

認めていない。また、内視鏡的摘除により穿孔や、輸血や緊急手術を要するような出血を経験していない。このことより、大腸腺腫を内視鏡的に徹底的に摘除することは比較的安全であり、さらに手術を回避できたり、遅らせることができたりする可能性が期待された。

そこで、本班研究では、内視鏡的ポリープ徹底的摘除と化学予防を組み合わせた家族性大腸腺腫症に対する大腸発癌防研究を行うこととした。

## B. 研究方法

対象者条件 16 歳以上の家族性大腸腺腫症である。大腸を手術していない者、または、大腸の一部を手術したが大腸は 10cm 以上残存している者である。

試験方法は単一介入研究であり、下記の手順に従い、徹底的に大腸腺腫を内視鏡的に摘除する。密生型に移行したり、腸管の癒着などで内視鏡観察が困難になったりすることにより、内視鏡での経過観察が困難になった場合は、強く手術を受けることを勧める。追跡期間は 5 年である。

### 内視鏡検査および治療手順

大腸に 1cm 以上のポリープを認める場合、4ヶ月以内の間隔にて 1cm を越える大きなポリープをすべて摘除する。1cm 以上の病変は原則的としてすべて回収し病理診断を行う。1cm 以上のポリープがなくなれば、1cm 未満のポリープをできるだけ多数摘除する。癌を疑う病変は回収し病理検査をおこなうが、すべての病変の病理検査は必要としない。5mm 未満のポリープも可能な範囲で摘除を心がける。5mm 以上のポリープ

をすべて摘除できたと考えた場合、検査間隔を 4ヶ月以上あけても良いが、1年以上は間隔をあげないこととする。経過観察中の内視鏡検査では、5mm 以上のポリープはすべて摘除し、5mm 未満のポリープも可能な限り摘除するよう心がける。5mm 以上のポリープが残ったと考える時には、次回の間隔を 4ヶ月以内とする。

アスピリンやスリダク、ニメスリドなどの非ステロイド系抗炎症剤 (NSAIDs)、乳酸菌製剤やビタミン剤、いわゆる健康食品のサプリメントなどの摂取は制限しないが、服用状況は把握する。エントリーがある程度進んだ時点で、エントリー者の中で同意を得た者に対して、アスピリンの長期間投与試験を行うこととする。

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、大腸癌死、それ以外の死亡)、大腸発癌、粘膜内癌、内視鏡的治療困難腫瘍の有無である。

目標参加者数は 200 名である。

### (倫理面への配慮)

本研究は、厚生労働省や関連学会等が示す指針に従って実施する。参加施設はすべて各施設の倫理委員会の承認を得てから試験を開始する。参加呼びかけは面接により行い、インフォームドコンセントを得た場合、書面により記録を残す。参加を拒否しても一切の不利益を受けないこと、いつでも参加同意を取り消す権利を持つことなどを説明する。すべての個人情報や研究データは厳重な管理のもとに置き、守秘を徹底する。

### C. 研究結果

京都府立医科大学倫理審査委員会において本試験プロトコールは審査され、2012年9月26日に承認が得られ、UMINへの登録の後、2012年11月24日よりエントリーが開始された。

現在までに20施設にて総数177人がエントリーされている。

### D. 考察

大腸内視鏡検査の普及により大腸に腺腫の多発する患者が多く診断されるようになってきた。併せて、内視鏡的治療技術の向上により、かなり多数の腺腫の摘除が可能となり、一般臨床の場において、多数の大腸腺腫を摘除する機会が増えてきている。

以前には家族性大腸腺腫症 (familial adenomatous polyposis: FAP) 患者は大腸癌を発症したり、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。しかし、大腸癌検診の普及などにより大腸内視鏡検査の受検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。

このような背景から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癌の発生が予防できて大

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。

石川は、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、これまで内視鏡的治療が困難な大腸癌は認めていない。ただし、この結果は1人の内視鏡医による1施設での成績であるので、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、同様の成績が得られるか否かを検討することが必要と考え、本研究を行うこととした。

本試験のエントリーが順調に行われたのちに、アスピリンなどの化学予防物質を組み合わせた大腸癌予防試験を実施する予定である。

### E. 結論

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介入研究を行い、さらに大腸癌予防効果を高めるために、その集団に対してアスピリンなどの化学物質を用いた臨床試験を実施する予定である。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) 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).
- 2) Yao, K., Iwashita, A., Nambu, M., Tanabe, H., Nagahama, T., Maki, S., Ishikawa, H., Matsui, T., Enjoji, M. The 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).
- 3) 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).
- 4) 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).
- 5) 石川秀樹。消化器内視鏡における臨床試験デザインの考え方。 *消化器内科*。 **27**、711-714(2012)。
- 6) 石川秀樹。大腸がん化学予防介入試験ーアスピリンを中心に。 *医学のあゆみ*。 **241**、411-415(2012)。
- 7) Tanaka, T., Ishikawa, H. Mast cell and inflammation-associated colorectal carcinogenesis. *Semin Immunopathol*. **35**, 245-254 (2012).
- 8) 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 Medicine*. **In-press** (2012).
- 9) Ishikawa, H., Goyo, 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 Artepillin C-Rich Extract of Brazilian Propolis in Frequent Colorectal Adenoma Polyp Patients. *J Am Coll Nutr*. **31**, 327-337 (2012).
- 10) 角川康夫、斎藤 豊、斎藤彰一、渡辺憲治、大宮直木、村野実之、岡 志郎、相原弘之、倉本貴典、能田貞治、松本美野里、荒川哲男、後藤秀実、樋口和秀、田中信治、石川秀樹、田尻久雄。カプセル内視鏡の現状と将来。 *胃と腸*。 **48**、493-498(2012)。
- 11) 石川秀樹。遺伝子異常と癌の多様性 癌家系をめぐる諸問題。 *臨床と研究*。 **90**、49(2013)。
- 12) 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. *Surgical endoscopy*. In-press (2013).

