carcinogenesis in mice. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sapporo (September, 2012)
 - 31) Tsuchida, T., Zheng, Y., Zhang, R.-R., Ishibashi, N., Tanaka, T., Taniguchi, H. The cyclic retinoid Peretinoin inhibits the development of precancerous cells to block hepatocellular carcinogenesis. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer

- Association, Sapporo (September, 2012)
- 32) Kochi, T., Shimizu, M., Terakura, D., Baba, A., Ohno, T., Kubota, M., Shirakkami, Y., Tanaka, T., Moriwaki, H. Development of a new nonalcoholic steatohepatitis-related liver tumorigenesis model using obese and hypertensive rats. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sapporo (September, 2012)
- 33) Shimizu, M., Hata, K., Kubota, M., Kuno, T., Hara, A., Hirose, Y., Tanaka, T., Moriwaki, H. Monosodium glutamate-induced diabetic mice are susceptible to azoxymethane-induced colon tumorigenesis. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sapporo (September, 2012)
- 34) Terakura, D., Shimizu, M., Moriwaki, H., Tanaka, T., Kubota, M., Kochi, T., Baba, A., Ohno, T., Ninomiya, S. Preventive effects of BCAA on the development of hepatic preneoplastic lesion in C57BL/KsJ-*db/db* obese mice. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sapporo (September, 2012)
- 35) Yoshimi, K., Tanaka, T., Kuramoto, T. Functional analysis of the extreme C-terminal Apc gene in DSS-induced colitis. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sapporo (September, 2012)
- 36) Sugie, S., Tanaka, T. Chemopreventive effect of baicalin in inflammation related colon carcinogenesis. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sapporo (September, 2012)
- 37) Kuno, T., Tanaka, T., Takamatsu, M., Hatano, Y., Tomita, H., Hirose, Y., Hirata, A., Hara, A. A PPAR α agonist, fenofibrate, suppresses 4-NQO-induced pulmonary proliferative lesions in obese and hyperlipidemic mice. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sapporo (September, 2012)
- 38) 寺倉大志、清水雅仁、馬場 厚、大野智彦、河内隆宏、久保田全哉、岩佐淳平、白上洋平、田中卓二、森脇久隆。分岐アミノ酸は肝および脂肪組織の炎症を改善し肥満関連肝腫瘍形成を抑制する。第20回日本消化器関連学会週間 (JDDW2012)、神戸 (2012年10月)
- 39) Nohmi, T., Toyoda-Hokaiwado, N., Yasui, Y., Takamune, M., Yamada, M., Muramatsu, M., Masumura, K., Ohta, T., Tanaka, T. Modulatory effects of capsaicin on *N*-Diethylnitrosamine-induced mutagenesis and hepatocarcinogenesis in GPT delta rats. 3rd Asian Conference on Environmental Mutagens (3rd ACEM) and 15th Conference of Chinese Environmental Mutagen Society, Hangzhou, China (October, 2012)
- 40) 森 栄、山口吉夫、田中卓二、丹羽憲司。術中捺印細胞診が有用であったアンドロゲン産生性顆粒膜細胞腫 (GCT) の1例。第51回日本臨床細胞学会秋期大会、新潟 (2012年11月)
- 41) 杉江茂幸、安藤ちあき、坂本寛文、波多野裕一郎、中嶋早苗、久米 真、田中卓二。吸引穿刺細胞診にて診断しえた膵臓の solid-pseudopapillary tumor の一例。第51回日本臨床細胞学会秋期大会、新潟 (2012年11月)
- 42) Yasui, Y., Tanaka, T. Marine carotenoids, astaxanthin and fucoxanthin, inhibit colitis and colitis-associated colorectal carcinogenesis in mice. 2012 Annual Conference & Exhibition, Functional Foods, Nutraceuticals, Natural Health Products and Dietary Supplements, Hawaii (December, 2012)
- 43) 塚本徹哉、田中卓二。コーヒーおよびその成分を用いた DSS 誘発大腸炎に対する抑制効果の検討。第19回がん予防学会 in 岐阜、岐阜 (2012年6月)
- 44) Tsukamoto, T., Tanaka, T. Preventive effect of coffee on dextran sulfate sodium induced colitis, The 71st Annual meeting of the Japanese cancer association, Sapporo (September, 2012)
- 45) Tsuda, M., Okamoto, K., Fujino, Y., Takaoka, T., Kitamura, S., Sannomiya, K., Aoyagi, E.,