

23-A-4 基礎及び疫学研究の統合によるがんの原因究明と
効果的な予防・検診法の開発に資する研究

独立行政法人国立がん研究センター研究所長 発がんシステム研究分野長 中釜 斉

研究の分類・属性

基礎系

研究の概要

がんの発生には多くの生活習慣・環境要因、遺伝的要因の関与が示唆されているが、その分子機序や多因子間の相互作用に関しては未だ不明の部分が多く、リスクの評価方法も確立されていない。本研究においては、主に、消化管（胃、大腸）がん、肝臓がん、肺がん、膵臓がんについて、基礎及び疫学研究の双方向のアプローチにより、相互に連携をとりつつ、がんの原因究明を推進する。発がん要因に関して、ヒトでのエビデンスを構築するとともに、発がんリスクの推定や原因の推測、有効な予防・診断法及び先制医療の開発につなげるための基盤的研究を行う。

本研究の遂行により、環境中発がん要因による生体曝露の客観的評価が可能となり、ヒト発がんとの関連性を評価することができる。さらに、発がんにおけるドライバー変異誘導の転機となる DNA 修飾（“ドライバーアダクトーム”）の解析も併せて推進する。酸化ストレス・炎症・脂質・糖尿病などの生活習慣病や様々な環境中がん原性要因とヒトがんとの関連性を裏付ける分子機構が解明され、がんの新規予防法・治療法の開発に有用な情報を提供できることが期待される。本研究の成果は、発がんリスクの推定や原因の推測、有効な予防策の構築、ひいては先制医療の開発に大いに貢献することが期待される。

具体的な研究計画としては、(I) 疫学研究により得られたエビデンスの基礎的研究による Proof of Concept (POC) の実証として、生活習慣関連発がんの標的臓器である肝臓、大腸、膵臓各臓器のサロゲートとして末梢血を用い、運動介入を行いヒト肥満に伴う DNA 損傷への抑制的影響の有無を検証する。特に、大腸がんに関しては、環境中発がん物質の可能性のある HCAs による発がん機構と肥満関連要因との相互作用、臓器特異性や系統差のメカニズムについて解明する。大腸腺管の *in vitro* 再構成系を用いて、様々な発がん要因による発がん初期段階の分子基盤を明らかにする。コーヒー摂取による肝がんの発生低下及び糖尿病発症低下の分子メカニズムについても解明する。糖尿病関連の新規変異原物質 ABAQ と発がんとの関連性についても検討する。(II) 基礎的研究により得られたエビデンスのヒト発がんにおける意義の解明と疫学的エビデンスの構築として、動物実験などにより発がん性が知られている物質（例えば HCAs、カドミウム等）について、DNA アダクトーム法や新開発の分析法を利用した曝露評価法を確立し、疫学コホート研究および症例対照研究によりがん罹患リスクとの関連を検討する。(III) 遺伝的感受性要因の検索と動物モデル及びヒトでの検証として、肺腺がん患者を対象とした症例対照研究と肺腺がん細胞の網羅的なゲノム解析を行い、肺腺がん発症の要因となるゲノム異常とそのリスクとしての環境要因及び遺伝子多型を明らかにする。得られた成果をもとに、前向きな解析による疫学的エビデンスを構築する。得られた感受性因子と肺発がんとの係りや、その他の発がん修飾要因について、肺の *in vitro* 再構成系を用いて検証する。(IV) アダクトーム法等を用いた DNA 修飾のデータベースの構築と新たな環境発がん要因の検索として、アダクトーム解析による HCAs や過酸化脂質由来の DNA 付加体の網羅的解析法や迅速かつ簡便な検出系の開発を図り、様々ながん種の発がん要因解明のための基盤となるアダクトーム・アーカイブデータベースの構築を目指す。

研究経費

35,200 千円

研究班の組織

中釜 斉	研究所長 発がんシステム研究分野長	初期病変を指標とした大腸発がん修飾要因の解明
今井 俊夫	動物実験支援施設長	乳腺発がんに関与する食事要因及び内的要因の解明
荒川 博文	腫瘍生物学分野長	がん細胞におけるミトコンドリア品質管理機構の異常と酸化ストレス
益谷 美都子	ゲノム安定性研究分野長	ポリ ADP-リボシル化の発がんへの関与の研究
塚本 徹哉	三重大学大学院医学系研究科 准教授	In vitro 培養系を用いた大腸発がん機構の解析
豊國 伸哉	名古屋大学・医学系研究科・教授	発がん過程における酵素ラジカルの意義に関する研究
戸塚 ゆ加里	発がんシステム研究分野 ユニット長	新規変異原・がん原物質の検索とヒト発がんへの関与に関する研究
松田 知成	京都大学・准教授	DNA 付加体情報の整理
片岡 洋行	就実大学薬学部・教授	ヘテロサイクリックアミンのヒト曝露評価
深澤 征義	国立感染症研究所 ・室長	インスリン抵抗性と C 型肝炎との関連の解明
横田 淳	多段階発がん研究分野・分野長	肺腺がんの要因に関する分子遺伝学的研究
松尾 恵太郎	愛知県がんセンター研究所・室長	分子疫学的アプローチによる肺がんの遺伝子環境要因相互作用の検討
岩崎 基	がん予防・検診研究センター予防 研究部・ユニット長	環境中化学物質曝露とがん罹患に関する疫学研究
太田 力	多層オミックス・バイオインフォ マティクス分野・ユニット長	肺がん発症に係わる因子の解析

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標) :

(I) 疫学研究により得られたエビデンスの基礎的研究による Proof of Concept (POC) の実証 :

a) 動物モデルを用いた解析 :

疫学研究により明らかにされている乳がん・膵臓がんのリスク要因に関して動物モデルを用いた検証を行い、その発症分子メカニズムを明らかにする。HCAs による発がんやその修飾要因、臓器特異性や系統差のメカニ