- 13) 石川秀樹。家族性大腸腺腫症に対するアスピリンによる大腸癌化学予防。家族性腫瘍。13、28-31(2013)。

## 2. 学会発表

- 1) 石川秀樹、J-FAPP Study IIグループ。S2-5 家族性大腸腺腫症に対するアスピリンによる大腸癌予防のための化学予防。第 18 回日本家族性腫瘍学会学術集会シンポジウム、大阪(2012 年 6 月)
- 2) 中島建、石川秀樹、菅野康吉、榎藤延久、阿部孝、石黒信吾、斎藤豊、酒井敏行。S1-3 リンチ症候群患者の大腸腫瘍性病変の発育は速い。第 18 回日本家族性腫瘍学会学術集会シンポジウム、大阪(2012 年 6 月)
- 3) 柚木崎紘司、石川秀樹、野田雅史、塚本潔、久野隆史、山岸大介、山崎之良、奥順介、田村公佑、李兆亮、志村陽子、川添智太郎、金鏞民、阿部孝。O-22 FAP の一卵性双生児の術後回腸嚢に腺癌を発症した一症例。第 18 回日本家族性腫瘍学会学術集会口演、大阪(2012 年 6 月)
- 4) 小林容子、土井悟、武田祐子、上野いづみ、川崎優子、石川秀樹、岩間毅夫。

O-31 家族性大腸腺腫症の医療費対策に関する活動。第 18 回日本家族性腫瘍学会学術集会口演、大阪(2012 年 6 月)

- 5) 石川秀樹。S10-2 無作為割付臨床試験による大腸癌予防研究。第 12 回日本抗加齢医学会総会シンポジウム、横浜(2012 年 6 月)
- 6) 石川秀樹。臨床試験データセンターの取り組みについて。Gastrointestinal cancer conference 講演、東京(2012 年 8 月)
- 7) 石川秀樹。大腸癌の発癌予防。第 22 回日本消化器病学会四国支部教育講演会講演、徳島(2012 年 9 月)
- 8) 石川秀樹。5 遺伝性大腸腫瘍と遺伝カウンセリング。第 54 回日本内科学会東海支部主催生涯教育講演会講演、名古屋(2012 年 10 月)
- 9) 石川秀樹。大腸癌予防。大阪市中央区薬剤師会講演講演、大阪(2012 年 11 月)
- 10) 石川秀樹。大腸癌はなぜ増えたのか、予防は可能なのか。東京がん化学療法研究会講演、東京(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。

大腸ポリープ患者に対する発癌予防臨床試験

分担研究者 鈴木貞夫 名古屋市立大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 教授

研究要旨 大腸癌化学予防薬の開発のために低用量アスピリン腸溶錠(100mg/day)を用いた多施設二重盲検無作為割付臨床試験を実施した。対象は大腸腫瘍(腺腫または大腸粘膜内癌)患者である。試験薬は2年間投与する。主エンドポイントは、2年目の大腸内視鏡検査における大腸腫瘍の発生の有無とする。490人へ参加を呼び掛け 389人(79%)が参加同意、そのうち311人が2年目の大腸内視鏡検査を受けた。アスピリン群152人中96人、プラシーボ群159人中86人は2年間に大腸腫瘍の発生を認めなかった。年齢、性、エントリー前の大腸腫瘍数で補正したオッズ比(95%信頼区間)は0.60(0.36-0.98)であり、アスピリンは有意に大腸腫瘍の発生を抑制することが示された。

喫煙の有無で層別化した解析では、現在非喫煙者(禁煙者を含む)ではオッズ比(95%信頼区間)は0.37(0.20-0.66)と有意にアスピリンが大腸腫瘍の発生を抑制したが、現在喫煙者では2.43(0.89-6.60)と逆に促進する傾向がみられた。飲酒の有無で層別化した解析では、ほとんど飲酒しない者(週2回以下)ではオッズ比(95%信頼区間)は0.44(0.21-0.94)と有意にアスピリンが大腸腫瘍の発生を抑制した。

A. 研究目的

本邦では大腸癌の罹患が急激に増加しているため、大腸癌発生を予防する方法の開発が急務である。これまで、われわれは食生活指導、食品成分の投与などによる臨床試験を行い、多くの大腸癌予防に関する知見を得てきたが、それらによる予防効果は比較的軽度である。そこで今回は、低用量アスピリン腸溶錠を用いたより強力な大腸癌予防法の開発するために臨床試験を実施することにした。

B. 研究方法

対象者は、組織診断で確診された大腸腫

瘍(粘膜内癌・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者である。他の条件として、大腸腫瘍の内視鏡的治療歴がすべて判明していること、全大腸内視鏡検査を2回以上受けて全大腸のクリーンコロンを3カ月以内に確認していること、40歳以上、70歳以下である。

除外基準は、粘膜下浸潤(sm)以深の大腸癌の既往、抗凝固剤、抗血栓剤を服用中、脳卒中(一過性脳虚血発作:TIAを含む)の既往、大腸切除者(虫垂切除を除く)、家族性大腸腺腫症、胃潰瘍、十二指腸潰瘍の治療既往、炎症性腸疾患(潰瘍性大腸炎、クローン病)、出血性憩室炎、高度

の出血性胃炎などの易出血性疾患の合併、出血傾向(血小板数10万以下、PT 異常値)、癌保有、抗癌剤服用、アスピリンアレルギーの既往、妊娠中及び試験期間中に妊娠予定、非ステロイド系抗炎症剤(NSAIDs)を週3回以上服用しているものである。

