

Xie XL, Wei M, Kakehashi A, Yamano S, Okabe K, Tajiri M, Wanibuchi H. : Dammar resin, a non-mutagen, inducts 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.

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.

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.

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, doi: 10.3892/ijo.2013.1760. 2013.

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, doi: 10.1038/srep01224. 2013.

2. 学会発表

梯アンナ、謝 曉利、山野莊太郎、魏 民、鰐渕英機 : ヒト肝臓癌のプロテオーム解析を用いた新規バイオマーカー候補分子の検討. 第101回日本病理学会総会, 東京 (2012年4月)

Okabe K, Yamano S, Wei M, Kato M, Fujioka M, Xie X, Wanibuchi H. Identification of novel biomarkers of rat renal carcinogenesis. Society of Toxicologic Pathology 31st Annual Symposium, Boston(2012年6月)

Wanibuchi H., Wei M, Kakehashi A, Yamano S: Animal model for arsenic carcinogen. The 6th International Congress of Asian Society of Toxicology, 仙台 (2012年7月)

藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、岡部恭子、奥村真衣、鰐渕英機 : gpt delta ラットを用いた遺伝毒性・発がん性の包括的リスク評価モデルの確立. 第27回発癌病理研究会, 伊豆 (2012年8月)

鰐渕英機 : gpt delta ラットを用いた遺伝毒性・発がん性の包括的リスク評価モデルの確立. 第6回応用トキシコロジーリカレント講座, 大阪 (2012年9月)

山野莊太郎、魏 民、田尻正喜、梯アンナ、岡部恭子、奥村真衣、多胡善幸、鰐渕英機 : マウス肺扁平上皮癌の発がん過程早期における気管支肺胞幹細胞の関与. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012年9月)

藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、岡部恭子、奥村真衣、武下正憲、鰐渕英機 : gpt

delta ラットを用いた膀胱粘膜における in vivo 変異原性の評価法の確立. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012 年 9 月)

小松弘明、西山典利、山野荘太郎、花田庄司、井上英俊、梯アンナ、魏 民、鰐淵英機：プロテオーム解析による新規肺神経内分泌癌のバイオマーカー検索. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012 年 9 月)

桑江優子、梯アンナ、魏 民、若狭研一、鰐淵英機：FFPE 標本を用いたヒト浸潤性膵管癌のプロテオーム解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012 年 9 月)

岡部恭子、山野荘太郎、魏 民、加藤 実、田尻正喜、謝 暁利、鰐淵英機：マウス肺発がん過程におけるロサルタンの修飾作用の検討. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012 年 9 月)

梯アンナ、桑江優子、山野荘太郎、魏 民、謝 暁利、若狭研一、鰐淵英機：ヒト幹細胞癌における特異的候補分子のピンポイントターゲットィング. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012 年 9 月)

加藤 実、魏 民、田尻正喜、山野荘太郎、梯アンナ、仲谷達也、鰐淵英機：Steroid Sulfatase は膀胱癌の予後予測因子である. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012 年 9 月)

魏 民、山野荘太郎、加藤 実、梯アンナ、神吉将之、謝 暁利、鰐淵英機：BBN 誘発マウス膀胱発がん過程におけるがん幹細胞関連タンパク質の発現. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌 (2012 年 9 月)

鰐淵英機：膀胱癌の発症・進展におけるリスクファクターと機序. 第 246 回日本泌尿器科学会東北地方会, 福島 (2012 年 9 月)

魏 民、山野荘太郎、加藤 実、藤岡正喜、梯アンナ、神吉将之、鰐淵英機：膀胱発がん物質の早期検出 microRNA マーカーの検討. 第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, つくば (2013 年 1 月)

神吉将之、魏 民、梯アンナ、山野荘太郎、鰐淵英機：ラットにおける非遺伝毒性肝発がん物質と毒性フェノタイプを予測できる遺伝子マーカーセットの探索. 第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, つくば (2013 年 1 月)

奥村真衣、魏 民、山野荘太郎、藤岡正喜、多胡善幸、北野光昭、鰐淵英機：gpt delta ラットを用いた 2-AAF の肝発がん性および変異原性の包括的評価モデルの検討. 第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, つくば (2013 年 1 月)

山野荘太郎、魏 民、藤岡正喜、梯アンナ、岡部恭子、武下正憲、鰐淵英機：マウス肺扁平上皮癌モデルにおける気管支肺胞幹細胞の cancer initiating cell としての可能性. 第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, つくば (2013 年 2 月)

梯アンナ、萩原昭裕、今井則夫、魏 民、長野嘉介、福島昭治、鰐淵英機：ラットにおける 2-エトキシ-2-メチルプロパンの肝臓発腫瘍性機序の解明. 第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, つくば (2013 年 1 月)

岡部恭子、山野荘太郎、魏 民、藤岡正

3.その他

喜、謝 暁利、串田昌彦、鰐淵英機：マウス肺発がん過程におけるロサルタンの修飾作用の検討。第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013年1月）

藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、岡部恭子、福永賢輝、謝 暁利、鰐淵英機：ラット膀胱発がん物質 DMA(V)の in vivo 変異原性の検討。第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013年2月）

山野莊太郎、鰐淵英機：NASH-肝細胞癌発症 STAM マウスにおける病態評価。第12回分子予防環境医学研究会，つくば（2013年2月）

鰐淵英機：肺発がんモデルにおける組織幹細胞の役割。平成24年度個体レベルでのがん研究支援活動ワークショップ，大津（2013年2月）

魏 民、山野莊太郎、加藤 実、梯アンナ、鰐淵英機：膀胱発がん物質の早期検出 microRNA マーカーの検討。平成24年度個体レベルでのがん研究支援活動ワークショップ，大津（2013年2月）