ズムについても解明する。また、大腸腺管の *in vitro* 再構成系を用いて、様々な発がん要因による発がん初期段階の分子基盤を明らかにする。更に、肝がん発生および糖尿病発症リスクの低下とコーヒー摂取が関連することが疫学研究により知られており、この分子メカニズムの一端を明らかにすることを目的とする。特に、コーヒー成分と C 型肝炎の関連をインスリン抵抗性の観点を含め解析する。糖尿病関連の新規変異原物質 ABAQ と発がんとの関連性についても検討する。

b) ヒトサンプルを用いた解析：

発がんリスクの一因と考えられている肥満の発がんの分子メカニズム解明として、運動介入による DNA 損傷性への抑制的影響を明らかにする。

(II) 基礎的研究により得られたエビデンスのヒト発がんにおける意義の解明と疫学的エビデンスの構築：

動物実験などにより発がん性が知られている物質（例えばヘテロサイクリックアミン、カドミウム等）の中には、日常生活においてヒトが曝露するレベルにおいて、がん罹患リスクを上げているかどうか不明なものが多い。本研究では、DNA アダクトーム法や新開発の分析法を利用したそれら物質の曝露評価法を確立し、コホート研究および症例対照研究により、これらの発がん性物質への曝露歴とがん罹患リスクとの関連を検討する。更に、飲酒発がんの分子機構解明と予防法開発を目的として、アルコール代謝物のアセトアルデヒドと核酸、タンパク質の反応について解析し、発がんとの関連を調べる。さらにアセトアルデヒドを消去する食品成分を探索する。

(III) 遺伝的感受性要因の検索と動物モデル及びヒトでの検証：

肺腺がん患者を対象とした症例対照研究と肺腺がん細胞の網羅的なゲノム解析を行い、肺腺がん発症の要因となるゲノム異常を同定する。さらに、肺発がんリスクとしての環境要因や遺伝子多型を明らかにする。

(IV) アダクトーム法等を用いた DNA 修飾のデータベースの構築と新たな環境発がん要因の検索：

DNA アダクトーム法は、未知の DNA 付加体の分子量情報を得るため、重要な DNA 付加体の構造決定に威力を発揮する。ヒト臓器中の付加体データと発がん要因の曝露により得られる付加体のデータを整理し、比較検討する。また、DNA 付加体のヒト発がんへの関与を確証するために、次世代 DNA シーケンサーを用いた、突然変異、DNA 損傷の解析法の開発を試みる。一方、ヒト組織中の新たな付加体を修復する、体内の酵素を同定し、その作用機序を明らかにする。更にその酵素の個体差や発がんリスク等を疫学的に探索する。

第 1 年次

(到達目標)

(I) 疫学研究により得られたエビデンスの基礎的研究による Proof of Concept (POC) の実証：

a) 動物モデルを用いた解析：

- PhIP 曝露時のラット正常大腸上皮細胞の応答・ゲノム変化やエピゲノム変化を調べる。同時にラット大腸陰窩の三次元培養系を確立する。
- アスベストや多層カーボンナノチューブで発がん実験を施行し、その主たる発がん病態を把握する。
- C 型肝炎ウイルス感染・増殖に対するコーヒー抽出成分の効果を検討する。

b) ヒトサンプルを用いた解析：

- 運動介入を行いヒト肥満に伴う DNA 損傷への抑制的影響の有無を検討する。

(II) 基礎的研究により得られたエビデンスのヒト発がんにおける意義の解明と疫学研究による検証：

- 毛髪中ヘテロサイクリックアミン分析による生体曝露評価法を確立する。
- カドミウムおよびヘテロサイクリックアミン摂取量とがん罹患リスクとの関連を検討する。

(III) 遺伝的感受性要因の検索と動物モデル及びヒトでの検証：

- 肺腺がん感受性遺伝子のゲノム網羅的解析を完遂する。
- Nrf2 によって直接制御を受け、肺がんの発症に関与する遺伝子を見出す。
- 非小細胞肺がんについて、全ゲノム解析データを用いて全ゲノム関連解析を実施し、候補遺伝子座の抽出を行う。

(IV) DNA アダクトーム法等を用いた新たな環境要因の検索：

- ヒト各臓器の DNA アダクトームデータを整理し、過酸化脂質由来の付加体のデータと比較する。
- 糖尿病状態で生成される新規変異原物質 (ABAQ) の *in vivo* 変異原性と生体内生成を検証する。

(年次評価時点の実績要点)

(I) 疫学研究により得られたエビデンスの基礎的研究による Proof of Concept (POC) の実証：

a) 動物モデルを用いた解析：

- PhIP 曝露後、5 時間～2 4 時間にヒストン H2AX や p53 のリン酸化などの DNA 損傷チェックポイントの活性化が認められた。PhIP 曝露 10～20 分で Akt の活性化 (S473 のリン酸化) が観察された。

MnSOD (Mn-dependent Superoxide dismutase)、さらには Superoxide 自体も PhIP 曝露により誘発されたことから、酸化ストレスの関与が示唆された。ラット大腸陰窩の三次元培養系を確立した。

- 経済的に使用されたすべてのアスベスト（クリソタイル、クロシドライト、アモサイト）による中皮腫発がんにおいて、局所的過剰鉄が重要な病態であり、主たる標的遺伝子は Cdkn2A/2B のホモ欠損である。多層カーボンナノチューブにおいては、太さが中皮細胞の傷害性や発がん性に関連していることが明らかになった。
 - 培養肝細胞系での C 型肝炎ウイルス (HCV) 粒子感染システムを用いて、コーヒー抽出成分の HCV 感染・増殖に対する影響を検討した。その結果、コーヒー抽出成分は宿主細胞に毒性を示さない濃度で、HCV の感染・増殖を強く抑制することが明らかとなった。コーヒー抽出成分の主要な有機酸についてさらに検討した結果、カフェイン酸、ニコチン酸、p-クマル酸で抗 HCV 効果が認められた。
- b) ヒトサンプルを用いた解析：
- 肥満男性を食事指導の群と運動指導+食事指導の群に分け血液を採取し、DNA アダクトーム法を用いて DNA 付加体の網羅的な解析を行った。現在、指導前後における DNA 付加体総数の変動について解析中である。