参加呼びかけは、各施設の試験担当者が、面談により対象者本人へ試験内容を詳しく説明する。対象者がこれらの試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加を依頼する。対象者が試験参加に同意した場合は、説明文書に自署による署名を得る。

試験手順は下記の通りである。

- 1)各施設にて条件に合致した者を診察した場合、「参加者情報カード」のチェックリストを用いて、適格か否かを判断する。
- 2)適格条件を満たした場合、対象者に本試験を説明し、参加同意を得る。
- 3)参加時ケースカードに必要事項を記入する。
- 4)参加者情報を試験統計家に連絡し、割付番号を受ける。
- 5)割付番号の記載された試験薬を3カ月から6カ月分手渡す。
- 6)参加者は、1カ月毎に服用日誌と服用後PTPシートを事務局に郵送する。
- 7)定期的に受診し、次回受診日までの試験薬を手渡す。
- 8)2年目に大腸内視鏡検査を行う。

割り付けは、施設、性、年齢(60歳未満・60歳以上)を割付因子とした層別化ブロッ

クランダム法を採用する。試験統計家(鈴木貞夫:名古屋市立大学)が症例の登録、割付を管理する。

有害事象が発生した場合、その都度、主治医は『有害事象報告書』に必要事項を記入し、事務局にFAXする。事務局は追加事項を記入の上、FAXを試験統計家に転送する。試験統計家は割付内容を記載する。有害事象がきわめて本研究において重大であると考えられたとき、または有害事象の発生の偏りが、両群共に等しいという仮説を20%以下の危険率で棄却された場合、試験統計家は倫理モニタリング委員会委員長に直ちに報告する。倫理モニタリング委員会委員長は倫理モニタリング委員会を至急開催し、協議を行う。

参加者が試験の中止を希望した場合は、中止とする。ただし、参加者本人の意思による本試験参加への同意撤回により試験薬の服用を中止した場合でも、参加者の了解が得られればintent to treat (ITT) 解析を行うために大腸内視鏡検査は実施する。

試験データの使用や2年目の大腸内視鏡検査受検を参加者が了解しなかった場合のみ中断とし、ITT解析には含めない。

追跡調査として、2年目の大腸内視鏡検査が終了後、その後2年から3年後に大腸内視鏡検査を実施して、その結果を把握する。その大腸内視鏡検査までは、アスピリンの服用はしないように指導する。その後も参加者の了解が得られれば、可能な限り大腸内視鏡検査結果を把握する。

使用する試験薬は、アスピリン (100mg/day) 腸溶錠またはプラシーボ錠である。登録の実務はデータセンターにて行う。

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。

エントリー時に、血液検査(PT、末梢血球数、AST、ALT、 $\gamma$  GTP、尿酸、T-Chol、HDL-Chol、中性脂肪)、食事調査(FFQ)、生活習慣アンケートを行う。

1年目、2年目に服用内容認識の確認と採血による貧血確認を行う。

低用量アスピリン腸溶錠による有害事象は消化管粘膜傷害(胃痛、胃部不快感、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、小腸潰瘍)や出血傾向に起因する疾患(脳出血、吐血、下血、貧血)などが考えられる。重大な副作用(頻度不明)としてショック、出血、皮膚粘膜眼症候群、再生不良性貧血、喘息発作などが考えられる。

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(腺腫、癌)の発生の有無である。副エンドポイントは、試験期間内の有害事象発生率、他臓器癌の発生の有無、2年目の大腸内視鏡検査における新たな大腸腫瘍の大きさ・個数・組織(異型度、絨毛状腺腫成分の有無)、介入後2~3年後の大腸腫瘍発生状況、直腸粘膜の ACF 数、S 状結腸粘膜の大腸癌関連蛋白の mRNA 発現程度である。

700名の試験参加を目標とする。参加者数算定の根拠は下記の通りである。プラシーボ群の2年目の腫瘍発生率を過去の報告から25%とし、アスピリンの投与によりポリープの発生減少率を60%とした場合、両側有意水準5%の検定を実施したとき、80%の検出力を確保することができるのは、1群当たり、250人である。

研究組織と各施設の参加予定人数は、阿部孝(大阪警察病院;36人)、水野元夫(広島市民病院;30人)、岡村正造(豊橋市民病院;40人)、小西尚巳(三重県立総合病院;5人)、楠正人(三重大学消化器外科;5人)、斉田芳久(東邦鎌谷病院;40人)、田近正洋(愛知がんセンター;40人)、工藤進英(昭和大学横浜市北部病院;30人)、平田敬治(産業医科大学;18人)、田中信治(広島大学病院;30人)、権藤延久(木村病院;40人)、山村誠(神戸掖済会病院;10人)、飯室正樹(東住吉森本病院;40人)、李喬遠(守口敬任会病院;10人)、小澤平太(北里大学医学部外科;10人)、佐々木誠人・城卓志(名古屋市立大学臨床機能内科;20人)、北村信次(市立堺病院;30人)、辻井正彦(大阪大学医学部消化器内科;10人)松田尚久(国立がんセンター中央病院;40人)、佐野寧(佐野病院;40人)、杉本憲治(杉本憲治クリニック;20人)、高山哲治(札幌医科大学第4内科;60人)、石川秀樹(大阪中央病院;200人)である。

運営委員は、若林敬二、徳留信寛、酒井敏行、松浦成昭、試験統計家は、鈴木貞

夫、データセンターは大谷透(メディカル・リサーチ・サポート)である。

本試験のために独立して倫理モニタリング委員会(竹下達也(和歌山県立医科大学公衆衛生学;委員長)、若林直樹(京都市立医科大学)、平栗勲(弁護士)、辻直子(近畿大学堺病院消化器内科)を設置した。