山野莊太郎、岡部恭子、梯アンナ、魏 民、鰐淵英機：ラット腎発がんにおける NADPH oxidase 阻害による効果。平成24年度個体レベルでのがん研究支援活動ワークショップ，大津（2013年2月）

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題名：非アルコール性肝炎と肝発がんの抑制

分担研究者 清水 雅仁 岐阜大学医学部附属病院 助教

研究要旨：本研究は、肥満関連肝発癌の機序を解明し、それらの分子異常を標的とする新規肝発癌予防法（薬）を開発すること、また肥満関連肝発癌に関与する biomarker の検索を行い、新規標的候補分子や臨床的に有用な発癌・予後予測因子を同定することを目的とする。本研究において、分岐鎖アミノ酸（BCAA）が、肥満によって惹起された肝臓と内臓脂肪の炎症状態を抑制するとともに、内臓脂肪における adiponectin と核内受容体 PPAR α/γ の発現を制御することで、マウスの肥満・非アルコール性脂肪肝炎（NASH）関連肝前癌病変の発生を抑制することが明らかになった。また BCAA と肝発癌抑制薬として臨床応用が期待されている非環式レチノイド、および脂質・糖質代謝異常との関連が注目されている核内受容体 FXR agonist（GW4064）と非環式レチノイドの併用によって、肝癌細胞の増殖が相乗的に抑制されることが明らかになった。さらに、根治的治療を行った肝癌の治療後早期再発の予測因子として、肥満者や NASH、糖尿病患者で認められる酸化ストレスの亢進（血清 d-ROM 値高値）が有用であることが確認された。これらの研究結果は、酸化ストレスの亢進や慢性炎症等の病態が、肥満関連肝発癌の抑制および診断のための標的分子として有用である可能性と、BCAA や非環式レチノイドをはじめとする薬剤投与、あるいは栄養学的介入によって肥満関連分子異常を改善・制御することが、今後更なる増加が危惧される肥満合併肝硬変患者、あるいは NASH 患者の肝発癌抑制において、有効な strategy となる可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

本研究は、肝癌の発癌・進展の鍵を握る肥満やメタボリック症候群に関連した様々な分子異常を明らかにし、それらを標的とし改善・制御することで肝発癌を抑制する新規肝発癌予防薬（法）を開発すること、またこれらの肥満関連分子異常の中に、肝発癌（再発）高危険群の同定に有用な新規 biomarker を見だし、肥満を合併した肝硬変患者や非アルコール性脂肪肝炎（NASH）患者の予後改善をめざすことを目的とする。

B. 研究方法

肥満・NASH 関連マウス肝発癌モデルに分岐鎖アミノ酸（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、肝癌細胞の増殖を相乗的に抑制するか検討した。また肝癌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、肝発癌（再発）の予測因子として臨床的に有用な biomarker を検索した。
(倫理面への配慮)

動物を用いた研究は、岐阜大学大学院

医学系研究科動物実験審査委員会の承認を得た。ヒト検体の利用に関しては、岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理審査委員会の承認を得た。検体に関しては使用の同意が得られたもののみを用い、検体と個人情報に関連を無くした検体を使用した。

C. 研究結果

BCAA の投与によって、肥満・NASH 関連マウス肝発癌モデルに自然発症する肝前癌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、肝癌細胞における 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。さらに肝癌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、肝癌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。

D. 考察

BCAA は肥満・NASH 関連肝発癌モデルにおいて、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、肝前癌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発癌抑制作用を増強し、肝癌細胞の増殖を相乗的に抑制する可能性が示唆された。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癌細胞増殖抑制作用を促進する可能性が示唆された。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、肝癌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。

E. 結論

肥満に関連した様々な病態・分子異常は、肝発癌予防を実践する上で重要な標的である。今回の研究結果によって、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 と肝発癌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、相乗的な肝癌細胞の増殖抑制効果が認められたことは、今後の肝癌診療を考える上で大変興味深い研究結果と考えられた。

さらに、今回明らかになった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や高レプチン血症をマーカーとして、肝発癌（再発）危険群の積極的なスクリーニング・サーベイランスを行い、BCAA や非環式レチノイドを用いた臨床介入（両剤の併用投与も含めて）を行うことで、肝癌患者の予後が改善される可能性が明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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*: doi 10.1007/s00432-013-1389-1, in press
- 2) 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
- 3) 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

- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) 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
- 9) Tanaka T, Shimizu M, Moriwaki H. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules* 17: 3202-3242, 2012
- 10) Shirakami Y, Shimizu M, Moriwaki H. Cancer chemoprevention with green tea catechins: from bench to bed. *Curr Drug Targets* 13: 1842-1857, 2012
- 11) 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
- 12) 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
- 13) Ogawa K, Hara T, Shimizu M, Nagano J, Ohno T, Hoshi M, Ito H, Tsurumi H, Saito K, Seishima M, Moriwaki H. (-)-Epigallocatechin gallate inhibits the expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human colorectal cancer cells. *Oncol Lett* 4: 546-550, 2012
- 14) 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
- 15) Hata K, Kubota M, Shimizu M, Moriwaki H, Kuno T, Tanaka T, Hara A, Hirose Y. Monosodium glutamate-induced diabetic mice are susceptible to azoxymethane-induced colon tumorigenesis. *Carcinogenesis*

