

14.7%)、QF (同 14.4%) の各栄養組成に基づく摂取総熱量に応じた変化と考

Table 1 Body weights (g) -Preliminary study

Day	0	7	14
1) Control	80.1±4.3	98.5±3.1	120.0±4.2
2) BCAA	80.2±2.3	97.7±2.5	118.9±4.7
3) Corn oil	80.0±2.7	96.6±4.0	117.4±4.4
4) Corn +BCAA	79.8±2.8	97.2±2.6	119.1±5.7
5) QF	80.1±3.2	98.2±4.2	120.2±5.5
6) QF +BCAA	80.0±3.7	97.4±3.8	118.5±6.0

えられた。臓器/組織重量に関しては、肝臓及び乳腺組織 (fat pad) 重量に群間の明らかな差は認められなかった。一方、腹腔内 (子宮周囲) 脂肪については 1) 基礎食群 (対照) に比し 5) QF 群では増加し、6) QF+BCAA 群では弱いながら改善作用がみられた (Figure 1a)。

・血清生化学 (Figure 1b~1f)

対照群に対する 3) コーン油食及び 5) QF 群に共通した変化として、レプチン濃度の上昇あるいは上昇傾向とアディポネクチン濃度の低下が認められた。それらに対する BCAA の明らかな抑制作用はみられなかった。また、3) コーン油食群では総コレステロール及び HDL コレステロールの低下が、5) QF 群ではトリグリセリドの増加がみられたが、これらに対して BCAA は弱いながら改善作用を示した。エストラジオール、インシュリン及び IGF-I については群間の明らかな差は認められなかった。

・乳腺組織の形態変化/細胞動態解析

パラフィン包埋切片を用いた病理組

織学的検索、Ki-67 免疫染色による陽性細胞を指標とした細胞増殖、及び whole mount 標本を用いた terminal end bud の数を計測結果において、群間の明らかな差はみられなかった。

[高脂肪食及び BCAA を幼若期に 5 週間与えた際の DMBA 誘発 F344 ラットの乳腺発がんおよび影響]

・体重及び摂餌量

各群の初期及び最終体重を表 2 に示した。各群間の明らかな差はみられな

Table 2 Body weights (g) -Carcinogenicity study

	Initial	Terminal
1) Control	78.3±5.2	198.4±8.8
3) Corn oil	78.1±4.7	201.3±9.7
4) Corn +BCAA	78.1±4.5	194.5±7.0
5) QF	78.1±4.4	196.6±10.5
6) QF +BCAA	78.0±4.4	190.5±9.1

った。摂餌量は、5 週齢~9 週齢時の高脂肪食あるいは BCAA を与えた期間中において、予備実験の結果と同様に 1) 基礎食群 (対照) に比し高脂肪食を与えた 2)~6) では減少傾向を示した。その後は各群間の明らかな差はみられなかった。

・触診による乳がんの発生状況

発生時期については、5) QF 群では DMBA 投与 4 週後に乳がんが初発し、1) 基礎食群 (対照) の 8 週に比し早期化する傾向がみられた。発生頻度及び発生数は 1) 群に比し 2) コーン油、4) QF 群では増加あるいは増加傾向を示し、3) コーン油+BCAA 群では実験後期に、5) QF+BCAA

群では実験前期に各々2)及び4)群に比し減少する傾向がみられた (Figure 2)。

#### ・乳がんの病理組織学的解析

乳がんの発生頻度については、1)基礎食群 (対照) に比し、2)コーン油、4)QF群では増加あるいは増加傾向を示し、3)コーン油+BCAA 及び 5)QF+BCAA 群では各々2)及び4)群に比し減少あるいは減少傾向を示した。発生数については、1)群に比し2)、4)群では増加傾向を示し、3)及び5)群では各々2)及び4)群に比し減少あるいは減少傾向を示した。体積については、1)群に比し QF を与えた 4)、5)群では顕著な増加を、コーン油を与えた 2)、3)群でも平均値で7倍程度の増加傾向を示したが、BCAA 投与による明らかな影響はみられなかった (Table 3)。