(II) 基礎的研究により得られたエビデンスのヒト発がんにおける意義の解明と疫学研究による検証：

- インチューブ SPME/LC-MS/MS 法による 16 種のヘテロサイクリックアミンのオンライン自動分析法を開発し、毛髪数 mg から ppt レベルのヘテロサイクリックアミンを簡便迅速に高感度測定する方法を確立した。また、81 名の被験者の毛髪試料分析と質問票の結果から、毛髪中ヘテロサイクリックアミン含量と喫煙や食事などの生活習慣との関連性を解析し、生体曝露マーカーとしての有効性を明らかにした。
- 多目的コホート研究の参加者を対象に食事からのカドミウム摂取量を評価し、がん罹患リスクとの関連を検討したところ、全がん罹患リスクおよび部位別がん罹患リスクとの間には統計的に有意な関連は見られなかった。同様に長野乳がん症例対照研究において乳がん罹患リスクとの関連の検討を開始した。質問票により評価したヘテロサイクリックアミン摂取量の妥当性の検討として、毛髪中ヘテロサイクリックアミンの分析を開始した。

(III) 遺伝的感受性要因の検索と動物モデル及びヒトでの検証：

- 肺腺がん 1,695 例と非がん対照 5,333 例の症例対照研究を行い、TERT と TP63 遺伝子座の多型が肺腺がんリスクと関連することが確認された。肺扁平上皮がん 377 例と非がん対照 325 例の症例対照研究により TP53, OGG1, CHRNA3, HLA-DQA1 遺伝子座の多型が肺扁平上皮がんのリスクと関連する可能性を示した。
- Nrf2 の異常活性化肺がん細胞株の NRF2 の発現をノックダウンさせた際、発現が 3 倍以上変化する遺伝子が実に 1,500 以上に及んだ。これら遺伝子群の中から、細胞増殖能に関与することが示唆されている候補因子を数個見出した。Nrf2 の異常活性化肺がん細胞株に、これらの候補遺伝子特異的な siRNA を作用させて候補遺伝子の発現をノックダウンさせたところ、細胞増殖能が低下する遺伝子 NTG1 (Nrf2 Target Gene 1)を見出した。
- 統計学的に非小細胞肺がん全ゲノム有意な関連を示したのは二つの遺伝子座で、示唆的有意差を示した遺伝子座が二つであった。四遺伝子座中、二遺伝子座において、本検討でリスクが高くなるアレルに関して、ヒト HapMap 計画データベース上の欧米人と日本人で明確に異なるアレル頻度を示していた。

(IV) DNA アダクトーム法等を用いた新たな環境要因の検索：

- 数名の献体の、腎臓、肝臓、肺、膵臓、大腸から DNA を精製し、数検体分プールして DNA アダクトーム解析を行った結果、献体臓器 DNA より検出された DNA 付加体のピークは、肺 97 個、肝臓 28 個、膵臓 38 個、腎臓 26 個、大腸 8 個であった。このうち、過酸化脂質由来の未知の DNA 付加体は 10 種類あった。現在、このうちのいくつかについては大量精製、構造決定を進めている。
- ABAQ をマウスに経口投与すると、肝臓に点突然変異を誘発することがわかった。ABAQ はラットの尿中から検出され、しかも野生型よりも糖尿病モデル動物において高値を示すことがわかった。

研究成果と考察

第 1 年次評価時点

(I) 疫学研究により得られたエビデンスの基礎的研究による Proof of Concept (POC)の実証：

- a) 動物モデルを用いた解析：

- PhIP により誘発される大腸発がん初期過程の in vitro 系での解析研究
PhIP 曝露後、5 時間～24 時間にヒストン H2AX や p53 のリン酸化などの DNA 損傷チェックポイントの活性化が認められた。MnSOD (Mn-dependent Superoxide dismutase)、さらには Superoxide 自体も PhIP 曝露により誘発された。PhIP 曝露 10～20 分で Akt の活性化 (S473 のリン酸化) が観察された。PhIP 付加体形成による DNA 損傷チェックポイントの活性化には少なくとも曝露後 4 時間以上要することから、PhIP-DNA 付加体の形成を介さない、別の細胞応答の経路が存在することが示唆された。今後は、PhIP 曝露後の染色体メチル化の総量変化についても調べる。ラット大腸陰窩の三次元培養系が確立できたので、より in vivo に近いこちらの系も今後の解析に用いる。
- 繊維状無機物質による中皮細胞の発がん機構の研究
ラット腹腔内にクリソタイル、クロシドライトまたはアモサイト 10mg を投与すると、各々 416 日、597 日、608 日において 50% の動物で悪性中皮腫が発生し、最終的にはほぼ全動物で、病理学的に確認される悪性中皮腫が発生した。Fenton 反応を促進するニトリロ三酢酸の追加投与は全繊維で腫瘍の発生を早めた。また、脾臓などの多くの腹腔内臓器で鉄沈着を認めた。アレイ CGH 解析では、広汎なゲノムの増幅と欠損を認め、27 例中 25 例で *CDKN2A/2B* のホモ欠損を認めた。これらの結果は、商業的に使用されたすべてのアスベストにおいて、局所的な鉄過剰病態が重要であり、それによって惹起される酸化ストレスが発がんの主要因であることを示唆する。一方、多層カーボンナノチューブにおいては、太さが中皮細胞の傷害性や発がん性に関連していることが明らかになった。
- C 型肝炎ウイルス感染・増殖に対するコーヒー抽出成分の効果の研究
1% 可溶性コーヒー抽出成分で 1 時間処理したところ、感染後 4 日目での HCV コアタンパク質の産生は、顕著に減少していた。また、0.01% 可溶性コーヒー抽出成分存在下で、4 日間培養した場合も HCV コアタンパク質の産生は減少していた。さらにコーヒーに多く含まれる有機酸に注目し、カフェイン酸、ニコチン酸、D-(-)-キナ酸、p-クマル酸についても同様の解析を行った結果、カフェイン酸、ニコチン酸、p-クマル酸についても、細胞内 HCV コアタンパク質の産生を抑制した。脂溶性コーヒー抽出成分についても同様の抑制効果が認められた。これらの結果は、少なくとも HCV 感染した細胞において、コーヒー抽出成分および関連有機酸により HCV 増加を抑制できることを示している。
- ABAQ の in vivo 変異原性と生体内生成の研究
ABAQ をマウスに経口投与すると、肝臓に点突然変異を誘発することがわかった。ABAQ はラットの尿中から検出され、しかも野生型よりも糖尿病モデル動物において高値を示すことがわかった。このことから、ヒトにおいても糖尿病患者の生体内で ABAQ が多く生成されており、これが内因性の変異原物質として、肝臓などの組織に変異を誘発する可能性があることが推測された。