33: 702-707, 2012

16) 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

17) 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

18) 清水雅仁、森脇久隆. 「非環式レチノイドによる肥満関連肝腫瘍形成の抑制」 ビタミン 86: 309-312, 2012

19) 大野智彦、白上洋平、清水雅仁、久保田全哉、境浩康、安田陽一、河内隆宏、鶴見寿、森脇久隆. 「非環式レチノイドと FXR リガンド GW4064 併用による肝がん細胞の増殖抑制」 ビタミン 86: 539-541, 2012

20) 清水雅仁、森脇久隆. 「非環式レチノイドによる肝発がん化学予防ビタミン 87: 90-94, 2013

21) 清水雅仁、白木亮、森脇久隆. 「BCAA

による予後改善と肝発癌予防」 医学のあゆみ 240: 782-786, 2012

2. 学会発表

1) 第 39 回日本肝臓学会西部会

2011 年 12 月 9 日～10 日、岡山
ワークショップ 8 「NASH 治療の現状と問題点」

緑茶カテキンを用いた NASH・肥満関連肝腫瘍形成の抑制

清水雅仁、久保田全哉、森脇久隆

2) 第 98 回日本消化器病学会総会

2012 年 4 月 19 日～21 日、東京
ミニシンポジウム 2 「Nutraceutical をめぐって」

緑茶カテキンを用いた大腸癌予防-基礎研究から臨床的予備試験まで-

清水雅仁、森脇久隆

3) 第 48 回日本肝臓学会総会

2012 年 6 月 7 日～8 日、金沢
ワークショップ 10 「肝細胞癌の発症と再発予防を目指した慢性肝炎の治療」

栄養的および薬剤投与介入による肥満関連肝発癌予防の可能性-BCAA と非環式レチノイドを用いて-

清水雅仁、白木 亮、森脇久隆

4) 日本ビタミン学会第 64 回大会

2012 年 6 月 22 日～23 日、岐阜
シンポジウム「ビタミン誘導体の臨床応用」

非環式レチノイドによる肝発癌化学予

防-リン酸化 RXRa を標的分子とした肝
発癌化学予防-
清水雅仁、森脇久隆

5) 第 71 回日本癌学会学術総会

2012 年 9 月 19 日～21 日、札幌

Symposia 「Diabetes and Cancer」

Targeting obesity- and
diabetes-related metabolic
abnormalities for chemoprevention of
hepatocellular carcinoma

Shimizu M, Moriwaki H

6) JDDW2012 (第 54 回日本消化器病学
会大会)

2012 年 10 月 10 日～13 日、神戸

シンポジウム 8 「NASH からの発癌：
基礎と臨床」

肥満・高血圧発症ラットを用いた新規
NASH 肝発癌モデルの作製-緑茶カテ
キン EGCG は NASH・高血圧に関連し
た肝腫瘍形成を抑制する-

河内隆宏、清水雅仁、森脇久隆

7) JDDW2012 (第 54 回日本消化器病学
会大会)

2012 年 10 月 10 日～13 日、神戸

ワークショップ 8 「消化器疾患と胆汁酸」

非環式レチノイドと GW4064 (FXR
ligand) 併用による肝癌抑制効果

大野智彦、清水雅仁、森脇久隆

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

前立腺発がん抑制物質の検索

分担研究者 高橋 智 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学 教授

研究要旨 内因性活性酸素誘導酵素 NADPH oxidase の阻害剤である Apocynin のラット前立腺発がんに対する抑制効果について検討した。Apocynin は側葉前立腺におけるがんの発生頻度、発生個数、腹葉前立腺におけるがんの発生個数が有意に減少させた。TUNEL 染色によるアポトーシスの検討では群間に差はみられなかったのに対し、Ki-67 免疫染色による腹葉前立腺腫瘍性病変の増殖活性の検討では濃度依存性に有意な抑制効果が観察された。ウエスタン解析では Cyclin D1, Clusterin 発現低下、リン酸化 MEK および ERK1/2 の低発現が認められた。以上の結果から Apocynin は前立腺がん増殖抑制効果を示し、前立腺がん化学予防剤として有望であると考えられた。

A. 研究目的

前立腺がん罹患数は全世界で男性の悪性腫瘍中4番目に多く、年間約40万人発症しており、日本においても近年増加傾向が著しい悪性腫瘍である。これまでの研究成果から前立腺がんは高齢者がんであること、食事などの環境要因に強く影響されること、臨床的に顕在化するまでに長期間を要すること、さらに日本人でも潜在がんが欧米と同様に高率に発生している臨床がん発症の下地は十分にあることなどが明らかになっており、これらのことは前立腺がんに対する治療のみならずその発症予防が極めて重要、かつ実践可能な腫瘍であることを示している。そうした背景から、食事や薬、ビタミンなどを介した前立腺がん化学予防の研究が欧米を中心に精力的に行われている。

前立腺がん化学予防の研究においてその予防効果を解析する方法が重要であるが、我々の教室では前立腺癌好発トランスジェニックラット (Transgenic Rat for

Adenocarcinoma of Prostate, TRAP) を樹立して研究を行っている。TRAPモデルは、前立腺特異的に発現する probasin プロモーター下に SV40 T antigen を組み込んだ構築遺伝子を導入したラットで、前立腺腹葉および側葉に前がん病変および腺がんが短期間に自然発症し、前立腺がん進展過程を詳細に検討するのに適したモデルであると考えられる。

