

わが国において食生活の欧米化による大腸がんの増加が指摘されている。また、動物発がん実験においても高脂肪食は大腸発がんを促進する。更に、脂質異常症、糖尿病、肥満等を合併するメタボリックシンドロームの原因と考えられる内臓脂肪の蓄積量と大腸腺腫数及び血中アディポサイトカイン (IL-6、MCP-1 等も含む) 値が相関することも報告されるとともに、高トリグリセリド血症が大腸粘膜内がん、腺腫、腺がんの発症リスクを上昇させることもわかってきた。肥満や過体重における内臓脂肪の蓄積が大腸がんのリスクを上昇させる理由として強い酸化ストレス状態が注目されている。本研究では、carbonic anhydrase 阻害剤である acetazolamide が Min マウスにおける腸ポリープ生成を抑制することを新たに見出した。Carbonic anhydrase はこれまでに種々のがんにおいて発現上昇が認められており、がんの増殖や進展に寄与していると報告されている。大腸がんにおいても carbonic anhydrase の発現上昇は確認されているが、これまでに carbonic anhydrase が腸腺腫発生に関わっているという報告はない。

Acetazolamide による腸ポリープ生成の抑制機序に関しては、IL-6、MCP-1 の産生低下が関与していると考えられた。IL-6、MCP-1 は慢性炎症を誘発し、発がんに関与している炎症性サイトカインである。また IL-6 は JAK-STAT 経路を活性化することにより、c-Myc や cyclin D1 などの増殖因子を誘導し、細胞増殖を亢進することが知られている。本試験においては acetazolamide 投与群において、腸ポリープ部位の IL-6、MCP-1 の mRNA 発現低下に加え、その下流因子であ

る c-Myc、cyclin D1 の mRNA 発現低下傾向が見られた。さらに細胞増殖抗原である PCNA に対する免疫組織化学染色の結果、acetazolamide 投与群で陽性細胞数の減少が見られた。これらのことから、acetazolamide は IL-6、MCP-1 の発現を抑制し、細胞増殖の阻害に寄与している可能性が考えられた。

また、acetazolamide による IL-6 発現抑制作用に関しては、NRF2 の活性化が影響していると考えられた。NRF2 は酸化ストレスなどにより活性化され、抗酸化酵素や第二相解毒酵素の発現を亢進する重要な転写因子である。Carbonic anhydrase は細胞内外の pH 調節に深く関与しており、acetazolamide は細胞内 pH を低下させることが報告されている。これにより、acetazolamide は細胞に酸化的なストレスを与えることで、NRF2 を活性化していると考えられるが、詳細なメカニズム解析はこれからの課題である。また、NRF2 は IL-6 を含む炎症性サイトカインの発現を抑制することも報告されている。さらに NRF2 のノックアウトマウスでは肝がんの促進が報告されており、炎症と発がんの調節において重要な転写因子であると考えられる。これらのことから、acetazolamide は carbonic anhydrase の阻害経路を介して、又は他の経路により、NRF2 を活性化することが考えられた。

また、本試験では、acetazolamide 投与群において、抗アポトーシス作用のある Bcl-2 の発現低下と ssDNA 陽性細胞数の増加が確認された。Acetazolamide が Bcl-2 の発現を抑制することが、カスパーゼ 9 が活性化し、続いて DNA の断片化というアポトーシス特

有の ssDNA 陽性細胞数の増加が起こったと推定される。これまでに acetazolamide の Bcl-2 の発現低下作用に関する報告はない。従って、本研究の acetazolamide 投与による腸ポリープ生成抑制機構として、アポトーシスの誘導、そして NRF2 の活性化による IL-6、MCP-1 発現低下と細胞増殖抑制が、腸ポリープ生成抑制に結びついたと考えられた。その分子機構には未だ不明な点が多く、さらに今後の研究が必要であるが、本研究の結果より、acetazolamide は有用な大腸発がん化学予防剤の候補になると考えられた。Carbonic anhydrase に関する研究を進めることにより、より詳細な大腸発がんの機序や大腸発がん予防方策のデータが得られるものと考えられる。

E. 結論

Acetazolamide は Min マウス腸ポリープ生成数を約 50%まで減少させた。そのメカニズムの一つとして、acetazolamide は NRF2 を活性化することで IL-6、MCP-1 の発現レベルを低下させ、細胞増殖を抑制することが示唆された。また、acetazolamide は Bcl-2 の発現を抑制することにより、アポトーシスを誘導し易くする作用が新たに見出された。現在、食の欧米化や運動の不足に伴って、大腸がん及びメタボリックシンドローム患者が増加していることを考えると、pH や酸化ストレスに寄与する carbonic anhydrase に着目した検討を今後さらに詳細に行うことにより、大腸がん予防方法の新たな知見が得られるものと期待される。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究論文

1. 論文発表

- 1) 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 in Immunopathol*, **35**: 203-227, 2013.
- 2) Arai Y, Totoki Y, Nakamura H, Hama N, Kohno T, Tsuta K, Yoshida A, Asamura H, Mutoh M, Takahashi H, Tatsuno K, Hosoda F, Tsuda H, Aburatani H, Miyano S, Shibata T. Mouse model for ROS-1-rearranged lung cancer. *PLoS One*, **8**: e56010, 2013.
- 3) Fujimoto K, Fujii G, Mutoh M, Mochida Y, Tanaka H, Wada M. Suppression of intestinal polyp development through inhibition of P-glycoprotein by verapamil in *Apc^{Min/+}* mice. *Eur J Cancer Prev*, **22**: 8-10, 2013.
- 4) Iimuro M, Arakawa T, Matsumoto T, Wakabayashi K, Mutoh M. Effects of Dietary Calcium on *Helicobacter pylori*-induced Gastritis in Mongolian gerbils. *Anticancer Res*, **33**: 3667-3674, 2013.
- 5) Hayakawa T, Mutoh M, Imai T, Tsuta