(倫理面への配慮)

本研究は、厚生労働省や関連学会等が示す指針に従って実施する。参加施設はすべて各施設の倫理委員会の承認を得てから試験を開始する。参加呼びかけは面接により行い、インフォームドコンセントを得た場合、書面により記録を残す。参加を拒否しても一切の不利益を受けないこと、いつでも参加同意を取り消す権利を持つことなどを説明する。本試験研究者と独立した倫理モニタリング委員会を設置し、試験の進捗をモニターするシステムを整える。

試験参加者の個人情報(名前、住所、電話番号、通院施設、試験開始日時、個人連絡用登録番号)は、試験精度維持のため、京都市立医科大学分子標的癌予防医学大阪研究室内に設置された事務局で管理するが、秘密保持のために十分な配慮を行う。具体的には、個人情報保護のため、参加者の個人情報にアクセスできる担当者を限定し、立ち入りが限定される部屋の鍵のかかるキャビネットに資料は保管され、データはインターネットとつながらないコンピューターのみに保存する。個人情報を含む文書等は、必ず封書による郵便を用い、

FAX、E-mail は用いない。

### C. 研究結果

全体会議によりプロトコールを作成し、倫理モニタリング委員会に申請、承認を得て、参加施設の倫理委員会に申請を行った。

試験薬(低用量アスピリン腸溶錠、プラシーボ)はドイツのバイエル本社より輸入し、1シート 31 錠のカレンダー型PTP両面アルミ包装を行い、試験統計家により割付内容を匿名化して封印した。

倫理委員会の承認の得られた施設より参加呼びかけが開始された。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。490 人に参加を呼び掛け 389 人(79%)が参加同意し、エントリーは終了とした。

エントリー参加者のうちポリープが多数ありすべてのポリープの摘除ができなかった者 1 人、71 歳以上 1 人、40 歳未満 3 人の 5 人をプロトコール違反として除いた。73 人は 2 年目の大腸内視鏡検査を受けなかった。その結果、311 人が 2 年目の大腸内視鏡検査を受けて試験は完遂した。

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、スティーブンス・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。

全データをエクセルに入力し、倫理モニ



タリング委員会に提出することによりデータ固定を行った後に、臨床試験統計家によりキーオープンされた。

2 群間で年齢、性別、飲酒、喫煙状況、身長、体重、エントリー前の腫瘍摘除数、大腸癌既往者数、大腸癌家族歴、介入期間、試験薬服用状況に差を認めなかった。

アスピリン群 152 人中 96 人、プラシーボ群 159 人中 86 人は 2 年間に大腸腫瘍の発生を認めなかった。この結果を、年齢、性、エントリー前の大腸腫瘍数で補正したオッズ比 (95%信頼区間) は 0.60 (0.36-0.98) であり、アスピリンは有意に大腸腫瘍の発生を抑制することが示された。

喫煙の有無で層別化した解析では、現在非喫煙者 (禁煙者を含む) ではオッズ比 (95%信頼区間) は 0.37 (0.20-0.66) と有意にアスピリンが大腸腫瘍の発生を抑制したが、現在喫煙者では 2.43 (0.89-6.60) と逆に促進する傾向がみられた。

飲酒の有無で層別化した解析では、ほとんど飲酒しない者 (週 2 回以下) ではオッズ比 (95%信頼区間) は 0.44 (0.21-0.94) と有意にアスピリンが大腸腫瘍の発生を抑制したが、飲酒者 (週 3 回以上) では 0.73 (0.38-1.42) と有意な抑制効果は認められなかった。

#### D. 考察

日本人においても、大腸腫瘍保有者においてアスピリンは大腸腫瘍の発生を抑制することが示された。これまでの欧米から同

様の試験が 4 つ報告されている。それらの 4 つの報告のメタ・アナリシスによる腺腫の発生のリスク比は 0.83 であり、私達の研究成績とほぼ同様であった。そのことより、アスピリンの大腸癌予防効果は人種によらず、人類全体で認める作用である可能性が高いと考えられた。

ただ、これまでに報告された 4 つの臨床試験では、飲酒、喫煙を層別化した解析結果は示されていない。私達の結果が報告されれば、過去の 4 つの試験についても飲酒、喫煙を層別化した追加解析がされると思われ、それらでも同様の結果が出れば、大腸癌予防のためにアスピリンを服用する際には、禁煙することが条件になる可能性が高いと考える。

現在、本試験の 2 年間の介入後のさらなる追跡研究が進行中であり、その結果が待たれるが、アスピリン群において重篤な有害事象は認められなかったことより、現時点でも大腸癌や多発腺腫の既往者、Lynch 症候群など大腸癌高危険度群に対してアスピリン投与について臨床応用を検討する時期になったと思われる。

#### E. 結論

日本人においても、低用量アスピリン腸溶錠は大腸腫瘍の発生を安全に予防することを無作為割付臨床試験で証明した。その効果は喫煙しない者でさらに強まるため、アスピリン服用時には禁煙することが重要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

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. 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) 鈴木美奈、小嶋雅代、細野晃弘、荒井健介、辻村尚子、岡京子、藤田ひとみ、岡本尚子、神谷真有美、近藤文、鈴木貞夫。医学生の喫煙に関する意識と行動に関する状況調査。第72回 日本公衆衛生学会総会、津市（2013年10月23日～25日）