肥満は前立腺がん発症および前立腺がんによる死亡率増加に関連している事が報告されており、そのメカニズムとしてレプチン、アディポネクチンなどのアディポカインが注目されている。Apocynin は内因性活性酸素誘導酵素である NADPH oxidase の阻害剤であり、血中アディポネクチンを上昇させる作用を有する事が知られている。我々はアディポネクチン誘導剤である Apocynin の前立腺がんに対する効果について、TRAPモデルを用いて検討した。

B. 研究方法

6週齢のTRAP雄ラットにApocyninを100 500mg/Lの濃度で飲料水投与し、Apocyninを投与しない対照群を設けた。実験期間中は週に1回体重測定を行い、実験期間8週間で全動物を屠殺剖検した。剖検時に前立腺、肝、腎および精巣を採取し、重量測定とともに血清中テストステロン、エストラジオールおよびアディポネクチンを測定する目的で血液を採取した。前立腺組織の一部は凍結保存し、活性酸素解析およびタンパク発現解析に用いた。TRAPラットのの前立腺では、4週齢で前がん病変である prostatic intraepithelial neoplasia (PIN)を、15週齢ではほぼ全例に分化型腺がんが発生する。PINは異型上皮細胞が腺房内に乳頭状に増殖し内腔を占拠する病変で、乳頭状病変が腔の半分以下の場合を低異型度PIN、半分以上占める場合を高異型度PINと定義した。細胞異型とともに極性の消失や管腔癒合など構造異型を認める病変を腺がんとして定義し、これら病変の発生頻度を各葉に分けて検討した。腹葉および側葉前立腺パラフィン標本を用いてKi67, TUNEL, 8-OHdG免疫染色を行い、細胞増殖、アポトーシスおよび酸化ストレスを評価した。活性酸素解析についてはさらに、前立腺腹葉凍結組織を薄切した後、5 μ M dihydroethidium (DHE)溶液でインキュベートして蛍光測定によって評価した。また、凍結した腹葉前立腺組織を用いてウェスタン法を行うと同時に、抽出したtotal RNAを用いてマイクロアレイ解析を

行った。

(倫理面への配慮)

動物実験については名古屋市立大学動物実験委員会の許可を得、動物実験指針を遵守して行い、動物愛護に十分配慮して行った。

C. 研究結果

実験期間中に Apocynin 500mg/L 投与群において1割程度の飲水量低下を認めたが、体重増加に影響は見られなかった。また、肝、腎、精巣および前立腺腹葉重量に群間差は観察されなかった。血中テストステロン値は Apocynin 500mg/L 投与群 (3.1 ± 1.6 ng/ml) でわずかに有意な上昇を認めた(対照群, Apocynin 100 mg/L 投与群: 1.7 ± 1.0 , 1.9 ± 0.8 ng/ml)。一方、エストラジオール値(対照群, Apocynin 100, 500 mg/L 投与群: 3.2 ± 1.0 , 3.4 ± 1.2 , 3.3 ± 0.7 pg/ml)、アディポネクチン値(対照群, Apocynin 100, 500 mg/L 投与群: 3.5 ± 1.1 , 3.2 ± 0.5 , 3.5 ± 0.8 μ g/ml)に群間差は見られなかった。また、肝、腎および精巣を病理組織学的に検討したが、Apocynin 投与による毒性変化は明らかではなかった。腹葉では全例に腺がんが観察されたが、側葉では対照群および Apocynin 100mg/L 投与群で 9/11 匹 (82%) であったのに対して、Apocynin 500mg/L 投与群では 6/11 匹 (55%) と低下していたが、有意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、単位面積あたりの腺がん病巣数も Apocynin 濃度依存性に有意に減少した。また、側葉においては低異型度 PIN の割合が Apocynin 500mg/L 投与群で有意に上昇した。前立腺腹葉および側葉において、Ki67、アポトーシス、8-OHdG 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。腹葉組織内における活性酸素量は DHE 法により Apocynin を投与することで濃度依存性に有意に低下していることが確認された。タンパク発現解析では、Apocynin 投与群において MEK および ERK1/2 のリン酸化が抑制されていることが明らかとなり、細胞周期に関与する cyclin D1 の発現低下も認められた。一方、リン酸化 p38 MAPK の発現変動をみられなかった。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 について定量的 RT-PCR、ウエスタン解析を行ったところ、Apocynin 投与群で低下している事が確認された。

D. 考察

NADPH oxidase 阻害剤である Apocynin により、TRAP ラットにおける前立腺発がんを抑制できることが明らかとなった。Apocynin はマウスで血中アディポネクチンを上昇させる事が報告されており (J. Clin. Invest., 114:1752-1761, 2004)、当初はアディポネクチンを介した前立腺発がん抑制を期待したが、今回の実験系

ではその作用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癌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 マウス前立腺発がん抑制の際にも血中 Clusterin の低下が報告されており (JNCI, 103:571-584, 2011)、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唆された。

がんに対する化学予防物質は長期的に服用する事を想定しているため、安価であるとともに副作用が極めて少なく、できればサプリメントとして苦もなく服用できるものが望まれる。今回の実験結果は、Apocynin による前立腺発がん抑制効果を明確に示すとともに、高濃度で投与されながらも毒性変化に乏しいことを証明した。また、Apocynin は比較的安価に入手できることから、前立腺がん化学予防剤として有望であることが示唆された。化学予防剤の検索には、その発がん抑制効果の確認とともに、適切な用量、毒性発現の有無、物質の代謝や排出などの情報が必須であり、動物モデルを用いた検討は、化学予防物質の検出において必要不可欠であると言える。今回用いた TRAP ラットは比較的短期間に前立腺がんを発