- K, Yanaka A, Fujii H, Yoshimoto M. SPECT imaging using ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) to detect nodules in a mouse lung carcinogenesis model. *Ann Nucl Med*, 27: 640-647, 2013.
- 6) Ito K, Ishigamori R, Mutoh M, Ohta T, Imai T, Takahashi M. A γ Allele promotes azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis via macrophage migration in hyperlipidemic/diabetic KK mice. *Cancer Sci*, **104**: 835-843, 2013.
- 7) Komiya M, Fujii G, Takahashi M, Iigo M, Mutoh M. Prevention and intervention trials for colorectal cancer. *Japanese J Clin Oncol*, **43**: 685-694, 2013.
- 8) Ishino K, Mutoh M, Totsuka Y, Nakagama H. Metabolic syndrome: Anovel high-risk state for colorectal cancer. *Cancer letts.* (SpI; Technologies in Carcinogenesis) **334**: 56-61, 2013.
- 9) Tamura M, Mutoh M, Fujii G, Matsui H. Involvement of mitochondrial reactive oxygen species in gastric carcinogenesis. *J Gastroint Dig Syst*, **3**: 150, 2013. Doi:10.4172/2161-069X.1000150
- 10) Shimizu S, Fujii G, Takahashi M, Nakanaishi R, Komiya M, Shimura M, Noma N, Onuma W, Yano T, Mutoh M. Sesamol suppresses cyclooxygenase-2 transcriptional activity in colon cancer cells and modifies intestinal polyp development in *Apc*^{Min/+} mice. *J Clin Biochem Nutr*, **54**: 95-101, 2014.
- 11) Komiya M, Fujii G, Takahashi M, Shimura M, Noma N, Shimizu S, Onuma W, Mutoh M. Bi-directional regulation between adiponectin and plasminogen activator-inhibitor-1 in 3T3-L1 cells. *IN VIVO*, **28**: 13-19, 2014.
- 12) Hori M, Takahashi M, Hiraoka N, Yamaji T, Mutoh M, Ishigamori R, Furuta K, Okusaka T, Shimada K, Kosuge T, Kanai Y and Nakagama H. Pancreatic fatty infiltration serves as a risk factor for pancreatic cancer, independently of obesity and diabetes. *Clin Transl Gastroenterol*, **5**: e53, 2014.
- 13) Ishikawa H, Mutoh M, Suzuki S, Tokudome S, Saida Y, Abe T, Okamura S, Tajika M, Joh T, Tanaka S, Kudo S, Matsuda T, Iimuro M, Yukawa T, Takayama T, Sato Y, Lee K, Kitamura S, Mizuno M, Sano Y, Gondo N, Sugimoto K, Kusunoki M, Goto C, Matsuura N, Sakai T, Wakabayashi K. The preventive effects of low-dose enteric-coated aspirin tablets on development of colorectal tumor in Asian patients. *GUT*, in press.

2. 学会発表

- 1) 小宮雅美、藤井 元、中西るり、志村美聖、野間寛陽、高橋真美、石野孔祐、戸塚ゆ加里、武藤倫弘、中釜 斉。NADPH オキシダーゼ阻害剤によるマウス腸発がん抑制。第 20 回日本がん予防学会、渋谷(2013 年 7 月 5,6 日)
- 2) 藤井 元、武藤倫弘、小宮雅美、中西るり、志村美聖、野間寛陽、清水聡美、尾沼若奈、中釜 斉。Global(All-over)なメチル化状態のスクリーニング的定量方法の確立。第 20 回日本がん予防学会、渋谷(2013 年 7 月 5,6 日)
- 3) 武藤倫弘、藤井 元、中西るり、小宮雅美、志村美聖、野間寛陽、高橋真美、清水聡美、尾沼若奈、中釜 斉。Low-density lipoprotein 受容体の欠損による細胞増殖抑制。第 20 回日本がん予防学会、渋谷(2013 年 7 月 5,6 日)
- 4) 高橋真美、伊藤久美子、石ヶ守里加子、中西るり、武藤倫弘、藤井 元、太田敏博、今井俊夫。アゾキシメタン誘発大腸発がん高感受性の II 型糖尿病モデルマウスにおかる A^v アレルによる腫瘍形成促進。第 20 回日本がん予防学会、渋谷(2013 年 7 月 5,6 日)
- 5) 今井俊夫、打屋尚章、藤井 元、武藤倫弘、高橋真美。高脂肪食による乳腺発がん促進に関する発現遺伝子の探索。第 20 回日本がん予防学会、渋谷(2013 年 7 月 5,6 日)
- 6) Michihiro Mutoh, Effects of low-dose aspirin on colorectal tumor recurrence in Japanese population. The 1st World Congress on Controversies in Gastroenterology (cigi), June 13-15, Berlin, Germany
- 7) 藤井 元、中西るり、小宮雅美、高橋真美、志村美聖、野間寛陽、清水聡美、尾沼若奈、武藤倫弘。大腸がん細胞増殖における低密度リポ蛋白受容体の役割。第 24 回日本消化器癌発生学会、金沢(2013 年 9 月 5,6 日)
- 8) 野間寛陽、志村美聖、藤井 元、高橋真美、小宮雅美、中西るり、清水聡美、田沼靖一、武藤倫弘。炭酸脱水素酵素の low-density lipoprotein receptor 欠損マウスにおける腸発がんへの寄与。第 24 回日本消化器癌発生学会、金沢(2013 年 9 月 5,6 日)
- 9) 武藤倫弘、高橋真美、小宮雅美、中西るり、志村美聖、野間寛陽、清水聡美、尾沼若奈、藤井 元。大腸がんにおける脂質代謝異常の関与とその予防。第 24 回日本消化器癌発生学会、金沢(2013 年 9 月 5,6 日)
- 10) 清水聡美、藤井 元、高橋真美、小宮雅美、中西るり、志村美聖、野間寛陽、矢野友啓、武藤倫弘。ゴマ由来成分 sesamol による腸発がん抑制作用の検証。第 24 回日本消化器癌発生学会、金沢(2013 年 9 月 5,6 日)
- 11) 小宮雅美、藤井 元、中西るり、志村美聖、野間寛陽、高橋真美、尾沼若奈、清水聡美、武藤倫弘。マウス腸発がんに対する NADPH oxidase 阻害剤の抑制効果。第 24 回日本消化器癌発生学会、金沢(2013 年 9 月 5,6 日)