腺がんの形質を異型性あるいは分化度により分類したところ、基礎食群に発生した腺がんは何れも低異型、高分化型であったが、2)~5)群では各々8、30、27、38%の割合で高異型、中・低分化型腺がんが含まれていた。高分化型腺がんについては2)コーン油及び4)QF群における発生頻度及び発生数に比し、3)コーン油+BCAA 及び 5)QF+BCAA 群では減少あるいは減少傾向を示した。体積についても2)群に比し3)群では減少傾向を示したが、4)群と5)群間で差はみられなかった。一方、中・低分化腺がんについては2)、4)群における発生頻度、数及び体積に対し、3)、5)群における変化は

認められなかった (Table 4)。

#### ・乳がんの免疫組織化学的解析

各群の乳がん組織に対し、レプチン受容体に対する免疫染色 (一次抗体: 抗マウスレプチン受容体、ヤギポリクローナル、Neuromics) を行った結果、染色状況に群間の明らかな違いは認められなかった。一方、エストロゲン受容体 $\alpha$  (一次抗体: 抗ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ 、クローン 6F11、Novocastra) についても群間の明らかな違いはみられなかったが、高分化腺がんに比し、中・低分化腺がんにおける陽性率が低下する傾向がみられた ( $p=0.051$ )。

#### ・乳がん組織における発現遺伝子の網羅的解析及び発現タンパク質の解析

乳がん組織における発現遺伝子の網羅的解析にて[A] 1)基礎食群 (対照) 及び4)QF群の高分化腺がん各1個、[B] 4)群の高分化腺がん及び低分化腺がん各1個における発現遺伝子を比較し、[A]にて高脂肪食による腫瘍体積への影響が、[B]にて形質変化に関与することが示唆され、5倍以上の発現差を認めるキナーゼを各1個選抜した。1)、2)及び4)群から採取した各4、5及び7個の乳がん組織を用いてRT-PCRにてキナーゼAの発現を比較した結果、正常乳腺に比し1)群の乳がんにて発現増加し、2)及び4)群では更に増加する傾向を示した (Figure 3a)。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 (Figure 3b)、タンパク量は中・低分化腺がんでは特異的に増加した (Figure 3c)。

#### D. 考察

高脂肪食及びBCAAを2週間与えた際のF344雌ラットの血清生化学値と乳腺組織に及ぼす影響を明らかにする目的で実施した予備実験では、コーン油あるいは牛脂を添加した高脂肪食の体重に対する明らかな影響はみられなかった。その原因として、高脂肪食群では摂餌量が減少し、摂取総熱量に群間の差が生じなかったことによるものと考えられた。一方、牛脂食を与えたQF群では、対照に比し腹腔内脂肪が増加し、血清トリグリセリドが上昇した。牛脂に比較的高濃度で含まれる飽和脂肪酸による影響が示唆されたが、これらの変化に対してBCAAは弱いながら改善作用を示した。また、コーン油群とQF群に共通してみられた血清生化学的変化としてレプチン値の上昇あるいは上昇傾向とアディポネクチン値の低下が認められたが、ヒトが高カロリー/高脂肪食を摂取した際の血清パラメーターの変動 (Brons C et al., 2009) を模倣するモデルとして応用可能であることが示された。また、今回の実験において高脂肪食による血清レプチン及びアディポネクチンの変化に対してBCAAの明らかな効果はみられなかった。

F344雌ラットの5週齢～9週齢時に高脂肪食を与えた際のDMBA誘発乳腺発がんに及ぼす影響として、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。Lo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ことを報告しているが (Lo CY et al., 2009)、今回得られた結果と矛盾しないものと考えられる。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については明らかにされていない。そこで、今回の実験においてA)基礎食群に比し顕著な体積の増加を示したQF群の高分化腺がんにおける発現遺伝子プロファイル、及びB)高脂肪食群でみられた中・低分化腺がんにおける発現遺伝子プロファイルを明らかにするため、全遺伝子型DNAチップを用いた解析を行った。我々のこれまでの研究により、Zucker(+/*fa*)ラットは幼若期に高レプチン血症を呈し、野生型ラットに比しDMBA乳腺発がんに対して高感受性を示すこと、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てきている (Imai T et al., 2013)。また、今回の予備実験においても高脂肪食により高レプチン血症/低アディポネクチン血症が誘発されることを明らかにした。そこでDNAチップを用いた解析では、レプチン/アディポネクチンシグナル伝達系に