b) ヒトサンプルを用いた解析:

- 運動介入のヒト発がん修飾因子に与える影響に関する研究
現在、ヒトサンプル (運動指導+食事指導群及び食事指導のみの群の肥満男性の血液) について、運動及び食事指導前後の DNA 付加体を網羅的に解析中である。

(II) 基礎的研究により得られたエビデンスのヒト発がんにおける意義の解明と疫学的エビデンスの構築:

- ヘテロサイクリックアミンのヒト曝露評価に関する研究
インチューブ SPME/LC-MS/MS 法によるヘテロサイクリックアミンのオンライン自動分析法を開発し、毛髪数 mg から ppt レベルのヘテロサイクリックアミンを簡便迅速に高感度測定する方法を確立した。81 名の被験者の毛髪中ヘテロサイクリックアミン分析と喫煙や様々な食品摂取頻度の質問票の結果から、喫煙者や肉・魚のこげを多く摂取する人ほど、毛髪中にヘテロサイクリックアミンが高濃度に検出され、野菜の摂取量が多いと抑制されることがわかった。これらの結果は、毛髪中ヘテロサイクリックアミン含量が食事の影響を反映し、生体曝露マーカーとしてヘテロサイクリックアミンの長期生体曝露量を把握できることを示唆しており、安全性評価の有効な手法になるとともに、毛髪中のヘテロサイクリックアミンレベルを調べることにより、食習慣や生活習慣の改善など発がん予防対策に繋がることを期待される。
- 環境中化学物質曝露とがん罹患に関する疫学研究
多目的コホート研究において、カドミウム摂取量と全がん罹患リスクおよび部位別がん罹患リスクとの間には統計的に有意な関連は見られなかった。カドミウムは国際がん研究機関の発がん性評価において Group I に分類されており、職業性曝露による肺がんリスクの上昇や汚染地域における全死亡リスクの上昇が報告されている。今回の検討でリスク上昇が見られなかった理由としては、一般住民のため曝露レベルが低いこと、主な曝露経路が食物であり職業性の経気道曝露とは異なる点が挙げられ

る。一方、質問票を用いた曝露評価の問題点として、大気やタバコからの曝露を評価できていない点がある。カドミウムにはエストロゲン様作用も指摘されていることから、長野乳がん症例対照研究において乳がん罹患リスクとの関連の検討を開始した。毛髪中ヘテロサイクリックアミンの分析は、プロトコルを確立し分析値の再現性の検討を行った後に、対象者のサンプル分析を開始した。

(III) 遺伝的感受性要因の検索と動物モデル及びヒトでの検証：

● 肺がんの要因に関する分子遺伝学的研究

肺腺がんの研究： 5p15.33 (TERT: rs2736100)、3q28 (TP63: rs10937405)領域にある SNP は、ボンフェローニ補正を行っても、統計学的に有意な関連が認められた $P < 0.05/100 \text{万} = 5 \times 10^{-8}$ (図 1)。その他には、ボンフェローニ補正後に統計学的有意差に至る座位は検出されなかった。よって、5p15.33 及び 3q28 が日本人の肺腺がん感受性に中心的な役割を果たす座位であることが示された。

肺扁平上皮がんの研究： TP53, OGG1, CHRNA3, HLA-DQA1 遺伝子座の多型が肺扁平上皮がんのリスクと統計学的に有意な関連を示した。症例数が少なく、調べた遺伝子座も限られているのでボンフェローニ補正は行っていないが、ゲノムワイドの関連解析 (GWAS) で同定された遺伝子と同程度の関連を示す遺伝子に関しては、他の集団でも確認する必要がある。

● Nrf2 下流因子の探索の研究

Nrf2 の異常活性化肺がん細胞株の NRF2 の発現をノックダウンさせた場合に発現が 3 倍以上変化する遺伝子は実に 1,500 以上に及んだ。これら遺伝子群の中から細胞増殖能に関与することが示唆されている候補因子を数個見出した。Nrf2 の異常活性化肺がん細胞株に、これら候補遺伝子特異的な siRNA を作用させ、候補遺伝子の発現をノックダウンさせたところ、細胞増殖能が低下する遺伝子 NTG1 (Nrf2 Target Gene 1)を見出した。

NRF2 の発現をノックダウンさせた場合に、発現が変化する遺伝子の数が多いので、転写活性化因子 Nrf2 の異常活性化によって引き起こされる肺がんの細胞増殖亢進に働く遺伝子の絞り込みが非常に難しいことがわかった。今後は、Nrf2 の異常活性化肺がん細胞株の数を増やして解析し、共通して変化する遺伝子の絞り込みを行う予定である。今回見出した遺伝子 NTG1 を手がかりに、Nrf2 の下流で肺がんの細胞増殖亢進に働く分子経路の一つを解明する予定である。