- 12) 志村美聖、藤井元、高橋真美、小宮雅美、中西るり、石ヶ守里加子、野間寛陽、田沼靖一、武藤倫弘。Cyclooxygenase-2 の発現と活性を複合阻害することによるマウス腸がん抑制効果。第 24 回日本消化器癌発生学会、金沢(2013 年 9 月 5,6 日)
- 13) 高橋真美、石ヶ守里加子、中西るり、尾沼若奈、小宮雅美、藤井元、武藤倫弘、田中卓二、今井俊夫。A^y アレルによる膵臓がん及び大腸がんの促進におけるマクロファージコロニー刺激因子の関与。第 24 回日本消化器癌発生学会、金沢(2013 年 9 月 5,6 日)
- 14) 武藤倫弘。NADPH oxidase をターゲットとした腸がん抑制。第 28 回発癌病理研究会、沖縄(2013 年 8 月 26-28 日)
- 15) 高橋真美、石ヶ守里加子、尾沼若奈、小宮雅美、藤井元、武藤倫弘、田中卓二、今井俊夫。A^y アレルによる膵臓がん促進に置ける M-CSF の関与。第 72 回日本癌学会総会、横浜(2013 年 10 月 3-5 日)
- 16) 今井俊夫、藤井元、武藤倫弘、高橋真美。若齢期高脂肪食によるラット乳腺がんの促進/進展にたいするライフステージ特異的細胞周期関連遺伝子の発現調節異常の関与。第 72 回日本癌学会総会、横浜(2013 年 10 月 3-5 日)
- 17) 武藤倫弘、小宮雅美、藤井元、高橋真美、志村美聖、野間寛陽、石野孔輔、戸塚ゆ加里、清水聡美、中釜斉。肥満 KK-A^y マウス及び Min マウスの腸がんにおける NADPH oxidase 阻害剤アポサイニンの影響。第 72 回日本癌学会総会、横浜(2013 年 10 月 3-5 日)
- 18) 藤井元、武藤倫弘、小宮雅美、高橋真美、志村美聖、野間寛陽、清水聡美、中釜斉。LDL 受容体遺伝子のノックダウンは大腸がん培養細胞株の増殖を抑制する。第 72 回日本癌学会総会、横浜(2013 年 10 月 3-5 日)
- H. 知的所有権の取得状況
- 1) 特許取得 なし
 - 2) 実用新案登録 なし
 - 3) その他 なし

大腸・舌発がん抑制物質の検索

分担研究者 田中卓二 岐阜大学腫瘍病理学 非常勤講師

研究要旨 ヒスタミンは癌発生・増殖に関与することが知られている。そこで、ヒスタミン受容体をターゲットとした大腸癌化学予防の可能性を探るため、炎症関連大腸発癌モデルを用いて検討した。その結果、大腸腺癌の発生頻度(個数/マウス)は AOM+DSS 群:73% (2.73±3.45)、AOM+DSS+terenadine 群:93% (2.50±1.34)、AOM+DSS+cimetidine 群:33% (0.60±1.12)、AOM+DSS+clobenpropit 群:40% (0.60±0.91)と cimetidine 投与で発生頻度と個数が、clobenpropit で発生個数が AOM+DSS 投与群に比べ有意に($p<0.05$)減少した。以上の結果から、H2 および H3 antagonist は炎症関連大腸発癌に抑制的に作用することが判明した。

A. 研究目的

ヒスタミンは炎症や癌(大腸、乳腺、膵、胃、腎、脳、皮膚など)の発生・増殖に関与することが知られている。細胞内、組織内のヒスタミン量は histidine decarboxylase (HDC)で制御され、その生理学的な機能は少なくとも4つの受容体(H1、H2、H3、H4)を介して発揮される。大腸癌とヒスタミン受容体の関連では、これまでに H1、H2、H4 受容体のアンタゴニストがヒト大腸癌細胞株の増殖を抑制することが報告されている。しかし、in vivo 実験にてヒスタミン受容体アンタゴニストの作用を検討した報告は極めて少なく、相反する結果となっている。そこで、ヒスタミン受容体をターゲットとした大腸癌化学予防の可能性を探るため、H1、H2、H3 受容体アンタゴニストの影響につ

いて炎症関連大腸発癌モデルを用いて検討した。

B. 研究方法

112匹の雄性 ICR マウスを用いた。実験群は AOM (10 mg/kg 体重、単回腹腔内投与)+DSS (1.5% 飲水投与 1 週間)群、AOM+DSS+terenadine (H1 受容体アンタゴニスト、500 ppm)群、AOM+DSS+cimetidine (H2 受容体アンタゴニスト、500 ppm)群、AOM+DSS+clobenpropit (H3 受容体アンタゴニスト、10 ppm)群、terenadine 群、cimetidine 群、clobenpropit 群、無処置群の計 8 群とした。各アンタゴニストは DSS 投与終了 1 週間後より 15 週間、混餌投与とし、実験は 18 週で終了し、大腸の病理学的解析を実施した。

(倫理面への配慮)

動物実験に当たっては岐阜大学動物実験指針に従い、実験動物委員会の承認に基づき行った。動物への発癌物質投与や屠殺時には苦痛を軽減し、動物愛護に十分考慮した。

C. 研究結果

実験終了時における大腸癌の発生頻度(個体当たりの発生個数)はAOM+DSS群: 73% (2.73 ± 3.45)、AOM+DSS+terenadine群: 93% (2.50 ± 1.34)、AOM+DSS+cimetidine群: 33%, $p < 0.05$, (0.60 ± 1.12 , $p < 0.05$)、AOM+DSS+clobenpropit群: 40% (0.60 ± 0.91 , $p < 0.05$)と cimetidine 投与で発生頻度、発生個数が、clobenpropit で発生個数が AOM+DSS 投与群に比べ有意に ($p < 0.05$) 減少した。また、免疫組織化学染色にて、AOM+DSS 投与で誘発された大腸癌およびヒト大腸癌には HDC の高発現を認めた。

D. 考察

ヒスタミンは炎症とともに大腸癌を始めとする癌発症やその増殖に関与することが知られているが、癌との関連は *in vitro* 実験による報告によるものである。今回の *in vivo* 実験の結果から、ヒスタミン受容体、特に H2、H3、H4 受容体をターゲットとした大腸癌の化学予防の可能性を得た。H2 受容体アンタゴニストである cimetidine の *in vivo* 発癌への影響に関しては、抑制 (Eur J

Surg Oncol 1993) と促進 (Br J Cancer 1984) の相反する報告がある。最近、細胞や組織内のヒスタミン量を制御する histidine decarboxylase (HDC) を欠損したマウスでは、炎症関連大腸発癌や皮膚発癌が促進されるという報告がなされた (Nat Med 2011)。この結果は今回の実験結果とは異なるが、ヒスタミン、HDC、ヒスタミン受容体が大腸発癌に関与することを示している。今後は、マウス・ラットに誘発した大腸癌、ヒト大腸癌の H1~H4 の発現、HDC 量を解析するとともに、メカニズム解析を実施し、ヒスタミン受容体、特に H3、H4 のアンタゴニストやアゴニストを利用した大腸癌化学予防の基礎実験を継続したい。

E. 結論

H2 および H3 アンタゴニストは炎症関連大腸発癌に抑制的に作用することが判明した。現在、その機構解析を進めているところである。今回使用した H3 アンタゴニスト clobenpropit は、H3 インバースアゴニスト、H4 アゴニストでもあり、ヒスタミン受容体 H2 に加え、炎症関連大腸発癌には H3、H4 も係っていること、またこれらをターゲットとした発癌抑制の可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yoshimi, K., Tanaka, T., Serikawa, T., Kuramoto, T. Tumor suppressor APC protein is essential in mucosal repair from colonic inflammation through angiogenesis.