- 2) 鈴木貞夫、小嶋雅代、細野晃弘、柴田清、荒井健介、辻村尚子、岡京子、藤田ひとみ、岡本尚子、神谷真有美、近藤文、鈴木美奈。慢性萎縮性胃炎の疫学－肥満との関連を中心に。第72回 日本公衆衛生学会総会、三重県津市（2013年10月23日～25日）
- 3) 鈴木貞夫、小嶋雅代、細野晃弘、荒井健介、辻村尚子、岡京子、藤田ひとみ、岡本尚子、神谷真有美、近藤文、鈴木美奈。地域住民のペプシノーゲン検査による萎縮性胃炎の評価と関連因子について。第24回日本疫学会学術総会、宮城県仙台市（2014年1月24日～25日）

## 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

厚生労働科学研究費補助金(第3次対がん総合戦略研究事業)

分担研究報告書

乳腺発がん抑制物質の探索

分担研究者 今井俊夫

独立行政法人国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設長

研究要旨 7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA)誘発乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食の促進作用に対し、分岐鎖アミノ酸(BCAA)が抑制効果を示す可能性について昨年度に報告した。その研究結果を受け、今年度はその再現性を確認するための実験を行うとともに、BCAAの発がん抑制機序を明らかにするため、高脂肪食/BCAAを投与したラットの乳腺組織を用いて発現タンパク質/遺伝子の比較解析を行った。その結果、BCAAは、DMBA乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食の促進作用に対し弱いながら抑制効果を示すこと、更に、高脂肪食が乳腺組織にてSTAT3の活性化を誘導し、BCAAによるその低下作用が発がん抑制機序の一つであることが示唆された。

A. 研究目的

米国に移住したアジア人女性の乳がんリスクの増加、特に胎児期あるいは若齢期における米国での生活習慣が乳がん罹患率に影響することが報告されているが(Ziegler RG et al., 1993; Gomez SL et al., 2010)、その原因を裏付ける詳細なデータは得られていない。5日間高カロリー/高脂肪食を摂取した男性においてレプチン値を含む種々の血清パラメーターの顕著な変動がみられたとの報告(Brons C et al., 2009)、あるいは米国に移住した日本人女性は、日本在住の女性に比し高レプチン、低アディポネクチン血

症を呈するとの報告(Nakamura et al., 2012)もあり、発がんリスクと関連する可能性がある。

本研究では、高カロリー/高脂肪食摂取により誘発される高レプチン血症に着目し、7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA)誘発ラット乳腺発がんに対するレプチンの影響とその機序を明らかにする。また、マウスの高脂肪食/過食による脂質異常症/高インシュリン・高レプチン血症に対し改善作用を示す分岐鎖アミノ酸(BCAA)のラット乳腺発がんに対する抑制作用を検討し、予防法の確立に向けた基

礎データを構築することを目的としている。

これまでに我々が実施した研究において、レプチン受容体遺伝子のヘテロ変異体である Zucker (+/*fa*)ラットは野生型(+/*+*)ラットに比して 7~11 週齢時における血清レプチン値が高いこと(Cho YM et al., 2012)、DMBA 誘発性の乳がんの発生時期が早く、発生頻度、発生数、腫瘍体積が増加することを明らかにした。また、野生型(+/*+*)ラットに発生する乳がんは高分化型であるのに対し、乳がんの発生がみられた Zucker (+/*fa*)ラットの約半数例には強い浸潤性と豊富な間質増生を伴う高異型度中・低分化腺がんが認められたことから、若齢期の高レプチン血症が乳腺発がんの促進のみならず組織型にも関与している可能性を示した(Imai T et al., 2013)。

また、昨年度の本研究においては、若齢期に高脂肪食(コーン油食あるいは牛脂食)を与えた F344 ラットにおいて、高レプチン血症が誘発され、その後の発がんに対して促進作用を示すこと、更には BCAA の併用が発がん抑制効果を示す可能性を明らかにした。そこで今年度は、昨年度の若齢期高脂肪食による発がん促進作用と BCAA による抑制作用に関し、その再現性を確認するための発がん実験を行うとともに、BCAA の発がん抑制作用に関して、その機序を明らかにするため、高脂肪食/BCAA を投与したラットの乳腺組織を用いて発現タンパク質/遺伝子の比較解析を行った。

## B. 研究方法

[高脂肪食及び BCAA を 2 週間与えた際の F344 雌ラットの血清レプチン値と乳腺組織

に及ぼす影響]

F344 雌ラット 42 匹を 6 群に分け、5 週齢~6 週齢時の 2 週間にわたり 1) 基礎食(対照、CE-2、日本クレア) 2) 3.0%BCAA 添加食 3) 10%コーン油添加食 4) 10%コーン油+3.0% BCAA 添加食 5) 牛脂添加食(Quick Fat™、QF、日本クレア)あるいは 6) QF+ 3.0%BCAA 添加食を与えた。なお、本実験は、37 匹のラットを用いて昨年度実施した実験のうち 1)、3)及び 5)群にラットを追加して再解析したものである。実験期間中、体重は週 1 回、摂餌量は 2~3 日に 1 回測定し、実験終了時にはインフルラン麻酔下にて腹大動脈より採血した後に放血致死させ、肝臓、腹腔内(子宮周囲)脂肪、乳腺組織(fat pad)を採取して重量を測定した。また、片側の乳腺組織については常法に従ってパラフィン包埋切片、HE 染色標本を作製した。また、片側の乳腺組織については液体窒素にて凍結後、-80℃にて保存した。採血後に遠心分離により得られた血清を用いて、レプチン(Rat Leptin HS、YK051、矢内原研究所)濃度を測定した。凍結保存した一部の乳腺組織については、ISOGEN(日本ジーン)を用いて総 RNA を抽出し、全遺伝子型 DNA チップ(3D-Gene、Rat Oligo chip 20k、東レ)を用いた解析を行った。また、タンパク質は 50mM Tris-HCl、3mM EDTA、100mM NaCl、1% Tween-20、10mM sodium orthovanadate、1mM PMSF、10ug/mL leupeptin、20ug/mL aprotinin 溶液を用いて抽出し、ウェスタンブロットティングにより解析した。抗体は Cell Signaling Technology 社製抗 STAT3 マウスモノクローナル抗体、抗リン酸化 STAT3