● 非小細胞肺がんの分子疫学研究

統計学的に全ゲノム有意な関連を示したのは二つの遺伝子座で、示唆的有意差を示した遺伝子座が二つであった。そのうち半分が機能の判明している遺伝子上に遺伝子座が存在した。四遺伝子座中、二遺伝子座において、本検討でリスクが高くなるアレルに関して、ヒト HapMap 計画データベース上の欧米人と日本人で明確に異なるアレル頻度を示していた。これは、この遺伝子座が非小細胞肺がんにおける EGFR 遺伝子変異が欧米人よりも日本人で多く認められることの遺伝学的説明となる可能性がある。

(IV) アダクトーム法等を用いた DNA 修飾のデータベースの構築と新たな環境発がん要因の検索：

● DNA 付加体情報の整理

DNA アダクトーム解析の結果、献体臓器 DNA より検出された DNA 付加体のピークは、肺 97 個、肝臓 28 個、膵臓 38 個、腎臓 26 個、大腸 8 個であった。このうち、過酸化脂質由来の未知の DNA 付加体は 10 種類あった。ヒト臓器で見られた DNA 付加体と、過酸化脂質由来の DNA 付加体を比較することにより、新規 DNA 付加体の同定が期待できる。現在、10 種類の新規 DNA 付加体のうち、いくつかについては大量精製、構造決定を進めている。また、文献検索により既知の DNA 付加体とアダクトームデータの照合も行っているところである。

倫理面への配慮

遺伝子解析に関してはヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針 (平成 16 年、文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) に従い、個人情報保護を中心とした人権擁護に十分配慮して研究を行う。手術標本の残余組織の研究利用については、患者及び家族に対して説明し同意を得る。組織の採取にあたっては、病理組織学的診断を優先して行い、患者への不利益を生じさせない。患者のプライバシーは遵守する。必要に応じて各研究施設の倫理委員会の承諾を得るものとする。疫学研究については、疫学研究に関する倫理指針 (平成 19 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号) を遵守する。又、動物実験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、各研究者の所属施設の実験動物取り扱い (倫理) 規定を遵守して行い、実験に用いる動物に関しても統計学的検定に必要な最小限の個体数を用いることとする。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

(雑誌論文)

1. Tsuchiya N, Izumiya M, Ogata-Kawata H, Okamoto K, Fujiwara Y, Nakai M, Okabe A, Schetter AJ, Bowman ED, Midorikawa Y, Sugiyama Y, Aburatani H, Harris CC, Nakagama H. : Tumor suppressor miR-22 determines p53-dependent cellular fate through post-transcriptional regulation of p21. *Cancer Research*, 71:4628-4639, 2011.
2. Atsumi Y, Fujimori H, Fukuda H, Inase A, Shinohe K, Yoshioka Y, Shikanai M, Ichijima Y, Unno J, Mizutani S, Tsuchiya N, Hippo Y, Nakagama H, Masutani M, Teraoka H, Yoshioka K: Onset of Quiescence Following p53 Mediated Down-Regulation of H2AX in Normal Cells. *PLoS ONE*, 6: e23432, 2011
3. Hori, M., Kitahashi, T., Imai, T., Ishigamori, R., Takasu, S., Mutoh, M., Sugimura, T., Wakabayashi, K., Takahashi, M.: Enhancement of carcinogenesis and fatty infiltration in the pancreas in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters by high fat diet. *Panceras* 40, 1234-1240, 2011
4. ○Nakamura Y, Kitamura N, Shinogi D, Yoshida M, Goda O, Murai R, Kamino H, Arakawa H. BNIP3 and NIX mediate Mieap-induced accumulation of lysosomal proteins within mitochondria. *PLoS ONE* 7: e30767, 2012.
5. ○Miyamoto T, Kitamura N, Ono M, Nakamura Y, Yoshida M, Kamino H, Murai R, Yamada T, Arakawa H. Identification of 14-3-3 γ as a Mieap-interacting protein and its role in mitochondrial quality control. *Scientific Reports* 2: 379, 2012.
6. ○Mabuchi R, Kurita A, Miyoshi N, Yokoyama A, Furuta T, Goda T, Suwa Y, Kan T, Amagai T, Ohshima H. Analysis of N ϵ -ethyllysine in human plasma proteins by gas chromatography-negative ion chemical ionization/mass spectrometry as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol. *Alcohol.Clin. Exp. Res.*, (2012) *in press*
7. Sugimura, H., Tao, H., Suzuki, M., Mori, H., Tsuboi, M., Matsuura, S., Goto, M., Shinmura, K., Ozawa, T., Tanioka, F., Sato, N., Matsushima, Y., Kageyama, S., Funai, K., Chou, P.H., and Matsuda, T., Genetic susceptibility to lung cancer. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2011. 3: 1463-77.
8. Shinmura, K., Goto, M., Suzuki, M., Tao, H., Yamada, H., Igarashi, H., Matsuura, S., Maeda, M., Konno, H., Matsuda, T., and Sugimura, H., Reduced expression of MUTYH with suppressive activity against mutations caused by 8-hydroxyguanine is a novel predictor of a poor prognosis in human gastric cancer. *J Pathol*, 2011. 225(3): 414-23.
9. ○Kato T, Totsuka Y., Hasei T, Watanabe T, Wakabayashi K, Kinae N, Masuda S: In vivo examination of the genotoxicity of the urban air and surface soil pollutant, 3,6-dinitrobenzo[e]pyrene, with intraperitoneal and intratracheal administration. *Environ. Mutagen.*, 2012 Apr 4. [Epub ahead of print]
10. Matsubara S, Takasu S, Tsukamoto T, Mutoh M, Masuda S, Sugimura T, Wakabayashi K, Totsuka Y., Induction of Glandular Stomach Cancers in Helicobacter pylori-infected Mongolian Gerbils by 1-Nitrosoindole-3-acetonitrile., *Int J Cancer*, 2012 130(2):259-66.
11. ○Matsuda, S., Matsui, S., Shimizu, Y., Matsuda, T.: Genotoxicity of colloidal fullerene C60. *Environ Sci Technol*, 45, 4133-4138, 2011
12. Koyama, N., Yasui, M., Kimura, A., Takami, S., Suzuki, T., Masumura, K., Nohmi, T., Masuda, S., Kinae, N., Matsuda, T., Imai, T., Honma, M.: Acrylamide genotoxicity in young versus adult *gpt* delta male rats. *Mutagenesis*, 26, 545-549, 2011
13. Kataoka H.: Current developments and future trends in solid-phase microextraction techniques for pharmaceutical and biomedical analyses. *Anal. Sci.*, 27:893-905, 2011
14. ○Kataoka H., Miyake M., Saito K., Mitani K.: Formation of heterocyclic amine-amino acid adducts by heating in a model system. *Food Chem.*, 130: 725-729, 2012.
15. Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M., Teraoka T, Miyamura T, Wakita T, and Suzuki T: The structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. *J.Gen. Virol.* 92:2082-87, 2011
16. Arnaud N, Dabo S, Akazawa D, Fukasawa M., Shinkai-Ouchi F, Hugon J, Wakita T, and Meurs EF. "Hepatitis C Virus Reveals a Novel Early Control in Acute Immune Response" *PLoS Pathogens* 7(10), e1002289, 1-17