Am. J. Pathol., 182 (4): 1263–1274, 2013.

Murakami, A., Furukawa, I., Miyamoto, S., Tanaka, T., Ohigashi, H. Curcumin combined with turmerones, essential oil components of turmeric, abolishes inflammation-associated mouse colon carcinogenesis. *Biofactors*, 39 (2): 221–232, 2013.

Tanaka, T. Introduction for inflammation and cancer. *Semin. Immunopathol.*, 35 (2): 121–122, 2013.

Tanaka, T., Ishikawa, H. Mast cells and inflammation-associated colorectal carcinogenesis. *Semin. Immunopathol.*, 35 (2): 245–254, 2013.

Shimizu, M., Tanaka, T., Moriwaki, H. Obesity and hepatocellular carcinoma; targeting obesity-related inflammation for chemoprevention of liver carcinogenesis. *Semin. Immunopathol.*, 35 (2): 191–202, 2013.

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 (2): 361–369, 2013.

Inoue, H., Maeda-Yamamoto, M., Nesumi, A., Tanaka, T., Murakami, A. Low and medium but not high doses of green tea polyphenols ameliorated dextran sodium sulfate-induced hepatotoxicity and

nephrotoxicity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 77 (9): 1223–1228, 2013.

Nojiri, A., Toyoda, T., Tanaka, T., Yoshida, T., Tatematsu, M., Tsukamoto, T. Inflammation enhanced X-irradiation induced colonic tumorigenesis in the Min mouse. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 14 (7): 4135–4139, 2013.

Kochi, T., Shimizu, M., Ohno, T., Baba, A., Sumi, T., Kubota, M., Shirakami, Y., Tsurumi, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. Enhanced development of azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in hypertensive rats. *Int. J. Mol. Sci.*, 14:14700–14711, 2013.

Yoshida, R., Nagata, M., Nakayama, H., Niimori-Kita, K., Hassan, W., Tanaka, T., Shinohara, M., Ito, T. The pathological significance of Notch1 in oral squamous cell carcinoma. *Lab. Invest.*, 93 (10): 1068–1081, 2013.

Nagano, J., Shimizu, M., Hara, T., Shirakami, Y., Kochi, T., Nakamura, N., Ohtaki, H., Ito, H., Tanaka, T., Tsurumi, H., Saito, K., Seishima, M., Moriwaki, H. Effects of indoleamine 2,3-dioxygenase deficiency on high-fat diet-induced hepatic inflammation. *PLoS One*, 8 (9): e73404, 2013.

Toyoda, T., Tsukamoto, T., Yamamoto, M., Ban, H., Saito, N., Takasu, S., Shi, L., Saito, A., Ito, S., Yamamura, Y., Nishikawa, A., Ogawa, K., Tanaka, T., Tatematsu, M.

Gene expression analysis of a Helicobacter pylori-infected and high-salt diet-treated mouse gastric tumor model: identification of CD177 as a novel prognostic factor in patients with gastric cancer. *BMC Gastroenterol.* 13 (1): 122, 2013.

Tanaka, T. Role of apoptosis in the chemoprevention of cancer. *J. Exp. Clin. Med.*, 5(3): 89-91, 2013.

Tanaka, T., Shimizu, M., Kochi, T., Moriwaki, H. Chemical-induced carcinogenesis. *J. Exp. Clin. Med.*, 5 (6): 203-209, 2013.

Tanaka, T., Sugie, S. Recent advances in pathobiology and histopathological diagnosis of inflammatory bowel disease. *Pathol. Discov.*, 1: 1, 2013.

Niwa, K., Yano, R., Mori, S., Yamaguchi, Y., Narikawa, N., Tanaka, T. Androgenic adult granulose cell tumor with secondary amenorrhea and elevated luteinizing hormone. *Pathol. Discov.*, 1: 9, 2013.

Kochi, T., Shimizu, M., Terakura, D., Baba, A., Ohno, T., Kubota, M., Shirakami, Y., Tsurumi, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. Non-alcoholic steatohepatitis and preneoplastic lesions develop in the liver of obese and hypertensive rats: Suppressing effects of EGCG on the development of liver lesions. *Cancer Lett.*, 342 (1): 60-69, 2014.

Shimizu, M., Kochi, T., Shirakami, Y., Genovese, S., Epifano, F., Fiorito, S., Mori,

Tanaka, T., Moriwaki, H. A newly synthesized compound, 4'-geranyloxyferulic acid-N(omega)-nitro-l-arginine methyl ester suppresses inflammation-associated colorectal carcinogenesis in male mice. *Int. J. Cancer*, in press, 2014.

Ohno, T., Shimizu, M., Baba, A., Kochi, T., Kubota, M., Shirakami, Y., Tsurumi, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. Metformin suppresses diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BL/KsJ-⁺Lepr^{db}/⁺Lepr^{db} mice. *Front. Cancer Endocrinol.*, in press, 2014.

Sumi, T., Shirakami, Y., Shimizu, M., Kochi, T., Ohno, T., Kubota, M., Shiraki, M., Tsurumi, H., Tanaka, T., Moriwaki, H. (-)-Epigallocatechin-3-gallate suppresses hepatic preneoplastic lesions developed in a novel rat model of non-alcoholic steatohepatitis. SpringerPlus, in press, 2014.

2. 学会発表

杉江茂幸、田中卓二:中釜法 PhIP 投与による誘発前立腺がんにおける去勢の修飾作用。第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、つくば、1月31日-2月1日、2013年。

杉江茂幸、坂本寛文、松岡ゆかり、波多野裕一郎、川口順敬、細野芳樹、桐生拓司、田中卓二、市原 周:嚢胞形成性 Solid papillary carcinoma in situ の一例。第 54

回日本臨床細胞学会蔵会(春期大会)、東京、5月31日～6月2日、2013.