症する試験系であり、発症する腺がんはアンドロゲン依存性であることから、初期のヒト前立腺がんに類似しており、前立腺発がん抑制物質の検出に有用である。今後は、TRAP ラット前立腺組織内での活性酸素と増殖活性の関係を検討し、前立腺がん化学予防剤としての機能を詳細に検索する予定である。

E. 結論

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、PCC 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。

F. 研究発表

1. 論文発表

Naiki, T., Asamoto, M., Toyoda-Hokaiwado, N., Naiki-Ito, A., Tozawa, K., Kohri, K., Takahashi, S., and Shirai, T. Organ-specific Gst-pi expression of the metastatic androgen independent prostate cancer cells in nude mice. *Prostate*, 72:533-541, 2012.

Takahashi, S., Uemura, H., Seeni, A., Tang, M., Komiya, M., Long, N., Ishiguro, H., Kubota, Y., and Shirai, T. Therapeutic targeting of angiotensin II receptor type 1 to

regulate androgen receptor in prostate cancer. *Prostate*, 72:1559-1572, 2012.

Long, N., Suzuki, S., Sato, S., Naiki-Ito, A., Sakatani, K., Shirai, T., and Takahashi, S. Purple corn color inhibition of prostate carcinogenesis by targeting cell growth pathways. *Cancer Sci.*, 104:298-303, 2013.

Kobayashi, D., Kawai, N., Sato, S., Naiki, T., Yamada, K., Yasui, T., Tozawa, K., Kobayashi, T., Takahashi, S., and Kohri, K. Thermo-therapy using magnetic cationic liposomes powerfully suppresses prostate cancer bone metastasis in a novel rat model. *Prostate*, in press.

Tang, D., Kryvenko, O.N., Wang, Y., Trudeau, S., Rundle, A., Takahashi, S., Shirai, T., and 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.

2. 学会発表

高橋智. 前立腺がんの予防、市民公開講座「がん予防の最前線」、第 19 回日本がん予防学会、岐阜（2012 年 6 月）

鈴木周五、ピッチャーガース ポーンシリ、佐藤慎哉、白井智之、高橋智. 内因性活性酸素誘導酵素 NADPH oxidase 阻害による前立腺癌進展抑制、第 71 回日本癌学会

学術総会、札幌（2012年9月）

鈴木周五、佐藤慎哉、龍訥、ブンファ・
ワニサ、白井智之、高橋智、NADPH oxidase
阻害剤 Apocynin による前立腺発癌抑制効
果、第28回前立腺シンポジウム、東京
（2012年12月）

鈴木周五、佐藤慎哉、龍訥、Punfa Wanisa、
白井智之、高橋智、NADPH oxidase 阻害剤
Apocynin によるラット前立腺発癌抑制効
果、第29回日本毒性病理学会、筑波（2013
年1月）

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

発がんにおけるアディポカインの関与に関する解析

分担研究者 氏名 窪田直人 所属 東京大学 職名 特任准教授

研究要旨 創傷治癒過程の異常が、発がんのリスクを増大させることが報告されており、正常な創傷治癒のより詳細な分子メカニズムを解明し、これに立脚した予防法・治療法の開発が急務である。本研究では複数のモデルマウスを使用し、2型糖尿病や肥満でその分泌が低下しているアディポネクチンの創傷治癒における役割について検討した。その結果、アディポネクチンはケラチノサイトのアディポネクチン受容体 AdipoR1・AdipoR2、MAP キナーゼ活性化を介して細胞増殖、細胞遊走を促進していることが明らかとなった。また2型糖尿病・肥満モデル動物である db/db マウスへのアディポネクチン投与により創傷治癒促進を確認した。以上の結果よりアディポネクチンは再上皮化を促進させることにより早期に創傷を治癒させる可能性が示唆された。

A. 研究目的

2型糖尿病患者ではしばしば創傷治癒の遅延が認められ、創傷治癒過程の異常は、発がんのリスクを増大させることが報告されている。そこで本研究では脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンに着目し、アディポネクチンの創傷治癒における生理的・病態生理的役割とその分子メカニズムについて、in vitro の解析留まらず、複数のモデル動物を用いて検討し、2型糖尿病・メタボリックシンドロームにおいて創傷治癒が遅延する分子機構を解明し、これに立脚した予防法や治療法を開発することを目的とする。

B. 研究方法

ヒトケラチノサイトを用いた in vitro の解析では、mRNA レベルにおけるアディポネクチン受容体発現の確認をまず行い、

続いてアディポネクチン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、アディポネクチンによる ERK の活性化、ERK 阻害薬の効果およびアディポネクチン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、アディポネクチン欠損マウスにおける創傷治癒の検討、アディポネクチン欠損マウスに対するアディポネクチン補充実験、および糖尿病・肥満モデル動物として db/db マウスに対するアディポネクチン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）

動物実験は、東京大学実験委員会ならびに東京大学組換え DNA 実験安全委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