(p-STAT3)ウサギポリクローナル抗体を用いた。

[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]

F344雌ラット60匹を5群に分け、5週齢～9週齢時の5週間にわたり1)基礎食 2)10%コーン油添加食 3)10%コーン油+3.0%BCAA 4)QFあるいは5)QF+3.0%BCAA添加食を与えた。当該期間中、摂餌量は2～3日に1回測定した。実験開始3週目の7週齢時にはDMBAを50mg/kg体重の用量で強制経口投与した。実験期間中は週1回、体重及び摂餌量を測定するとともに触診により乳腺腫瘍の発生状況を観察し、実験終了時にはイソフルラン麻酔下にて腹大動脈より採血した後に放血致死させ、乳腺腫瘍、乳腺組織を採取してパラフィン包埋切片、HE染色標本作製し、病理組織学的に検索した。乳腺腫瘍の長径が概ね7mmを超えるものについては、腫瘍組織の一部と当該個体の正常乳腺の一部を液体窒素にて凍結し、-80℃にて保存した。また、触診において乳腺腫瘍の長径が30mmを超えたことが確認された時点の人道的エンドポイントとして当該動物を切迫屠殺し、最終剖検例と同様に検索した。

(倫理面への配慮)

使用する動物数は最少限に留めた。投与実験は混餌による経口投与が主体であり、また動物は全てイソフルラン麻酔下で大動脈からの脱血により安楽死させ、その他の実験手技についても動物の愛護に十分配慮して行った。実験の開始に当っては、「厚生労働省

の所管する実施機関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1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知)」及び「国立がん研究センターにおける動物実験に関する指針」に従い、事前に動物実験倫理委員会に計画書を提出して実施承認を得た。

### C. 研究結果

[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]

#### ・体重および臓器/組織重量

各群の体重の推移をTable 1に示した。各群間の差はみられなかった。摂餌量は1)基礎食(対照)と2)BCAA食群に比し、3)コーン油食、4)コーン油+BCAA食、5)QF及び6)QF+BCAA食群では低値を示し、基礎食(粗脂肪4.7%)、コーン油食(同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えられた。昨年度と同様の傾向であった。

Table 1 Body weights (g) 2-week study

Day	0	7	14
1) Control	78.8±3.6	98.6±2.7	117.0±4.9
2) BCAA	80.2±2.3	97.7±2.5	118.9±4.7
3) Corn oil	78.1±2.6	96.8±3.8	114.3±3.7
4) Corn +BCAA	79.8±2.8	97.2±2.6	119.1±5.7
5) QF	79.7±2.9	98.7±3.7	118.5±5.3
6) QF +BCAA	80.0±3.7	97.4±3.8	118.5±6.0

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(Figure 1a, 1c)。一方、腹腔内(子宮周囲)脂肪については1)基礎食群(対照)、2)BCAA群、3)コーン油群および4)コーン油+BCAA群に比し5)QF群と

6)QF+BCAA 群では増加した(Figure 1b)。

・血清中レプチン濃度

対照群に対し 5)QF 群 と 6) QF+BCAA 群において、レプチン濃度の上昇が認められた。3)コーン油食群では上昇傾向がみられ、BCAA 併用による僅かな改善作用がみられた(Figure 1d)。

・乳腺組織における STAT3 のリン酸化

対照群に対し 3)Corn oil 群と 5)QF 群 において、p-STAT-3/STAT3 比が高値を示した。3)Corn oil 群と 4)Corn oil+BCAA 群の間では BCAA による明らかな低下傾向が、5)QF 群と 6)QF+BCAA 群の間では BCAA による低下がみられた(Figure 1e)。

・乳腺組織の病理組織学的検索

腺房発達の程度などにおいて、群間の明らかな違いは認められなかった。

・高脂肪食による乳腺組織における遺伝子の発現変化

1)基礎食群と 5)QF 群間における発現遺伝子の変動を網羅的に解析した結果、主に乳腺上皮細胞の分化に関連する Beta- casein precursor 、 Alpha-S2-casein- like A precursor、Whey acidic protein precursor 等の発現が上昇した。また、細胞接着関連因子 A や細胞接着関連因子スーパーファミリー B の発現上昇も認められた。

[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 に及ぼす影響]

・体重及び摂餌量

各群の初期及び最終体重を Table 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	74.7±3.1	197.9±8.1
3) Corn oil	74.4±3.1	195.0±18.6
4) Corn +BCAA	74.5±2.8	196.4±14.6
5) QF	74.0±2.7	194.0±8.6
6) QF +BCAA	74.6±2.2	191.9±5.6

かった。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、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の推移(Figure 2)

発生時期については、4)QF 群では DMBA 投与 6 週後に、5)QF+BCAA 群では 7 週後に乳がんが初発し、1)基礎食群(対照)の 10 週に比し早期化する傾向がみられた。2)Corn oil 群と 3)Corn oil+BCAA 群でも 8 週後に初発した。発生頻度はその後、1)群に比し 2)コーン油群、3)Corn oil+BCAA 群、4)QF 群および 5)QF+BCAA 群で増加あるいは増加傾向を示したが、2)群と 3)群および 4)群と 5)群間に明らかな差は見られなかった。発生数については 1)基礎食群に比し、2)Corn oil 群と 3)Corn oil+ BCAA 群で増加傾向を示したが、4)QF 群および 5)QF+BCAA 群では明らかな増加傾向を示さなかった。体積の推移については、群間の明らかな差はみられなかった。