田中卓二、塚本徹哉、杉江茂幸:肥満・糖尿病モデル動物 TSOD マウスの4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO)誘発舌・食道発癌感受性。第102回病理学会総会、札幌、6月6～8日、2013年.

杉江茂幸、波多野裕一郎、中嶋早苗、久米 真、田中卓二、加藤 隆弘、福田信宏:大腸癌、腹膜中皮腫重複の1例。第102回病理学会総会、札幌、6月6～8日、2013年.

塚本徹哉、水谷泰嘉、桐山諭和、岡部麻子、熊澤文久、浦野 誠、溝口良順、黒田 誠、田中卓二:
コーヒーおよびその成分によるAOM +DSS誘発マウス大腸発癌抑制効果。第102回病理学会総会、札幌、6月6～8日、2013年.

Takuji Tanaka: Dietary crocin inhibits colitis-associated colorectal carcinogenesis in mice. 8th Asia Pacific Conference on Clinical Nutrition (APCCN2013), Tokyo, June 9-12, 2013.

塚本徹哉、田中卓二:AOM +DSS 誘発マウス大腸発がんに対するコーヒーおよびその成分による抑制効果。第20回日本がん予防学会、東京、7月5～6日、2013.

杉江茂幸、田中卓二:炎症関連マウス大腸発がんにおけるタキシフォリンの修飾効果。第20回日本がん予防学会、東京、7月5～6日、2013.

Takuji Tanaka, Takahiro Kochi,

Takayuki Mori, Masahito Shimizu, Hisataka Moriwaki: 4'-Geranyloxyferulic acid-L-NAME suppresses inflammation-associated colorectal carcinogenesis in mice. 第20回日本がん予防学会、東京、7月5～6日、2013.

清水雅仁、寺倉大志、河内隆宏、白上洋平、田中卓二、森脇久隆:肝および内臓脂肪の炎症制御を介した分岐アミノ酸による肥満・糖尿病関連肝腫瘍形成の抑制。第20回日本がん予防学会ワークショップ1「炎症および障害物質に関連した発がん予防」、東京、7月5～6日、2013.

河内隆宏、清水雅仁、白上洋平、田中卓二、森脇久隆:肥満・糖尿病・高血圧が大腸発癌に及ぼす影響-ACE阻害剤を用いた大腸発癌予防の可能性について-。第20回日本がん予防学会、東京、7月5～6日、2013.

久野壽也、田中卓二、和泉有希乃、伊原由希子、大村弥生、立川優果、館林里菜、原 明:炎症関連 TSOD マウス大腸発癌に対するACE阻害薬enalaprilの修飾効果。第20回日本がん予防学会、東京、7月5～6日、2013.

杉江茂幸、川端邦裕、森 卓之、Nguyen Huu Tung、正山征洋、田中卓二: Crocin による炎症関連マウス大腸発癌の抑制。日本食品化学学会 第19回総会・学術大会、名古屋、8月29～30日、2013.

塚本徹哉、水谷泰嘉、田中卓二:コーヒーとその主成分による azoxymethane +dextran sulfate sodium 誘発マウス大腸発

癌抑制効果の検討。第 24 回日本消化器癌発生学会総会、金沢、平成 25 年 9 月 5～6 日、2013.

高橋真美、石ヶ守里加子、中西るり、尾沼若奈、小宮雅美、藤井 元、武藤倫弘、田中卓二、今井俊夫: A^y アレルによる膵臓発がん及び大腸発がんの促進におけるマクロファージコロニー刺激因子の関与。第 24 回日本消化器癌発生学会総会、金沢、平成 25 年 9 月 5～6 日、2013.

Tsukamoto Tetsuya, Mizutani, Yasuyoshi, Takuji Tanaka: Suppression of azoxymethane + dextran sulfate sodium-induced mouse colon tumorigenesis with coffee and its ingredients. 72nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2013.

Mami Takahashi, Rikako Ishigamori, Masami Komiya, Gen Fujii, Michihiro Mutoh, Takuji Tanaka, Toshio Imai: Involvement of M-CSF in promotion of mouse pancreatic carcinogenesis by A^y allele. 72nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2013.

Masaya Kubota, Hata Kazuya, Masahito Shimizu, Atsushi Baba, Tomohiko Ohno, Takahiro Kochi, Yohei Shirakami, Takuji Tanaka, Hisataka Moriwaki: C57BL/KsJ-*db/db-Apc*^{Min/+} mice are useful model animals for investigating colorectal carcinogenesis associated with

obesity and diabetes. 72nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2013.

Toshiya Kuno, Takuji Tanaka, Manabu Takamatsu, Yuichiro Hatano, Hiroyuki Tomita, Yoshinobu Hirose, Akihiro Hirata, Akira Hara: Deoxycholic acid, secondary bile acid promotes AOM-induced colorectal carcinogenesis in distal colon of mice but not proximal colon. 72nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2013.

Shigeyuki Sugie, Kazuto Yoshimi, Takashi Kuramoto, Takuji Tanaka: KAD rats are susceptible to 4-NQO-induced tongue carcinogenesis. 72nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2013.

Takuji Tanaka, Takahiro Kochi, Masahito Shimizu, Shigeyuki Sugie, Hisataka Moriwaki: 4'-Geranyloxyferulic acid-L-NAME suppresses inflammation-associated colorectal carcinogenesis in mice. 72nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, October 3-5, 2013.

Hikari Okada, Masao Honda, Yoshio Sakai, Taro Yamashita, Takayoshi Shirasaki, Kai Takegoshi, Shuichi Kaneko, Jean S. Campbell, Takuji Tanaka:

Inhibition of micro RNA-214 ameliorates hepatic fibrosis and development of hepatocellular carcinoma in platelet-driven growth factor-C transgenic mice. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (2013 AASLD), Washington, DC, November 1-5, 2013.