- ・ヒトケラチノサイトでは mRNA レベルでアディポネクチン受容体 AdipoR1 および AdipoR2 の両方の発現が確認された。
- ・アディポネクチン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。
- ・アディポネクチンはヒトケラチノサイトにおいて、ERK の活性化を促進し、アディポネクチン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。
- ・アディポネクチンによる 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。
- ・アディポネクチン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、アディポネクチン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、アディポネクチン塗布により皮膚創傷治癒の遅延が改善した。

D. 考察

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、EGF(epidermal growth factor; 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、アディポネクチン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。以上の結果より、アディポネクチンは皮膚創傷治癒において重要な役割を果たしていることが示唆された。

E. 結論

アディポネクチンはアディポネクチン-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アディポネクチンの低下が報告されているが、本研究によりこの低アディポネクチンは 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ということが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 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.
2. 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.
- Shibata S, Tada Y, Asano Y, Hau CS, 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.
 - Nakamura A, Tajima K, Zolzaya K, Sato K, Inoue R, Yoneda M, Fujita K, Nozaki Y, Kubota KC, 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.
 - 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.
 - 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

海外

- Iseki Takamoto, Naoto Kubota, Katsuyoshi Kumagai, Atsushi Obata, Tetsuya Kubota, Kohjiro Ueki, Takashi Kadowaki: Role of Tcf712-mediated pathway in pancreatic beta cell in vivo. 70th American Diabetes Association's Scientific Sessions. (Philadelphia, USA, 2012. 06)
- Naoto Kubota, Tetsuya Kubota, Tomokatsu Iwamura, Hiroyuki Sato, Mariko Inoue, Iseki Takamoto, Toshimasa Yamauchi, Kohjiro Ueki, Takashi Kadowaki: Pioglitazone Ameliorates Cuff Induced Neointimal Formation by both Adiponectin Dependent and Independent Pathways. The 64th Fujihara Seminar, International Symposium on Adiponectin Biology and Medicine (Hokkaido, Japan, 2012. 08)
- Kohjiro Ueki, Motoharu Awazawa,

- Toshimasa Yamauchi, Naoto Kubota, Takashi Kadowaki: Adiponectin Enhances Insulin Sensitivity by Increasing Hepatic IRS-2 expression via Macrophage-derived IL-6 Dependent Pathway. The 64th Fujihara Seminar, International Symposium on Adiponectin Biology and Medicine (Hokkaido, Japan, 2012. 08)
- Miki Okada-Iwabu, Toshimasa Yamauchi, Masato Iwabu, Naoto Kubota, Takashi Kadowaki: AdipoR1 in Macrophages and AdipoR2 in Endothelial Cells Play Pivotal Roles in the Prevention of Atherosclerosis in vivo. The 64th Fujihara Seminar, International Symposium on Adiponectin Biology and Medicine (Hokkaido, Japan, 2012. 08)
 - Naoto Kubota, Tetsuya Kubota, Mariko Inoue, Iseki Takamoto, Takayoshi Sasako, Kohjiro Ueki, and Takashi Kadowaki: The pathophysiological roles of hepatic IRS-1 and IRS-2 in the regulation of glucose and lipid metabolism. 2012 Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology: Aging and Diseases of Aging (Tokyo Japan, 2012. 10)
 - Iseki Takamoto, Naoto Kubota, Katsuyoshi Kumagai, Atsushi Obata, Tetsuya Kubota, Kohjiro Ueki, Takashi Kadowaki: Role of Tcf712-mediated pathway in pancreatic beta cell in vivo. 9th IDF-WPR Congress & 4th AASD Scientific Meeting (Kyoto Japan 2012. 11)

国内

- 窪田直人:「遺伝子改変マウスを用いた2型糖尿病の分子メカニズムの解明」(研究奨励賞受賞講演)第85回日本内分泌学会学術総会(2012年4月名古屋)
- 窪田直人, 窪田哲也, 井上真理子, 岩村智勝, 佐藤寛之, 林高則, 高本偉碩, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝:「肝臓の糖・脂質代謝におけるIRS-1、IRS-2の役割の解明」第85回日本内分泌学会学術総会(2012年4月名古屋)
- 井上真理子, 窪田直人, 窪田哲也, 岩村智勝, 佐藤寛之, 林高則, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝:「中枢のIRS-2の糖代謝調節における役割の解明 脳特異的IRS-2欠損マウスを用いて」第85回日本内分泌学会学術総会(2012年4月名古屋)
- 高本偉碩, 窪田直人, 小畑淳史, 桜井賛孝, 熊谷勝義, 中屋恵三, 勝山修行, 窪田哲也, 北村忠弘, 植木浩二郎, 門脇孝:「膵β細胞においてTcf712が担う役割の解明」