対する影響が乳腺発がんには何らかの影響を与えたと仮説を立て、JAK-STAT (Hu X et al., 2002) あるいは TGF- $\beta$ -Smad シグナル伝達系 (Feng F et al., 2012) に関連するキナーゼで、かつ高脂肪食群あるいは低分化の腺がんでは 5 倍以上の発現上昇がみられたものに注目することでキナーゼ A とキナーゼ B を選抜した。キナーゼ A は Smad2/3 をリン酸化し、また染色体不安定性に関連するタンパク質で、ヒト乳がん細胞株での発現上昇が報告されている。DNA チップ解析に用いた症例以外の基礎食群、コーン油群及び QF 群の腺がんにおけるキナーゼ A 遺伝子の発現解析 (RT-PCR) を行った結果、基礎食群の腺がんでは正常乳腺組織に比し発現増加し、コーン油群及び QF 群の腺がんでは更に増加する傾向を示したことから、幼若期の低アディポネクチン血症の影響により、キナーゼ A 遺伝子のプロモーター領域での低メチル化など遺伝子発現レベルでの変化が誘発された可能性があるかと推察された。また、キナーゼ B は STAT3 の標的で細胞周期チェックポイント関連タンパク質であり、ヒト乳がん細胞株での発現上昇が報告されている。キナーゼ B についてもキナーゼ A と他症例で発現解析 (RT-PCR) を行った結果、群間の明らかな違いはみられなかった。一方、ウエスタンブロッティングにて中・低分化腺がんでは特異的にキナーゼ B タンパク質の増加がみられたことから、幼若期の高レプチン血症の

影響により、当該タンパク質の安定化機構などに対する変化が生じた可能性があるかと推察された。

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 QF 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。上述のように、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示唆されていることから、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 (Hagiwara A et al., 2011) などとの関連性を見極めながら研究を進める予定である。

## E. 結論

DMBA 誘発ラット乳腺発がんモデルの幼若期に高脂肪食を与えることにより、発がん促進作用を示し、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の探索を試みた結果、2つのキナーゼの遺伝子発現レベルあるいはタンパク質レベルでの増加との関連性を示唆する結果を得た。今後、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とともに、BCAA の発がん抑制作用の機序について詳細な検討を進める。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 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)
- 2) 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)

### 2. 学会発表

- 1) 今井俊夫、打屋尚章、高橋真美：F344 ラットにおける DMBA 誘発乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食の影響と BCAA による抑制効果。第 19 回日本がん予防学会、岐阜（2012 年 6 月）
- 2) 今井俊夫、五十嵐美徳、高橋真美：ラット乳腺化学発がんモデルのイニシエーション期における高脂肪食の影響。第 27 回発癌病理研究会、伊豆（2012 年 8 月）
- 4) 今井俊夫、高橋真美：F344 ラットに

おける DMBA 誘発乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食及び BCAA の影響。第 71 回日本癌学会学術総会、札幌（2012 年 9 月）

- 5) 今井俊夫、打屋尚章、高橋真美：DMBA 誘発ラット乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食の影響。第 29 回日本毒性病理学会、つくば（2013 年 1 月）

## G. 知的所有権の取得状況

該当なし。

「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、分岐鎖アミノ酸が大腸発がんに関与するメカニズムの理解のために、血中分岐鎖アミノ酸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、血漿中分岐鎖アミノ酸濃度はBMI、レプチン、Cペプチド、IGFBP-3との間に正の関連が見られ、アディポネクチンとIGFBP-1の間には負の関連が観察された。またTNF-alpha、IL-6、IGF-1について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した結果、血漿中バリリン濃度とCペプチドとの間に有意な正の関連、また男性において、血漿中分岐鎖アミノ酸濃度とアディポネクチンとの間に有意な負の関連が見られた。これらの結果は、血漿中分岐鎖アミノ酸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唆するものである。

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。

肥満は大腸がんの確実なリスク要因の一つである。肥満によりリスク上昇が見られるメカニズムにインスリン抵抗性があるが、分岐鎖アミノ酸にはこれを改善する作用が示唆されており、分岐鎖アミ

ノ酸製剤投与によるがん予防の可能性が指摘されている。一方で、逆に分岐鎖アミノ酸によりインスリン抵抗性を促進する可能性を示したデータもあり、これまでのエビデンスは一致していないのが現状である。