Kai Takegoshi, Masao Honda, Hikari Okada, Hajime Sunagozaka, Shuichi Kaneko, Toshinari Takamura, Naoto Matsuzawa, Takuji Tanaka: Branched-chain amino acids improve liver fibrosis and reduce tumorigenesis in mice fed an atherogenic high-fat diet by

suppressing PDGFR-beta/EPK signaling. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (2013 AASLD), Washington, DC, November 1-5, 2013.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

大腸発がん抑制物質の検索

分担研究者 塚本徹哉 藤田保健衛生大学医学部病理診断科 准教授

研究要旨 コーヒーによる大腸発がん予防効果を検討した。C57BL/6J マウスに azoxymethane 投与後、2% dextran sulfate sodium を飲水投与し(A 群: 対照群)、インスタントあるいはフレンチプレスコーヒー (B, C 群)、chlorogenic acid あるいは cafestol (D, E 群)投与群を設け、実験第 8 および 12 週で屠殺した。第 8 週では、C 群で腫瘍体積の有意な低下が見られた。C 群で TNF- α 、iNOS、IL-17A、FoxP3、E 群で FoxP3 mRNA の発現低下が見られ、免疫組織学的にも、E 群で CD3 陽性 T リンパ球の分布の減少が見られた。COX-2 陽性細胞も B~E 群で低下した。Cafestol を含有するフレンチプレスコーヒーが、Th17 経路に関与し大腸発がん抑制に関与した可能性が示唆された。

A. 研究目的

大腸がんとコーヒー摂取に関して疫学的に一日 5 杯以上のコーヒー摂取により大腸がんリスクが有意に低下するという報告がなされている。しかし、ポリフェノールによる抗酸化作用が発がん抑制に有効であるとの報告や、コーヒーが耐糖能の改善に有効であるとの報告があるが、コーヒーやその成分が、生体の代謝や大腸発がん過程をどのように修飾しているかは明らかになっていない。そこで、抽出方法の異なるコーヒーおよび主なコーヒー含有成分を用いて、マウス大腸発がん抑制実験を行い、血清脂質の変化と大腸がん抑制機構の病理組織学的所見の変化を検討した。

B. 研究方法

C57BL/6J (Th1 優位)、BALB/c (Th2 優位)、および ICR マウスを用いた予備的な実験では、C57BL/6J が最も dextran sulfate sodium (DSS)による炎症反応とコーヒーおよびその成分による炎症抑制作用効果が顕著であった。本研究では C57BL/6J 系統を用いて大腸発がん抑制実験を行った検体を用いた。

6 週齢オス C57BL/6J マウスに 10mg/kg 体重のアゾキシメタンおよび 2% dextran sulfate sodium (DSS)を投与した。その後、A 群を対照群とし、インスタントあるいはフレンチプレスコーヒー (B, C 群)、chlorogenic acid (D 群、2500 ppm)あるいは cafestol (E 群、72 ppm)を投与し、実験第 8、12 週で屠殺した。腫瘍数に加えて、背景粘膜の炎症性サイトカイン

等の発現、血清脂質、病理組織学および免疫組織学的検討を行った。一次抗体には、抗 CD3 抗体 (Dako)、抗 CD45R/B220 抗体 (BD Pharmingen)、抗 cyclooxygenase-2 (COX-2) 抗体 (Cayman Chemical)、抗 γ -H2AX 抗体 (Cell Signaling Technology) を、二次抗体は抗 rabbit あるいは rat 抗体 (Vector) を用い、Ventana I-VIEW DAB ユニバーサルキット (Roche Diagnostics) にて発色を行った。

血清総 cholesterol, LDL-cholesterol, 中性脂肪の計測は SRL 社に委託した。

統計解析は Graphpad Prism, ver. 5 を用い、 $P < 0.05$ を有意とした。

(倫理面への配慮)

動物実験は、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針 (平成 18 年 6 月文部科学省告示) 及び藤田保健衛生大学動物実験取扱規定を遵守し、同大学動物実験委員会の承認のもとに遂行した (承認番号: M2131)。

C. 研究結果

第 8 週屠殺時には、A 群に比して、B~E 群で大腸腫瘍発生数の有意な減少 ($P < 0.05$)、C 群で腫瘍体積の低下 ($P < 0.05$) が見られた。また、C 群で TNF- α 、iNOS、IL-17A、FoxP3 mRNA が低下した ($P < 0.02$)。

血清脂質は、第 8 週 A 群の総 cholesterol 値 84.4 ± 7.0 (mean \pm SD) mg/dl に対して B~E 群では、 72.8 ± 5.5 、 66.4 ± 3.3 、 86.4 ± 6.1 、 81.4 ± 3.6 と、C 群で有意な低下が見られた (Kruskal-Wallis test, Dunn's multiple comparison test, $P < 0.05$)、12 週で

は、A~E 群それぞれ 88.8 ± 10.9 、 66.6 ± 6.6 、 74.2 ± 8.1 、 90.8 ± 6.6 、 88.1 ± 5.9 と、A 群に比して B、C 群で有意に低下した (それぞれ $P < 0.0005$ 、 $P < 0.0005$)。LDL-cholesterol は、8 週の A~E 群の値は、 9.6 ± 1.5 、 10.2 ± 2.8 、 8.0 ± 1.0 、 8.8 ± 1.3 、 7.8 ± 1.1 と各群間に有意な差は得られなかったが、12 週では、A 群の 10.8 ± 1.7 に対して B~E 群で 7.8 ± 1.2 、 8.7 ± 2.7 、 12.3 ± 2.5 、 10.0 ± 1.3 と B、C 群で有意に低下した ($P < 0.0001$ 、 $P < 0.001$)。

中性脂肪は、第 8 週 A~E 群それぞれ、 94.0 ± 8.7 、 59.6 ± 28.3 、 70.4 ± 13.3 、 112.4 ± 20.3 、 96.6 ± 21.5 と、B、C 群で有意な低下が見られた (Kruskal-Wallis test, $P < 0.005$)。12 週では、A~E 群それぞれ、 94.5 ± 20.1 、 70.6 ± 10.1 、 77.7 ± 24.0 、 125.7 ± 32.6 、 90.0 ± 18.7 と B 群で有意に低下した ($P < 0.005$)。

組織学的には、CD3 免疫染色陽性 T リンパ球は、広くびまん性に腫瘍間質に存在し、その浸潤の程度を軽度から高度まで 0-3 にスコアリングして検討した結果、A 群平均スコア 2.6 ± 0.5 (mean \pm SD) に対して、B~E 群では 2.0 ± 0.7 、 1.4 ± 0.5 、 1.8 ± 0.8 、 1.2 ± 0.4 と E 群で有意な低下が見られた ($P < 0.05$)。一方、B リンパ球は、腫瘍組織内のリンパ濾胞に一致して局在していた。

腫瘍内において COX-2 陽性細胞を定量的に検討した結果、高倍視野 (対物レンズ 40 倍視野) 当たりの COX-2 陽性細胞は、A~E 群でそれぞれ、 109.0 ± 55.5 、 28.6 ± 23.7 、 19.0 ± 25.1 、 37.0 ± 43.4 、 27.4 ± 33.1 cells/HPF (high power field) と B~E 群で低下していた (Kruskal-Wallis test, $P < 0.05$)。