- 第 85 回日本内分泌学会学術総会 (2012 年 4 月 名古屋)
5. 笹子敬洋, 植木浩二郎, 大杉満, 窪田直人, 戸辺一之, 門脇孝:「新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討」第 85 回日本内分泌学会学術総会 (2012 年 4 月 名古屋)
 6. 岩部美紀, 山内敏正, 岩部真人, 窪田直人, 門脇孝:「アディポネクチン受容体の動脈硬化における病態生理的意義の解明」第 85 回日本内分泌学会学術総会 (2012 年 4 月 名古屋)
 7. 窪田直人:「遺伝子改変マウスを用いた 2 型糖尿病の分子メカニズムの解明」(学会賞受賞講演) 第 49 回日本臨床分子医学会学術集会 (2012 年 4 月 京都)
 8. 窪田直人, 窪田哲也, 渡部拓, 西村正治, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝:「インスリン受容体基質 (IRS) に着目した肥満・2 型糖尿病における肝臓の糖・脂質代謝調節機構」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 9. 窪田直人:「(インスリン抵抗性からみた全身血管の包括的治療 ~大血管から末梢動脈疾患まで~) 血管から診た糖尿病~新たな臨床的意義~」(ランチョンセミナー) 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 10. 岩村智勝(東京大学 大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科), 窪田直人*, 勝山修行, 窪田哲也, 植木浩二郎, 門脇孝:「PGI2 誘導体ベラプロストのインスリン抵抗性改善効果に関する検討」(*: 発表者) 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 11. 窪田哲也, 窪田直人, 佐藤寛之, 岩村智勝, 井上真理子, 林高則, 高本偉碩, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝:「チアゾリジン誘導体はアディポネクチン依存性・非依存性に動脈硬化を抑制する」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 12. 高本偉碩, 窪田直人, 熊谷勝義, 小畑淳史, 桜井賛孝, 窪田哲也, 北村忠弘, 植木浩二郎, 門脇孝:「2 型糖尿病感受性遺伝子 Tcf712 が膵β細胞で担う役割の解明」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 13. 井上真理子, 窪田直人, 窪田哲也, 岩村智勝, 佐藤寛之, 林高則, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝:「中枢の IRS-2 による肝臓のインスリン感受性調節」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 14. 佐藤寛之, 窪田直人, 窪田哲也, 井上真理子, 岩村智勝, 高本偉碩, 橋本信嗣, 中屋恵三, 後藤守兄, 城森孝仁, 植木浩二郎, 門脇孝:「DPP-4 阻害薬 (Anagliptin) はインスリン抵抗性を改善する」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 15. 小畑淳史, 窪田直人, 高本偉碩, 鈴木昌幸, 本田清史, 池田幸弥, 植木浩二郎, 門脇孝:「新規 SGLT2 阻害薬 Tofogliflozin の in vivo における抗肥満・抗糖尿病作用の解析」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 16. 林高則, 窪田直人, 窪田哲也, 酒井芳紀, 井上真理子, 岩村智勝, 佐藤寛之, 高本偉碩, 山内敏正, 植木浩二郎, 門脇孝:「ONO-1301 は、高脂肪食肥満モデルマウスのインスリン抵抗性を改善する」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 17. 桜井賛孝, 高本偉碩, 窪田直人, 熊谷勝義, 小畑淳史, 植木浩二郎, 門脇孝:「新たな脂肪細胞特異的 Cre 発現マウスの作製と解析」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 18. 笹子敬洋, 植木浩二郎, 寺井愛, 岩根亜弥, 小林正稔, 岡崎由希子, 大杉満, 鈴木亮, 窪田直人, 戸辺一之, 門脇孝:「新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 19. 勝山修行, 大杉満, 田中治彦, 高本偉碩, 小畑淳史, 原口美貴子, 坂田道教, 窪田直人, 植木浩二郎, 門脇孝:「白人・日本人におけるインスリン抵抗性予測指標の検討」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 20. 諏訪内浩紹, 植木浩二郎, 栗澤元晴, 岡崎由希子, 梅原敏弘, 笹子敬洋, 窪田哲也, 窪田直人, 門脇孝:「膵β細胞における PI3 キナーゼと GLP-1 シグナルの解明」日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 21. 岡崎由希子, 植木浩二郎, 岩根亜弥, 小林直樹, 坂田道教, 栗澤元晴, 笹子敬洋, 小林正稔, 梅原敏弘, 諏訪内浩紹, 藤田逸人, 堀越桃子, 大杉満, 窪田直人, 山内敏正, 原一雄, 吉村浩太郎, 光嶋勲, 油谷浩幸, 門脇孝:「ヒト脂肪組織発現解析を用いた病態特異的アディポカインの検索」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 22. 岩部美紀, 山内敏正, 岩部真人, 窪田直人, 門脇孝:「アディポネクチン経路の動脈硬化における生理的・病態生理的意義の解明」第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2012 年 5 月 横浜)
 23. 岩部美紀, 山内敏正, 岩部真人, 窪田直人, 門脇孝:「アディポネクチン経路の動脈硬化における病態生理的意義の解明と治療への応用の可能性」第 30 回日本肥満症治療学会 (2012 年 6 月 東京)
 24. 窪田直人:「2 型糖尿病の病態と薬物治