そこで今年度は、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、分岐鎖アミノ酸が大腸発がんに関与するメカニズムの理解のために、血中分岐鎖アミノ酸濃度と肥満関連バイオマーカーとの関連を検討することを目的に解析を行った。

## B. 研究方法

### 1. 対象者

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では、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。

### 2. 調査方法

#### 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。

#### 2-2. 調査説明会

調査開始の前日にごん予防・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、住友ベークライト）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。

### 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。

### 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。

### 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度デュ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)。

肥満関連バイオマーカーとして、アディポネクチン、レプチン、tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)、interleukin-6 (IL-6)、Cペプチド、insulin-like growth factor-1 (IGF-1)、insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1)、insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3)について免疫測定法により分析を行った。

### 3. 解析方法

4日間の秤量法食事記録調査データがない者(1人)、食物摂取頻度調査票から計算したエネルギー摂取量の値が極端な者(800kcal未満または4000kcal以上)(4人)、糖尿病の既往がある者(2人)を除いた137人を解析対象とした。

肥満関連バイオマーカーのうち、分析値が検出下限値以下の場合には、検出下限値の1/2の値とした。すべて自然対数による対数変換後の値を解析に用いた。

また四分位範囲の3倍を超える値は外れ値として解析から除外した。

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。多変量回帰分析により、性、年齢、空腹時間、body mass index (BMI)、喫煙、飲酒、身体活動で調整した値を算出した。さらに個別の肥満関連バイオマーカーも調整に加えた解析も行った。

#### (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、国立がんセンター研究倫理審査委員会の承認を得ている。なお、各研究集団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

表1にBMIおよび肥満関連バイオマーカーのカテゴリごとの幾何平均値と回帰係数を示した。

#### 1. BMIとの関連

血漿中バリン、イソロイシン、ロイシンの濃度が高くなるに従い、BMIの値も高くなる傾向が見られ、いずれも有意な正の関連が見られた。しかしCペプチドでさらに調整すると関連は弱くなり、有意な結果ではなくなった。

#### 2. アディポネクチンとの関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシンの濃度が高くなるに従い、アディポネクチン値が低くなる傾向が見られ、いずれも有意な負の関連が見られた。この関連は特に男性で顕著であり、女性では有意な負の関連は見られなかった。また肥満関連バイオマーカーでさらに調整しても、男性において有意な負の関連が観察された。

### 3. レプチンとの関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシンの濃度が高くなるに従い、レプチン値も高くなる傾向が見られた。バリリンとの関連は有意であったが、イソロイシンおよびロイシンとの関連は有意な結果ではなかった。さらに C ペプチドで調整すると関連は弱くなり、いずれも有意な結果ではなくなった。

### 4. TNF-alpha との関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシン濃度との間に有意な関連は観察されなかった。

### 5. IL-6 との関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシン濃度との間に有意な関連は観察されなかった。

### 6. C ペプチドとの関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシンの濃度が高くなるに従い、C ペプチド値も高くなる傾向が見られ、いずれも有意な正の関連が見られた。バリリンは、さらに肥満関連マーカーで調整しても有意な正の関連が観察された。イソロイシンは、アディポカンまたは IGF-1 と

IGFBP-3 の 2 つのバイオマーカーで調整しても有意な結果であったが、IGFBP-1 またはアディポカイン、レプチン、IGF-1、IGFBP-1、IGFBP-3 を同時にモデルに投入して調整した場合は有意な結果ではなくなった。ロイシンは、IGF-1 と IGFBP-3 または IGFBP-1 で調整しても有意な結果であったが、アディポネクチンとレプチン、またはアディポカイン、レプチン、IGF-1、IGFBP-1、IGFBP-3 を同時にモデルに投入して調整した場合は有意な結果ではなくなった。

### 7. IGF-1 との関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシンの濃度が間に有意な関連は観察されなかった。

### 8. IGFBP-1 との関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシンの濃度が高くなるに従い、IGFBP-1 値が低くなる傾向が見られ、いずれも有意な負の関連が見られた。しかし C ペプチドでさらに調整すると関連は弱くなり、有意な結果ではなくなった。