・乳がんの病理組織学的解析(Table 3)

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

明らかな増加傾向を示し、5)QF+BCAA 群では 4)群に比し低下傾向を示したが、3)コーン油+BCAA 群では 2)群との明らかな差はなかった。発生数については、1)群に比し 2)~5)の何れの群でも増加傾向を示した。体積については、群間の明らかな差はみられなかった。

#### D. 考察

幼若期に高脂肪食/BCAA を 2 週間与えた後に安楽死させた実験において、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が、牛脂食を与えた QF 群では、対照群に比し腹腔内脂肪が増加し、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。また、血清レプチン値については、QF 群と QF+BCAA 群で上昇が認められ、BCAA による改善作用はみられなかった。また、コーン油群では血清レプチン値は上昇傾向を示し、僅かながら BCAA 併用による改善作用がみられた。次に、乳腺組織からタンパク質を抽出して p-STAT3/STAT3 比を解析した結果、対照群に比しコーン油群および牛脂群で有意な上昇がみられ、BCAA との併用によりそれらは顕著に低下した。コーン油および QF 単独群の乳腺組織における p-STAT3/STAT3 比は、血清レプチン値の変動とほぼ同様の傾向を示しながら変動したことから、高レプチン血症の結果、乳腺組織(上皮)のレプチン受容体を介するに影響であることが示唆された。一方、BCAA はコーン油群における高レプチン血症を僅かに改善したものの、QF 群では改善作用を示さ

なかったことから、それらの乳腺組織における p-STAT3/STAT3 比低下作用は、レプチン受容体を介するものではないと考えられた。これまでの報告では、BCAA は肝臓において mTOR を活性化し(Mattick JS et al., Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med. 5, 449-466, 2013)、mTOR の活性化により STAT3 経路が活性化することが示されており(Ma J et al., J. Clin. Invest. 120, 103-114, 2010)、今回の実験で示されたレプチン受容体を介さない BCAA の STAT3 活性化抑制作用については mTOR が関連している可能性があるが更なる検討を要する。

DMBA 誘発乳腺発がん実験においては、幼若期の高脂肪食が発がん促進作用あるいは促進傾向を示し、昨年度と同様の結果が得られた。一方、高脂肪食による乳腺発がん促進作用に対する BCAA の作用については、昨年度に報告したコーン油と牛脂食両群に対する明らかな抑制傾向が今年度は牛脂食群で軽度な効果が確認できたのみに留まった。DMBA 誘発乳腺発がんに対する高脂肪食と BCAA の影響を総合的に評価するため、触診による乳がん発生の推移と剖検後の乳がんの発生頻度、発生数および体積について、昨年度と今年度の結果を合わせた結果を Figure 3 と Table 4 に纏めた。触診データにおいては幼若期高脂肪食による発がん促進作用は明らかであったが、BCAA による抑制作用は限定的(QF 群における実験前半の体積の低下のみ)であり、剖検後のデータでもコーン油群と QF 群の発生頻度とコーン油分の発生数のみが低下傾向を示しており、本実験条件下では BCAA

の乳腺発がん抑制作用は弱いことが示された。

昨年度に引続き、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。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不明であるが、今回、2 週間 QF を与えたラットと基礎食を与えたラットの乳腺組織における発現遺伝子を比較した解析において、細胞接着関連因子 A や細胞接着関連因子スーパーファミリーB の発現上昇が確認され、今後、これらの遺伝子発現異常と発がんとの関連性について更なる検討を要する。

#### E. 結論

若齢ラットに高脂肪食を与えることにより誘発される乳腺組織での STAT3 活性化に対して BCAA が抑制作用を示すことを明らかにし、DMBA 乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食の促進作用に対して弱いながら抑制作用を示す BCAA の作用機序の一つである可能性を示した。若齢期高脂肪食は肥満状態の有無に関わらず高レプチン血症を介して乳腺組織における STAT3 活性化を誘発するが、分岐鎖アミノ酸を含む栄養成分により制御できる可能性があり、今後の生活習慣関連のがん予防対策の一つとして食材の選択

が有効であることを示した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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. Onuma, K., Ochiai, M., Takahashi, M., Imai, T., Nakagama, H., Hippo, Y. Genetic reconstitution of tumorigenesis in primary intestinal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* **110**, 11127-11132 (2013)
3. Ito, K., Ishigamori, R., Mutoh, M., Ohta, T., Imai, T., Takahashi, M. A<sup>y</sup> allele promotes azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis by macrophage migration in hyperlipidemic/diabetic KK mice. *Cancer Sci.* **104**, 835-843 (2013)
4. 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)
5. Hayakawa, T., Mutoh, M., Imai, T., Tsuta, K., Yanaka, A., Fujii, H., Yoshimoto, M. SPECT/CT of lung nodules using <sup>111</sup>In-DOTA-c(RGDfK) in a mouse lung carcinogenesis model. *Ann. Nucl. Med.* **27**, 640-647 (2013)



6. Imai, T., Kitahashi, T. A 13-week toxicity study of acrylamide administered in drinking water to hamsters. *J. Appl. Toxicol.* **34**, 57-65 (2014)

2. 学会発表

- 1) 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与する発現遺伝子の探索。第20回日本がん予防学会、東京(2013年7月)
- 2) 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発がんの促進/進展に対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回日本癌学会学術総会、横浜(2013年10月)

3) 今井俊夫、打屋尚章、藤井 元、武藤倫弘、高橋真美。高脂肪食により誘発されるレプチン抵抗性に対する臓器感受性差と乳腺発がん。第30回日本毒性病理学会、徳島(2014年1月)