- 療」(ランチョンセミナー) 第一回日本くすりと糖尿病学会学術集会 (2012年9月 東京)
25. 窪田 直人, 窪田 哲也, 井上 真理子, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「中枢神経系と肥満研究のフロンティア; 中枢におけるインスリン作用の生理的・病態生理的役割」(シンポジウム) 第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 26. 窪田 直人, 窪田 哲也, 井上 真理子, 岩村 智勝, 高本 偉碩, 山内 敏正, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「インスリン受容体基質 (IRS) に着目した肥満・2 型糖尿病における肝臓の糖・脂質代謝調節機構」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 27. 佐藤 寛之, 窪田 直人, 窪田 哲也, 井上 真理子, 岩村 智勝, 高本 偉碩, 橋本 信嗣, 中屋 恵三, 後藤 守兄, 城森 孝仁, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「DPP-4 阻害薬(アナグリプチン)は骨格筋インスリン抵抗性を改善する」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 28. 小畑 淳史, 窪田 直人, 高本 偉碩, 桜井 賛孝, 鈴木 昌幸, 萩田 仁士, 本田 清史, 池田 幸弥, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「新規 SGLT2 阻害薬 Tofogliflozin の in vivo における抗肥満、抗糖尿病作用の解析」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 29. 林 高則, 窪田 直人, 窪田 哲也, 酒井 芳紀, 井上 真理子, 岩村 智勝, 佐藤 寛之, 高本 偉碩, 山内 敏正, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「ONO-1301 は、高脂肪食肥満モデルマウスのインスリン抵抗性を改善する」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 30. 井上 真理子, 窪田 直人, 窪田 哲也, 佐藤 寛之, 林 高則, 山内 敏正, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「中枢の IRS-2 は肝臓のインスリン感受性を調節する」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 31. 笹子 敬洋, 植木 浩二郎, 大杉 満, 窪田 直人, 戸邊 一之, 門脇 孝:「新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓での糖脂質代謝調節作用の検討」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 32. 岩部 美紀, 山内 敏正, 岩部 真人, 窪田 直人, 門脇 孝:「アディポネクチン経路の動脈硬化における生理的・病態生理的意義の解明」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 33. 小島 敏弥, 眞鍋 一郎, 大石 由美子, 佐々木 努, 窪田 直人, 北村 忠弘, 門脇 孝, 永井 良三:「転写因子 KLF5 は AgRP を抑制し摂食を調節する」第 33 回日本肥満学会 (2012 年 10 月 京都)
 34. 岩部 美紀, 山内 敏正, 岩部 真人, 窪田 直人, 門脇 孝:「アディポネクチン経路の動脈硬化における病態生理的意義の解明」第 27 回日本糖尿病合併症学会 (2012 年 11 月 福岡)
 35. 窪田 直人, 窪田 哲也, 井上 真理子, 岩村 智勝, 山内 敏正, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「インスリン受容体基質 (IRS) に着目した肥満・2 型糖尿病における肝臓の糖・脂質代謝調節機構」第 62 回日本体質医学会総会 (2012 年 11 月 大阪)
 36. 窪田 直人:「2 型糖尿病の病態と治療戦略」(ランチョンセミナー) 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会 2012 (2012 年 11 月 岐阜)
 37. 小島 敏弥, 眞鍋 一郎, 大石 由美子, 佐々木 努, 窪田 直人, 北村 忠弘, 門脇 孝, 永井 良三:「転写因子 KLF5 は AgRP を抑制し摂食を調節する」第 16 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 (2012 年 11 月 東京)
 38. 窪田 直人:「Diabetic Vascular Complications; The role of endothelial insulin signaling in the regulation of glucose metabolism」(シンポジウム) 第 20 回日本血管生物医学学会学術集会 (2012 年 12 月、徳島)
 39. 窪田 直人:「2 型糖尿病の病態と薬物治療—今後の展望も含めて—」(ランチョンセミナー) 第 50 回 日本糖尿病学会関東甲信越地方会 (2013 年 1 月、横浜)
 40. 窪田 直人, 窪田 哲也, 井上 真理子, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「脳内調節機構からみた肥満のメカニズムとその臨床応用; 中枢におけるインスリン作用の生理的・病態生理的役割」(シンポジウム) 第 27 回日本糖尿病・肥満動物学会 (2013 年 2 月、東京)
 41. 小畑 淳史, 窪田 直人, 窪田 哲也, 佐藤 寛之, 桜井 賛孝, 鈴木 昌幸, 深澤 正徳, 池田 幸弥, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「新規 SGLT2 阻害薬 Tofogliflozin の抗糖尿病作用機序の解明」第 27 回日本糖尿病・肥満動物学会 (2013 年 2 月、東京)
 42. 井上 真理子, 窪田 直人, 窪田 哲也, 佐藤 寛之, 林 高則, 山内 敏正, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「中枢の IRS-2 による肝臓のインスリン感受性調節」第 27 回日本糖尿病・肥満動物学会 (2013 年 2 月、東京)
 43. 高本 偉碩, 窪田 直人, 熊谷 勝義, 小畑 淳史, 桜井 賛孝, 中屋 恵三, 窪田 哲也, 北村 忠弘, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「膵β細胞において 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子 Tcf712 が担う役割の解明」第 27 回日本糖尿病・肥満動物学会 (2013 年 2 月、東京)
 44. 岩部 美紀, 山内 敏正, 岩部 真人, 窪田 直人, 門脇 孝:「アディポネクチン受容体の動脈硬化における生理的・病態生理的意義の解明」第 27 回日本糖尿病・肥満

動物学会 (2013年2月、東京)

45. 窪田 哲也, 窪田 直人, 佐藤 寛之, 井上 真理子, 林 高則, 高本 偉碩, 山内 敏正, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「チアゾリジン誘導体はアディポネクチン依存性・非依存性にカフ障害誘導性内膜肥厚を抑制する」第27回日本糖尿病・肥満動物学会 (2013年2月、東京)
46. 佐藤 寛之, 窪田 直人, 窪田 哲也, 井上 真理子, 高本 偉碩, 橋本 信嗣, 中屋 恵三, 後藤 守兄, 城森 孝仁, 植木 浩二郎, 門脇 孝:「DPP-4 阻害薬 (アナグリプチン) は骨格筋インスリン抵抗性を改善する」第27回日本糖尿病・肥満動物学会 (2013年2月、東京)
47. 窪田直人:「血管の機能 生体イメージングそして血管内皮-血管障害からみたインスリン抵抗性-」(ランチョンセミナー) 第77回日本循環器学会 (2013年3月、横浜)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。