### 9. IGFBP-3 との関連

血漿中バリリン、イソロイシン、ロイシンの濃度が高くなるに従い、IGFBP-3 値も高くなる傾向が見られた。バリリンおよびロイシンとの関連は有意であったが、イソロイシンとの関連は有意な結果ではなかった。さらに C ペプチドで調整すると関連は弱くなり、いずれも有意な結果ではなくなった。

## D. 考察

血漿中分岐鎖アミノ酸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、血漿中分岐鎖アミノ酸濃度はBMI、レプチン、Cペプチド、IGFBP-3との間に正の関連が見られ、アディポネクチンとIGFBP-1の間には負の関連が観察された。またTNF- $\alpha$ 、IL-6、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、血漿中バリリン濃度とCペプチドとの間に有意な正の関連、また男性において、血漿中分岐鎖アミノ酸濃度とアディポネクチンとの間に有意な負の関連が見られた。

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。これは、分岐鎖アミノ酸が骨格筋のインスリン抵抗性を増加させる、というメカニズムを支持する結果であり、また高インスリン状態では、分岐鎖アミノ酸の代謝が低下することで血中レベルが増加するというメカニズムにも合致する結果である。

またアディポネクチンもBMIや他の肥満関連バイオマーカーとは独立して血漿中分岐鎖アミノ酸濃度に関連することが示唆された。この関連は男性のみで観察されたが、分岐鎖アミノ酸はインスリン抵抗性に関連したメカニズムに関与するだけではない可能性を示唆するものとして興味深い。現在のところ、血漿中分岐鎖アミノ酸とアディポネクチン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。

本研究の結果を解釈する上で考慮すべき点は以下の3つである。まず1つ目は、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、分岐鎖アミノ酸濃度が高いからCペプチド濃度が高くなったのか、逆にCペプチド濃度が高いから分岐鎖アミノ酸濃度が高くなったのかは不明である。2つ目は、今回の分析対象である分岐鎖アミノ酸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は否定できない。3つ目は、多くのバイオマーカーは検出下限値を超える値を示していたが、TNF- $\alpha$ とIL-6については約半数の対象者のみからしか検出できなかった。このような対象者については、検出下限値の1/2を与えて解析を行っているため、結果の解釈には注意が必要である。

## E. 結論

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、血漿中分岐鎖アミノ酸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、血漿中分岐鎖アミノ酸濃度はBMI、レプチン、

C ペプチド、IGFBP-3 との間に正の関連が見られ、アディポネクチンとIGFBP-1 との間には負の関連が観察された。また TNF- $\alpha$ 、IL-6、IGF-1 について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、血漿中バリン濃度と C ペプチドとの間に有意な正の関連、また男性において、血漿中分岐鎖アミノ酸濃度とアディポネクチンとの間に有意な負の関連が見られた。これらの結果は、血漿中分岐鎖アミノ酸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唆するものである。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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.* 2012;96:864-873.
2. Ma X, Beeghly-Fadiel A, Lu W, Shi J, Xiang YB, Cai Q, Shen H, Shen CY, Ren Z, Matsuo K, Khoo US, Iwasaki M, Long J, Zhang B, Ji BT, Zheng Y, Wang W, Hu Z, Liu Y, Wu PE, Shieh YL, Wang S, Xie X, Ito H, Kasuga Y,

Chan KY, Iwata H, Tsugane S, Gao YT, Shu XO, Moses HL, Zheng W. Pathway analyses identify TGFBR2 as potential breast cancer susceptibility gene: results from a consortium study among Asians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21:1176-84.

3. 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.* 2012;21:254-60.
4. 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.
5. 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*. 2012;142:1468-75.
  6. 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.
  7. 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*. 2012;95:147-54.
  8. 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*. 2012;54:112-6.
2. 学会発表
    1. 山地太樹、岩崎基、笹月静、津金昌一郎. 血中のインスリン関連マーカーと大腸腺腫との関連にみられた性差. 第71回日本癌学会学術総会、北海道札幌市. 2012年9月
    2. 原 梓、笹月静、井上真奈美、岩崎基、島津太一、澤田典絵、山地太樹、津金昌一郎. イソフラボン摂取と胃がんリスクとの関連:多目的コホート研究より. 第23回日本疫学会学術総会、大阪府吹田市. 2013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

Table 1. Adjusted geometric mean (GM) and 95% confidence interval (CI) of body mass index and plasma obesity-related biomarkers according to plasma branched-chain amino acids.