リン酸化ヒストンであるg-H2AX は、細胞内の DNA 損傷に応じて発現の増加が知られている。各群において、腫瘍内のg-H2AX陽性細胞数を検討した結果、A～E 群それぞれ、 109.0 ± 55.5 , 28.6 ± 23.7 , 19.0 ± 25.1 , 37.0 ± 43.4 , 27.4 ± 33.1 とA群が高値であったが、計測した範囲では有意な差は確認できなかった。

D. 考察

大腸がんは、胃がん、肺がんとともに高い死亡率を示している。発がんの促進に間質の炎症細胞が重要な役割を果たしていることが知られているが、その発がん促進機構は十分解明されているとは言えない。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 に分化するが、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)による腫瘍発生への影響と炎症反応抑制効果を検討した。また、メタボリックシンドロームと発がんとの関連も注目されており、コーヒーによる脂質代謝への影響も同時に検討した。

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。炎症関連マーカーの発現をみるとC群でTreg細胞の転写因子であるFoxP3の有意な低下、E群でTNF- α 、iNOS、Th17細胞のマーカーであるIL-17A、FoxP3の低下が見られた。

組織学的には、CD3陽性のTリンパ球は、

A 群で最も多く分布しており、B～E 群では全体に減少傾向にあったが、E 群では有意な減少であった。ヘルパーT細胞の各サブセットであるTh1、Th2、Th17、Tregの分布は免疫組織学的には確認できなかったが、定量的RT-PCRの結果からは、IL-17AやFoxP3の発現低下が見られていることから、TregやTh17経路が抑制された可能性が考えられた。潰瘍性大腸炎でTh17経路の重要性が報告されていることから、今後Th17経路に焦点を当てて検討する必要性が示唆された。

一方で、Chlorogenic acidのような抗酸化物質による非特異的な抗炎症作用が期待されたが、明らかな有効性は検証できなかった。

COX-2やg-H2AXの発現を検討した結果では、A群に比してB～E群とも減少が観察されたが、今後詳細な検討が必要と考えられた。

血清脂質の検討では、インスタントコーヒーあるいはフレンチプレスコーヒー飲水をしたB、C群で、総コレステロール、LDL-コレステロール、中性脂肪値の減少が観察された。しかし、D、E群では明らかな変化が見られなかったため、コーヒー成分の複合的な効果、あるいは、他の成分が血清脂質に影響している可能性が示唆された。

E. 結論

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。AOM+DSS大腸発がん系に対する実験第8週の検討では、A群に比して、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認められた。炎症性サイトカインあるいは炎症関連マーカーの発現をみるとC群でFoxP3 mRNAの有意な低下、E群でTNF- α 、iNOS、IL-17A、FoxP3 mRNAの低下が見られた。また、組織学的にも、E群でCD3陽性Tリンパ球の減少が見られた。以上より、フレンチプレスコーヒーに含まれるcafestolなどのコーヒーオイル成分が、Th17経路を介して炎症抑制効果を発揮して発がん抑制的に働いた可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fang, J., Seki, T., Tsukamoto, T., Qin, H., Yin, H., Liao, L., Nakamura, H., Maeda, H. Protection from inflammatory bowel disease and colitis-associated carcinogenesis with 4-vinyl-2,6-dimethoxyphenol (canolol) involves suppression of oxidative stress and inflammatory cytokines. *Carcinogenesis* 34: 2833-2841, 2013.
- 2) Nojiri, A., Toyoda, T., Tanaka, T., Yoshida, T., Tatematsu, M., Tsukamoto, T. Inflammation enhanced X-irradiation-induced colonic tumorigenesis in the Min mouse. *Asian Pac J Cancer Prev* 14: 4135-4139, 2013.
- 3) Toyoda, T., Tsukamoto, T. (equal contributors), Yamamoto, M., Ban, H., Saito, N., Takasu, S., Shi, L., Saito, A., Ito, S., Yamamura, Y., Nishikawa, A., Ogawa, K., Tanaka, T., Tatematsu, M.

Gene expression analysis of a Helicobacter pylori-infected and high-salt diet-treated mouse gastric tumor model: identification of CD177 as a novel prognostic factor in patients with gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 13: 122, 2013.

- 4) Tsukamoto, T., Toyoda, T., Mizoshita, T., Tatematsu, M. Helicobacter pylori infection and gastric carcinogenesis in rodent models. *Semin Immunopathol* 35: 177-190, 2013.

2. 学会発表

- 1) 塚本徹哉、田中卓二、AOM +DSS 誘発マウス大腸発がんに対するコーヒーおよびその成分による抑制効果、第20回日本がん予防学会、2013年7月、東京
- 2) Tsukamoto, T., Mizutani, Y., and Tanaka, T., Suppression of azoxymethane + dextran sulfate sodium-induced mouse colon tumorigenesis with coffee and its ingredients, The 72nd Annual meeting of the Japanese cancer association, Oct. 2013, Yokohama

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

RAS阻害剤のAOM誘導大腸発癌に対する抑制効果の検討

分担研究者 氏名 高山哲治 所属 徳島大学 職名 教授

研究要旨 Azoxymethane (AOM)誘導ラット大腸発癌モデルに RAS 阻害剤である manumycin A を投与したところ、8 週後の aberrant crypt foci (ACF)及び 24 週後のポリープ(癌)の数はいずれも有意に抑制された。同様に、経口 RAS 阻害剤である salirasib を同モデルに投与したところ、ACF 数及びポリープ(癌)数はいずれも有意に抑制された。

Manumycin A を投与したラットの ACF 組織では、リン酸化 MEK や ERK の発現低下が認められ、RAS/RAF/MEK/ERK 経路を介した細胞増殖の抑制が明らかとなった。一方、我々はこれまで thymidine phosphorylase (TP)特異的阻害剤が dextran sulfate sodium(DSS)誘導炎症性腸疾患モデルにおいて抗炎症作用を有することを見出している。そこで、DSS/AOM 炎症性腸疾患発癌モデルに TP 特異的阻害剤を投与したところ、24 週後の腫瘍数が容量依存的に抑制され、TP 阻害剤が抗炎症作用のみならず発癌に対する抑制効果を有することが明らかとなった。

A. 研究目的

本研究では、azoxymethane(AOM)誘導ラット大腸発癌モデルを用いて、RAS 特異的阻害剤である manumycin A や salirasib の大腸発癌に対する抑制効果とその機序を検討した。また、Dextran Sulfate Sodium (DSS)と AOM によるマウス炎症性腸疾患発癌モデルを用いて、thymidine phosphorylase(TP)特異的阻害剤の炎症性発癌に対する抑制効果とその機序を検討した。