(2011)

17. Kohno T, Kunitoh H, Mimaki S, Shiraishi K, Kuchiba A, Yamamoto S, Yokota J: Contribution of the TP53, OGG1, CHRNA3 and HLA-DQA1 genes to the risk for lung squamous cell carcinoma. J Thoracic Oncol, 6:813-817, 2011.
18. Yatabe Y, Matsuo K, Mitsudomi T. Heterogenous distribution of EGFR mutations is extremely rare in lung adenocarcinoma. J Clin Oncol 2011;29:2972-2977
19. OIto H, McKay JD, Hosono S, Hida T, Yatabe Y, Mitsudomi T, Brennan P, Tanaka H, Matsuo K. J Thorac Oncol (in press)
20. Sawada N, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Shimazu T, Yamaji T, Takashi R, Tanaka Y, Mizokami M, Tsugane S. Consumption of n-3 Fatty Acids and Fish Reduces Risk of Hepatocellular Carcinoma. Gastroenterology. 2012.
21. OSawada N, Iwasaki M, Inoue M, Takachi R, Sasazuki S, Yamaji T, Shimazu T, Endo Y, Tsugane S. Long-term dietary cadmium intake and cancer incidence: Japan Public Health Center-based Prospective (JPHC) Study. Epidemiology. 2012;23:368-76.
22. Michikawa T, Inoue M, Shimazu T, Sawada N, Iwasaki M, Sasazuki S, Yamaji T, Tsugane S. 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.
23. Takachi R, Tsubono Y, Baba K, Inoue M, Sasazuki S, Iwasaki M, Tsugane S, For The Japan Public Health Center-Based Prospective Study G. Red meat intake may increase the risk of colon cancer in Japanese, a population with relatively low red meat consumption. Asia Pacific journal of clinical nutrition. 2011;20:603-12.
24. Takachi R, Ishihara J, Iwasaki M, Hosoi S, Ishii Y, Sasazuki S, Sawada N, Yamaji T, Shimazu T, Inoue M, Tsugane S. Validity of a self-administered food frequency questionnaire for middle-aged urban cancer screenees: comparison with 4-day weighed dietary records. Journal of epidemiology 2011;21:447-58.
25. Hara A, Sasazuki S, Inoue M, Shimazu T, Iwasaki M, Sawada N, Yamaji T, Ishihara J, Iso H, Tsugane S. Use of vitamin supplements and risk of total cancer and cardiovascular disease among the Japanese general population: A population-based survey. BMC Public Health. 2011;11:540.
26. Ishiguro S, Inoue M, Tanaka Y, Mizokami M, Iwasaki M, Tsugane S. Impact of viral load of hepatitis C on the incidence of hepatocellular carcinoma: A population-based cohort study (JPHC Study). Cancer Lett. 2011;300:173-9.
27. Shimazu T, Inoue M, Sasazuki S, Iwasaki M, Sawada N, Yamaji T, Tsugane S. Plasma Isoflavones and the Risk of Lung Cancer in Women: A Nested Case-Control Study in Japan. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2011;20:419-27.
28. Suzuki R, Iwasaki M, Inoue M, Sasazuki S, Sawada N, Yamaji T, Shimazu T, Tsugane S. Body weight at age 20 years, subsequent weight change and breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status--the Japan public health center-based prospective study. Int J Cancer. 2011;129:1214-24.
29. Michikawa T, Inoue M, Shimazu T, Sasazuki S, Iwasaki M, Sawada N, Yamaji T, Tsugane S. Green tea and coffee consumption and its association with thyroid cancer risk: a population-based cohort study in Japan. Cancer Causes Control. 2011;22:985-93.