	Geometric mean*	95% confidence interval	beta	95% confidence interval	p value
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )					
Plasma valine level					
Lowest	21.37	(20.35- 22.40)			
Second	22.59	(21.65- 23.54)			
Third	23.53	(22.63- 24.44)			
Highest	23.17	(22.23- 24.10)			
Trend*			0.62	( 0.20 , 1.05 )	<0.01
Trend†			0.28	( -0.20 , 0.75 )	0.26
Plasma isoleucine level					
Lowest	21.55	(20.37- 22.72)			
Second	22.22	(21.33- 23.11)			
Third	23.44	(22.51- 24.38)			
Highest	23.11	(22.21- 24.02)			
Trend*			0.59	( 0.14 , 1.03 )	0.01
Trend†			0.32	( -0.13 , 0.78 )	0.16
Plasma leucine level					
Lowest	21.72	(20.62- 22.82)			
Second	22.79	(21.86- 23.72)			
Third	22.75	(21.79- 23.70)			
Highest	23.38	(22.41- 24.34)			
Trend*			0.48	( 0.05 , 0.91 )	0.03
Trend†			0.24	( -0.20 , 0.69 )	0.28
Adiponectin (ug/mL)					
Plasma valine level					
Lowest	7.99	(6.09- 10.50)			
Second	6.29	(4.90- 8.07)			
Third	6.57	(5.14- 8.40)			
Highest	4.61	(3.59- 5.93)			
Trend*			-0.16	( -0.28 , -0.05 )	0.01
Trend†			-0.13	( -0.25 , -0.01 )	0.04
Plasma isoleucine level					
Lowest	8.54	(6.27- 11.65)			
Second	6.78	(5.37- 8.56)			
Third	6.25	(4.86- 8.02)			
Highest	4.99	(3.92- 6.34)			
Trend*			-0.17	( -0.29 , -0.05 )	0.01
Trend†			-0.14	( -0.25 , -0.02 )	0.02
Plasma leucine level					
Lowest	8.60	(6.47- 11.42)			
Second	5.90	(4.64- 7.50)			
Third	6.16	(4.81- 7.87)			
Highest	5.12	(3.97- 6.61)			
Trend*			-0.14	( -0.26 , -0.03 )	0.01
Trend†			-0.13	( -0.25 , -0.02 )	0.02

	Geometric mean*	95% confidence interval	beta	95% confidence interval	p value
<b>Leptin (ng/mL)</b>					
Plasma valine level					
Lowest	3.48	(2.75- 4.40)			
Second	3.65	(2.95- 4.52)			
Third	4.01	(3.25- 4.95)			
Highest	5.04	(4.06- 6.25)			
Trend*			0.12	( 0.03 , 0.22 )	0.01
Trend†			0.08	( -0.03 , 0.18 )	0.17
Plasma isoleucine level					
Lowest	3.29	(2.53- 4.29)			
Second	4.03	(3.30- 4.92)			
Third	3.56	(2.88- 4.41)			
Highest	4.74	(3.86- 5.82)			
Trend*			0.10	( -0.01 , 0.20 )	0.07
Trend†			0.06	( -0.04 , 0.16 )	0.26
Plasma leucine level					
Lowest	3.28	(2.57- 4.17)			
Second	4.41	(3.60- 5.42)			
Third	3.68	(2.98- 4.54)			
Highest	4.69	(3.77- 5.83)			
Trend*			0.08	( -0.01 , 0.18 )	0.09
Trend†			0.05	( -0.05 , 0.15 )	0.31
<b>Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) (pg/mL)</b>					
Plasma valine level					
Lowest	2.68	(1.39- 5.17)			
Second	1.30	(0.73- 2.29)			
Third	1.58	(1.00- 2.51)			
Highest	1.28	(0.77- 2.12)			
Trend*			-0.20	( -0.46 , 0.06 )	0.13
Trend†			-0.10	( -0.39 , 0.20 )	0.51
Plasma isoleucine level					
Lowest	1.37	(0.71- 2.66)			
Second	1.59	(0.86- 2.94)			
Third	1.90	(1.15- 3.15)			
Highest	1.32	(0.84- 2.08)			
Trend*			0.005	( -0.24 , 0.25 )	0.97
Trend†			0.08	( -0.17 , 0.33 )	0.52
Plasma leucine level					
Lowest	2.14	(1.11- 4.12)			
Second	1.56	(0.85- 2.87)			
Third	1.55	(0.95- 2.52)			
Highest	1.28	(0.76- 2.14)			
Trend*			-0.16	( -0.40 , 0.09 )	0.20
Trend†			-0.12	( -0.37 , 0.14 )	0.36