(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

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・検診研究センター疫学研究部 部長

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大腸腺腫研究のデータを用いて、インスリン抵抗性に関連する食物要因としてコーヒーに着目し、大腸腺腫との関連を検討した。その結果、全体としてコーヒーの摂取量が多い群で大腸腺腫のリスク低下が見られた。部位別の解析では、直腸では関連が見られなかったが、結腸において有意な負の関連が見られた。また分岐鎖アミノ酸もインスリン抵抗性への関与が示唆されている食物要因であるが、血中分岐鎖アミノ酸濃度と大腸腺腫の関連を検討するために、上記研究の血漿検体を用いて血中濃度の分析を行っている。

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を介するものが指摘されている。コーヒー、マグネシウム、分岐鎖アミノ酸などは、インスリン抵抗性に関連する食物要因として大腸腫瘍との関連が想定されている。特にコーヒー摂取と大腸がんの関連については多くの先行研究があり、弱い負の関連が観察されているが、大腸腺腫との関連を見た研究は少ない。また我々の知る限り分岐鎖アミノ酸と大腸腫瘍との関

連を検討した研究はない。

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大腸腺腫研究のデータを用いて、コーヒー摂取と大腸腺腫との関連を検討することを目的に解析を行った。また、血中分岐鎖アミノ酸濃度と大腸腺腫との関連を検討するために、上記研究の血漿検体の分析を行った。

## B. 研究方法

### 1. 対象者

2004年2月から2005年2月末までのがん予防・検診研究センターの大腸内視鏡検診受診者3,212人のうち、全大腸内視鏡検査が施行された2,234人(大腸腺腫や大腸がんなどの既往者は除く)が本研究の適格対象者である。このうち拡大内視鏡診断により男性526人と女性256人に大腸腺腫が認められ、本研究の症例とした。残りの1,452人のうち、過形成性ポリープを持たない男性482人と女性256人を本研究の対照とした。なお女性対照については、女性症例の年齢と検診時期で1:1の層別サンプリングを行っている。本研究の最終的な対象者は、症例782人と対照738人の計1,520人である。

### 2. 調査方法

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

### 3. 解析方法

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(上位下位2.5パーセンタイル以内の者)を除外し、食物摂取頻度調査票にあるコーヒーおよび缶コーヒーの摂取頻度とそのポーションサイズから1日当たりの摂取量を算出した。対照群の摂取量の分布に基づき、4分位点により4群に群分けし、最少摂取群に対するオッズ比をロジスティック回帰分析により算出した。交絡要因として、性、年齢、スクリーニング時期、body mass index (BMI)、喫煙、飲酒、身体活動、NSAIDsの使用歴、大腸がんの家族歴、糖尿病の既往、サプリメントの使用状況、葉酸摂取、食物繊維摂取、イソフラボン摂取を調整に用いた。

(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大腸腺腫研究は、国立がん研究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

### 1. コーヒー摂取と大腸腺腫との関連

表1に対照群におけるコーヒー摂取カテゴリ別の交絡要因の分布を示した。コーヒーの最多摂取群は、平均年齢が若く、男性、喫煙者、飲酒者、糖尿病既往者が多い傾向であった。また野菜、葉酸、イソフラボンの摂取量が少ない傾向が見られた。

表2にコーヒー摂取量と大腸腺腫との関

連におけるオッズ比と 95%信頼区間を示した。対象者全体において、最多摂取群のオッズ比 (95%信頼区間) は 0.66 (0.48-0.92)、傾向性の検定の p 値は 0.02 と有意な負の関連が見られた。男女別の解析においても同様の負の関連が見られた。

表 3 に大腸腺腫の部位別、大きさ別、個数別の解析結果を示した。部位別の解析では、近位結腸および遠位結腸において、いずれも有意な負の関連が観察されたが、直腸においては関連が見られなかった。大きさ別では 5mm 未満の腺腫において有意な負の関連が見られた。一方、5mm 以上では有意ではないが負の関連が観察された。同様に個数別では 1 個の場合に有意な負の関連が見られたが、2 個以上の場合には有意な負の関連は見られなかった。

表 4 に大腸がんのリスク要因である喫煙、飲酒、BMI、身体活動で層別解析した結果を示した。いずれの層においても負の関連が見られ、有意な交互作用は観察されなかった。

## 2. 血漿中分岐鎖アミノ酸濃度と大腸腺腫との関連

血漿中分岐鎖アミノ酸濃度と大腸腺腫との関連を検討するために、がん予防・検診研究センターの検診受診者を対象とした大腸腺腫研究の保存血漿検体の分析を行った。分析は、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 種類のアミノ酸の分析を開始した (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)。

## D. 考察

### 1. コーヒー摂取と大腸腺腫との関連

コーヒー摂取と大腸腺腫との関連を検討したところ、摂取量が多い群で有意なリスク低下が見られた。部位別の解析では、直腸では関連が見られなかったが、結腸において有意な負の関連が見られた。大腸腺腫に対して負の関連が見られたことから、今回の結果は、発がん過程の早期の段階から予防的に作用している可能性を示唆している。

コーヒー摂取と大腸がんの関連については多くの先行研究があり、メタアナリシスにおいて弱い負の関連が観察されている。結腸がんを対象とした 11 件のコホート研究のメタアナリシスでは、摂取量の多い群の相対リスク (95%信頼区間) は 0.90 (0.78-1.04) であった (Je Y et al. Int J Cancer 2009;124:1662-8.)。一方、大腸腺腫との関連を見た研究は少なく、我々が調べたところ 5 件のみであった。このうち有意なリスク低下を報告しているのは 1990 年の Kato et al. のみである (Jpn J Cancer Res