(学会発表)

1. 中野 毅、木梨陽康、杉村 隆、若林敬二、中釜 斉: 放線菌由来分泌蛋白質による核酸のADP-リボシル化反応 第84回日本生化学会大会(2011年9月 京都)
2. 石野孔祐、加藤竜也、戸塚ゆ加里、中釜 斉: ナノマテリアルによりマウス肺に誘発されるDNA付加体の網羅的解析 第59回質量分析総合討論会(2011年9月 大阪)
3. 福田博政、中釜 斉: PhIP暴露後の細胞応答の変化 第70回日本癌学会学術総会(2011年10月 名古屋)
4. 筆宝義隆、中釜 斉: 腸管発がんのin vitro再構成 第70回日本癌学会学術総会: 予防薬・治療薬開発のための動物モデル (2011年10月 名古屋)
5. Ochiai M, Onuma K, Dobashi S, Nakagama H, Hippo: Development of *in vitro* system to reconstitute genetic

- interactions in intestinal carcinogenesis 第70回日本癌学会学術総会(2011年10月 名古屋)
6. Onuma K, Dobashi S, Ochiai M, Nakagama H, Hippo Y: Dissecting potential roles of inflammation in carcinogenesis with *in vitro* reconstitution model 第70回日本癌学会学術総会(2011年10月 名古屋)
 7. Onuma K, Hippo Y, Nakagama H: *In vitro* reconstitution of inflammation-related colon carcinogenesis 第16回日韓がん研究ワークショップ(2011年12月 札幌)
 8. 小沼邦重、筆宝義隆、土橋祥子、落合雅子、稲瀬安希、中釜 斉: *in vitro* 腸発がん再構成系における炎症の発がん促進作用 平成23年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ(2012年1月 大津)
 9. 稲瀬安希、筆宝義隆、小沼邦重、土橋祥子、落合雅子、中釜 斉: *in vitro* 発がん再構成系を用いたMSH2欠損関連大腸発がん経路の解析 平成23年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ(2012年1月 大津)
 10. 白井秀徳、藤森浩彰、平井崇久、Anna Margareta Rydén、原田博美、益谷美都子: Function of Parg in signal transduction of DNA damage response. 第84回日本生化学会大会シンポジウム(2011年9月 京都)
 11. 今井俊夫: 低・中分化型形質を呈するDMBA誘発ラット乳がんの分子病理学的解析 第58回日本実験動物学会総会(2011. 5 東京)
 12. 今井俊夫、高橋真美: DMBA誘発ラット乳腺発がんにおける若齢期高レプチン血症の影響 第18回日本がん予防学会(2011. 6 京都)
 13. 今井俊夫、高橋真美: DMBA誘発ラット乳腺発がんに対する高レプチン血症の促進作用 第70回日本癌学会学術総会(2011. 10 名古屋)
 14. 今井俊夫、高橋真美: ラットにおける高レプチン血症による乳腺発がん促進と乳がんの悪性化 第153回日本獣医学会学術集会(2012. 3 さいたま)
 15. 荒川博文、シンポジウム・疾患に関与するミトコンドリア研究の新展開 演題「修復と排除: p53誘導性タンパク質Mieapによる新規ミトコンドリア品質管理機構」平成23年9月24日、第84回日本生化学会大会(京都)
 16. 荒川博文、2011JCA-Mauverney Award受賞講演 演題「がんのアキレス腱を知る～p53標的遺伝子研究からのアプローチ」平成23年10月4日、第70回日本癌学会学術総会(名古屋市)
 17. 吉田将紀、喜多村憲章、中村康之、宮本嵩史、加美野宏樹、村井竜也、尾野雅哉、荒川博文 口演発表、演題「リソソーム様オルガネラがミトコンドリア内に存在する可能性とミトコンドリア品質管理におけるその役割について」、平成23年10月4日、第70回日本癌学会学術総会(名古屋市)
 18. 中村康之、喜多村憲章、宮本嵩史、吉田将紀、加美野宏樹、村井竜也、荒川博文 ポスター発表、演題「修復と排除: p53誘導性タンパク質Mieapによる新規ミトコンドリア品質管理機構」平成23年10月3日、第70回日本癌学会学術総会(名古屋市)
 19. 中村康之、喜多村憲章、吉田将紀、加美野宏樹、村井竜也、荒川博文 口演発表、演題「Mieap, a p53-inducible protein, controls mitochondrial quality by repairing or eliminating unhealthy mitochondria」、平成23年12月14日、第34回日本分子生物学会年会(横浜市)
 20. 喜多村憲章、中村康之、吉田将紀、加美野宏樹、村井竜也、荒川博文 口演発表、演題「Possible existence of lysosome-like organella within mitochondria and its role in mitochondrial quality control」、平成23年12月15日、第34回日本分子生物学会年会(横浜市)
 21. 吉田将紀、中村康之、喜多村憲章、村井竜也、加美野宏樹、荒川博文 口演発表、演題「BNIP3 and NIX mediate Mieap-induced accumulation of lysosome-like organelles within mitochondria」、平成23年12月15日、第34回日本分子生物学会年会(横浜市)
 22. 山田雄司、栗田亜也、馬淵良太、伴野勸、三好規之、大島寛史「ヒト肝がん細胞HepG2におけるHep27タンパク質のアセトアルデヒド修飾」第84回日本生化学会(京都)2011年9月
 23. 馬淵良太、三好規之、横山顕、諏訪芳秀、栗木清典、合田敏尚、雨谷敬史、大島寛史: Analysis of N^ε-ethyllysine in human plasma proteins as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol. 日本環境変異原学会第40回大会(東京)2011年11月
 24. 楢村春彦、新村和也 酸化的DNA損傷修復に関わる遺伝子多型とヒト発がん 2011年11月21日 日本環境変異原学会講演
 25. Yukari Totsuka, Tatsuya Kato, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe, Hitoshi Nakagama; Genotoxicity of aminobenzoazepinoquinolinone derivative formed from tryptophan and glucose by Maillard reaction, 日本癌学会第70回大会(名古屋、10月3-5日)
 26. Kousuke Ishino, Yukari Totsuka, Tatsuya Kato, Hitoshi Nakagama; A comprehensive analysis of DNA adducts in mice exposed to nanomaterials, 日本癌学会第70回大会(名古屋、10月3-5日)
 27. Kumi Ootsuka, Yukari Totsuka, Keiji Wakabayashi, Tatsuo Nunoshiba, Tetsushi Watanabe, Hitoshi Nakagama; In vivo mutagenicity of aminobenzoazepinoquinolinone derivative (ABAQ) formed from L-tryptophan