	Geometric mean*	95% confidence interval	beta	95% confidence interval	p value
Interleukin-6 (IL-6) (pg/mL)					
Plasma valine level					
Lowest	1.36	(0.73- 2.54)			
Second	1.55	(0.96- 2.51)			
Third	1.56	(1.01- 2.42)			
Highest	1.38	(0.89- 2.14)			
Trend*			-0.01	( -0.25 , 0.22 )	0.90
Trend†			0.01	( -0.26 , 0.28 )	0.94
Plasma isoleucine level					
Lowest	1.03	(0.57- 1.88)			
Second	1.77	(1.17- 2.70)			
Third	2.20	(1.46- 3.32)			
Highest	1.14	(0.78- 1.67)			
Trend*			-0.001	( -0.24 , 0.24 )	0.99
Trend†			0.01	( -0.24 , 0.26 )	0.92
Plasma leucine level					
Lowest	1.26	(0.68- 2.31)			
Second	1.83	(1.10- 3.05)			
Third	1.49	(0.96- 2.32)			
Highest	1.31	(0.78- 2.18)			
Trend*			-0.02	( -0.28 , 0.25 )	0.89
Trend†			-0.02	( -0.29 , 0.25 )	0.87
C-peptide (ng/mL)					
Plasma valine level					
Lowest	1.26	(1.09- 1.46)			
Second	1.36	(1.19- 1.55)			
Third	1.52	(1.34- 1.73)			
Highest	2.03	(1.78- 2.32)			
Trend*			0.16	( 0.10 , 0.22 )	<0.01
Plasma isoleucine level					
Lowest	1.37	(1.15- 1.63)			
Second	1.36	(1.19- 1.56)			
Third	1.48	(1.29- 1.71)			
Highest	1.85	(1.62- 2.11)			
Trend*			0.10	( 0.04 , 0.17 )	<0.01
Plasma leucine level					
Lowest	1.44	(1.22- 1.69)			
Second	1.34	(1.17- 1.54)			
Third	1.58	(1.37- 1.81)			
Highest	1.81	(1.57- 2.09)			
Trend*			0.09	( 0.03 , 0.16 )	0.01



	Geometric mean*	95% confidence interval	beta	95% confidence interval	p value
<b>Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) (ng/mL)</b>					
Plasma valine level					
Lowest	142.07	(125.47- 160.87)			
Second	149.46	(133.42- 167.43)			
Third	149.19	(133.42- 166.82)			
Highest	153.98	(137.36- 172.61)			
Trend*			0.02	( -0.03 , 0.08 )	0.37
Trend†			0.003	( -0.05 , 0.06 )	0.92
Plasma isoleucine level					
Lowest	144.74	(125.81- 166.51)			
Second	145.62	(131.06- 161.80)			
Third	145.81	(130.23- 163.24)			
Highest	156.03	(139.97- 173.94)			
Trend*			0.02	( -0.03 , 0.08 )	0.38
Trend†			0.01	( -0.04 , 0.07 )	0.70
Plasma leucine level					
Lowest	138.78	(122.08- 157.77)			
Second	147.50	(132.33- 164.41)			
Third	150.73	(134.88- 168.44)			
Highest	156.19	(139.20- 175.26)			
Trend*			0.04	( -0.01 , 0.09 )	0.15
Trend†			0.03	( -0.03 , 0.08 )	0.31
<b>Insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) (ng/mL)</b>					
Plasma valine level					
Lowest	7.66	(5.30- 11.08)			
Second	5.71	(4.06- 8.03)			
Third	4.41	(3.17- 6.13)			
Highest	2.68	(1.90- 3.78)			
Trend*			-0.34	( -0.50 , -0.19 )	<0.01
Trend†			-0.11	( -0.25 , 0.03 )	0.12
Plasma isoleucine level					
Lowest	5.93	(3.89- 9.05)			
Second	5.55	(4.01- 7.68)			
Third	6.28	(4.44- 8.89)			
Highest	2.89	(2.07- 4.04)			
Trend*			-0.21	( -0.38 , -0.05 )	0.01
Trend†			-0.05	( -0.18 , 0.08 )	0.47
Plasma leucine level					
Lowest	5.18	(3.45- 7.80)			
Second	5.72	(4.04- 8.08)			
Third	4.67	(3.27- 6.68)			
Highest	3.47	(2.40- 5.01)			
Trend*			-0.15	( -0.31 , 0.02 )	0.08
Trend†			-0.004	( -0.13 , 0.13 )	0.96