B. 研究方法

AOM 処理したラットに manumycin A(腹腔

内投与)または salirasib (経口投与)を投与し、8 週後に ACF 数を調べ、24 週後にポリープ(癌)の数を検討した。一方、DSS と AOM を投与したマウスに TP 特異的阻害剤である 6-(2-aminoethyl) amino-5-chlorouracil(AEAC)を投与し、24 週後にマウスを屠殺してポリープ(癌)の数を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、動物実験等の実施に関する基本指針(平成18年6月1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知)、および徳島大学における動物実験の指針を遵守して行われた。また、あらかじめ徳島大学

動物実験施設長の承認を得て行われた。

C. 研究結果

Manumycin A を投与した AOM 処理ラットにおける ACF 数は 72.9 ± 20.1 個(/匹)であり、対照群(155.6 ± 56.7 個(/匹))に比べて有意に減少した ($p < 0.01$)。同様に、manumycin A 投与ラットのポリープ数は 0.6 ± 1.3 個(/匹)であり、対照群(2.2 ± 2.1 個(/匹))に比べて有意に減少した ($p < 0.05$)。また、salirasib 投与ラットにおけるポリープ数は 0.8 ± 1.4 個(/匹)であり、対照群(2.4 ± 2.8 個(/匹))に比べて有意に減少した ($p < 0.05$)。機序の検討において、manumycin A 投与群ではリン酸化 ERK の発現が有意に抑制され、逆に TUNEL 陽性細胞が有意に増加していた。一方、TP 阻害剤である AEAC を投与した DSS/AOM マウスにおけるポリープ数は 1.4 ± 1.1 個(/匹)であり、対照群(3.6 ± 1.7 個(/匹))に比べて有意に抑制された。

D. 考察

本研究により、manumycin A や salirasib などの RAS 阻害剤が大腸癌の予防薬になり得ることが示唆された。Salirasib のような経口 RAS 阻害剤はとくに予防薬として適しており、今後の臨床応用に向けた研究が期待される。また、RAS 阻害剤の発癌予防機序の一つとして、RAF/MEK/ERK 経路のシグナル伝達の阻害が明らかになった。このことは、RAS 阻害剤のみならず、RAF 阻害剤や MEK 阻害剤も大腸癌予防薬になり得ることを示唆している。一方、潰瘍性

大腸炎においては、その高い発癌リスクが問題となっている。本研究で用いた TP 阻害剤は、我々が以前、DSS を用いた潰瘍性大腸炎モデルの炎症を抑制することを示している。従って、TP 選択的阻害剤が炎症を抑制するのみならず、発癌も抑制することが明らかとなった。

E. 結論

AOM 誘導動物発癌モデルを用いて、manumycin A や salirasib などの RAS 阻害剤の大腸発癌に対する抑制効果が示された。その機序の一つとしては、RAF/MEK/ERK 経路のシグナル伝達の阻害が明らかになった。一方、DSS/AOM 誘導潰瘍性大腸炎発癌動物モデルを用いて、TP 選択的阻害剤の発癌抑制効果が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1)Ishikawa H, Mutoh M, Suzuki S, Tokudome S, Saida Y, Abe T, Okamura S, Tajika M, Joh T, Tanaka S, Kudo S, Matsuda T, Iimuro M, Yukawa T, Takayama T, Sato Y, Lee K, Kitamura S, Mizuno M, Sano Y, Gondo N, Sugimoto K, Kusunoki M, Goto C, Matsuura N, Sakai T, Wakabayashi K. The preventive effects of low-dose enteric-coated aspirin tablets on the development of colorectal tumours in Asian patients: a randomised trial. Gut. in press (2014).

2)Tsuda M, Okamoto K, Muguruma N, Sannomiya K, Nakagawa T, Miyamoto H, Kitamura S, Goji T, Kimura T, Okahisa T, Izumi K, Takayama T. Suppressive effect of RAS inhibitor manumycin A on aberrant crypt foci formation in the azoxymethane-induced rat colorectal carcinogenesis model. J Gastroenterol Hepatol 28:1616-23 (2013).

2. 学会発表

Kimura T, Muguruma N, Takayama T. Suppressive effect of the farnesyltransferase inhibitor for aberrant

crypt foci as a precursor of colorectal cancer. 第 56 回日本消化器病学会大会 Sep 23-24, 2014 (神戸).

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。

研究要旨 これまでに家族性大腸腺腫症患者を対象とした二重盲検無作為割付臨床試験において、アスピリンは大腸腺腫を縮小する可能性を示した。石川がこれまでに実施してきた手術拒否例における大腸腺腫の内視鏡的徹底的摘除のパイロット的試みにおいて、腺腫の徹底的摘除により大腸癌の発生が予防できる可能性が示唆されたため、多施設研究において内視鏡的徹底的摘除を実施する試験を開始した。エントリー後に、アスピリンや 5-aminosalicylic acid 製剤などの化学予防物質を組み合わせる二重盲検無作為割付臨床試験を開始する予定である。

A. 研究目的

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

家族性大腸腺腫症は、これまで大腸を全て摘除することが唯一の大腸癌の予防法であった。大腸を全摘すると、頻回の下痢などにより患者の生活の質(QOL)は著しく低下する。手術を避けるために、腺腫の増大を候補物質で抑制し、その後に発生する大腸癌を予防する化学予防の研究が進められている。

そこで私たちは、家族性大腸腺腫症患者を対象に低用量アスピリン腸溶錠(1錠100mg/day)による大腸腺腫予防効果を二

重盲検無作為割付臨床試験にて評価する研究を実施した。その結果、アスピリンは大腸腺腫を縮小する可能性が示された。

これまでも大腸全摘を拒否した患者に対して、次善の策として早期大腸癌や比較的大きな大腸腺腫を内視鏡的に摘除して経過をみることを手探りで行われてきた。内視鏡機器の進歩によりかなり安全に多数の大腸ポリープを摘除することが可能となったため、本研究の責任者である石川は、手術拒否FAP患者に対して、これまでも積極的に内視鏡により大腸腺腫を摘除してきた。1986年から2012年までに、手術を希望しない113人の患者に対して、頻回の大腸内視鏡検査により多数の大腸ポリープを摘除して経過観察しているが、これまでに内視鏡的に摘除困難な大腸癌の発生は