- and glucose by the Maillard reaction, 日本環境変異原学会第40回大会 (東京、11月21-22日)
28. Kousuke Ishino, Tatsuya Kato, Tomonari Matsuda, Yukari Totsuka, Hitoshi Nakagama ; A comprehensive analysis of DNA adducts in lungs of mice exposed to nanomaterials using nanoLC-QToF MS 日本環境変異原学会第40回大会 (東京、11月21-22日)
 29. Masanori Yamada, Yuko Shimamura, Yukari Totsuka, Naoyuki Inaba, Souleymane Coulibaly, Yuka Tamura, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Shuichi Masuda : Formation of a novel mutagen, ABAQ under diabetic condition in vivo. 日本環境変異原学会第40回大会 (東京、11月21-22日)
 30. 竹内 智規, 松田 俊, 足立 淳, 服部 友美, 井倉 正枝, 井倉 毅, 松田 知成. (2011) BN/SDS-PAGE を用いた MLH1 複合体の解析, In 日本環境変異原学会 (JEMS) 第40回大会, p 136, 東京.
 31. 宋 明芬, 李 云善, 河井 一明, 松田 知成, 葛西 宏. (2011) フリーラジカル機構を介した発がんプロモーター cumene hydroperoxide によるマウス皮膚 DNA のメチル化, In 第70回 日本癌学会学術総会, p 477, 名古屋.
 32. 松田 俊, 足立 淳, 井原 賢, 田沼 延公, 島 礼, 井倉 正枝, 井倉 毅, 松田 知成. (2011) ピルビン酸キナーゼ PKM2 とダイオキシン受容体 AhR の相互作用の機能解明, In 日本環境変異原学会 (JEMS) 第40回大会, p 143, 東京.
 33. 小山 倫浩, 余 旭勝, 辻 真弓, 田中 政幸, 松田 知成, 浦本 秀隆, 田中 文啓, 川本 俊弘. (2011) エタノール 摂取によるアルデヒド脱水素酵素 2 ノックアウトマウスの体重変動と生存率, In 第70回 日本癌学会学術総会, p 158, 名古屋.
 34. 加藤 杏子, 山田 勉也, 武藤 重治, 山村 英二, 松田 知成, 杉山 明男. (2011) ラットを用いた骨髄小核試験における DNA アダクトーム解析, In 日本環境変異原学会 (JEMS) 第40回大会, p 96, 東京.
 35. 片岡洋行, 井上勉, 齋藤啓太 In-tube SPME/LC-MS/MS 法による発がん性ヘテロサイクリックアミン類の高感度分析 第18回クロマトグラフィシンポジウム (2011年6月 福岡市)
 36. 齋藤恭子, 鈴木 哲朗, 相崎英樹, 花田 賢太郎, 脇田 隆字, 西島 正弘, 深澤 征義: スクワレン合成酵素を標的とした C 型肝炎ウイルス産生阻害、第53回日本脂質生化学会、東京、2011.5.12-13
 37. Masayoshi Fukasawa, Yoshitaka Shirasago, Kyoko Saito, Yuko Murakami, Hidesuke Fukazawa, Tetsuro Suzuki, Ryosuke Suzuki, Takaji Wakita, Kentaro Hanada, Jo Chiba: Isolation of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, The 18th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12
 38. Hideki Aizaki, Yoshihiro Matsumoto, Koji Goto, Kooichi Watashi, Ryosuke Suzuki, Masayoshi Fukasawa, Kentaro Hanada Shigeko Sato, Nobuhiro Takahashi, Yoshiharu Matsuura, Kiyoto Motojima, Tatsuo Miyamura, Tetsuro Suzuki, Takaji Wakita: Identification of lipid droplet-associated membrane proteins that are involved in HCV production, IUMS2011, Sapporo, 2011.9.6-16
 39. Yoshitaka Shirasago, Kyoko Saito, Yuko Murakami, Hidesuke Fukazawa, Tetsuro Suzuki, Takaji Wakita, Kentaro Hanada, Jo Chiba, Masayosi Fukasawa: Isolation and characterization of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, IUMS2011, Sapporo, 2011.9.6-16
 40. Matsuo K, Yatabe Y, Mitsudomi T, Tajima K. Epidemiologic study considering molecular characteristics of cancer. 第70回日本癌学会総会シンポジウム: がん疫学研究の現状と展望 (2011年10月 名古屋)
 41. 山地太樹, 岩崎 基, 笹月静, 坂本裕美, 吉田輝彦, 津金昌一郎 “血漿ビタミンD濃度およびビタミンDレセプター遺伝子多型と大腸腺腫との関連” 第70回日本癌学会学術総会 (愛知県名古屋市)、2011 (平成23) 年10月3日-5日
 42. 小野弘恵, 岩崎 基, 口羽文, 大浪澄子, 坂本裕美, 吉田輝彦, 津金昌一郎 白血球由来 DNA のグローバルなメチル化レベルと葉酸代謝に関わる食事・遺伝的要因の関連 第70回日本癌学会学術総会 (愛知県名古屋市)、2011 (平成23) 年10月3日-5日
 43. 澤田典絵, 岩崎 基, 井上真奈美, 笹月静, 山地太樹, 島津太一, 津金昌一郎 血中性ホルモン濃度と前立腺がん罹患との関連: 多目的コホート研究より 第22回日本疫学会学術総会 (東京)、2012 (平成24) 年1月26-28日
 44. 高地リベカ, 坪野吉孝, 井上真奈美, 笹月 静, 岩崎 基, 津金昌一郎 赤肉・加工肉摂取量と大腸がん罹患リスクとの関連: JPHC Study 第22回日本疫学会学術総会 (東京)、2012 (平成24) 年1月26-28日
 45. 原 梓, 笹月 静, 井上真奈美, 島津太一, 岩崎 基, 澤田典絵, 山地太樹, 石原淳子, 磯博康, 津金昌一郎 ビタミンサプリメント摂取と全がん・循環器疾患リスクとの関連: 多目的コホート研究 第22回日本疫学会学術総会 (東京)、2012 (平成24) 年1月26-28日