	Geometric mean*	95% confidence interval	beta	95% confidence interval	p value
Insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) (ug/mL)					
Plasma valine level					
Lowest	2.75	(2.55- 2.96)			
Second	2.86	(2.68- 3.05)			
Third	2.98	(2.80- 3.17)			
Highest	3.06	(2.87- 3.26)			
Trend*			0.04	( 0.01 , 0.07 )	0.02
Trend†			0.02	( -0.01 , 0.06 )	0.15
Plasma isoleucine level					
Lowest	2.77	(2.56- 3.00)			
Second	2.88	(2.71- 3.07)			
Third	2.89	(2.71- 3.08)			
Highest	3.04	(2.86- 3.24)			
Trend*			0.03	( -0.002 , 0.06 )	0.07
Trend†			0.02	( -0.01 , 0.05 )	0.23
Plasma leucine level					
Lowest	2.81	(2.61- 3.02)			
Second	2.89	(2.72- 3.08)			
Third	2.84	(2.66- 3.02)			
Highest	3.13	(2.93- 3.34)			
Trend*			0.03	( 0.002 , 0.06 )	0.04
Trend†			0.02	( -0.01 , 0.05 )	0.14

\* Adjusted for sex, age (continuous), smoking status (never smokers, past smokers, current smokers), alcohol drinking (0, 1–149, 150–299, 300 or more g/week ethanol), physical activity (quartile categories), body mass index (continuous), and fasting status (<5 hours, 5-8 hours, ≥8 hours).

† Additional adjusted for plasma c-peptide level.

腎および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 本研究では、酸化ストレスに着目し、内因性 NADPH Oxidase inhibitor である Apocynin のラット腎発がん修飾作用の検討を行った。雄性 Wistar ラット 6 週齢 36 匹、Group 2 及び 3 には EHEN を 500 ppm の用量で 2 週間飲水投与した。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 time/day, 5 days/week 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、各種解析に興じた。剖検時の腫瘍体積測定及び腫瘍の発生頻度、個数において、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。以上より、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。

A. 研究目的

腎臓は、薬物の排泄を担い、種々の物質の再吸収なども行うことから、常に高い酸化ストレスが負荷される臓器である。加えて、酸化ストレスの負荷は、糖尿病性腎症をはじめ種々の疾患に関与することが報告されている。今回の研究では、酸化ストレスに着目し、内因性 NADPH Oxidase inhibitor である Apocynin のラット腎発がん修飾作用の検討を行った。

B. 研究方法

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、水道水を投与した。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 time/day, 5 days/week 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

解析に興じた。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

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。

#### D. 考察

本試験において、内因性 NADPH Oxidase inhibitor である Apocynin 投与により、EHEN 誘発ラット腎発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。以上の結果より、Apocynin は EHEN 誘発ラット腎発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。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、腎発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。今回の実験結果より、酸化ストレスはイニシエーション期において酸化的 DNA 傷害により DNA に直接影響を及ぼすのみならず、プロモーション期における種々の発がん関連分子に対する影響も重要であることが示唆された。

#### E. 結論

以上より 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。これまでの研究結果より、

EHEN ラット腎発がんにおいて酸化ストレスの増加が発がん促進作用を有すること、さらに、腎腫瘍と周囲尿細管組織を比較したプロテオーム解析の結果より、腫瘍内で酸化ストレスを除去する酵素の発現が低下していることが明らかとなっている。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、腎発がん予防に極めて重要だと考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

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, doi:

10.1111/j.1349-7006.2012.

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.

Xie XL, 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, doi:

10.1016/j.fct.2012.07.063. 2012.