

13 - 14 大腸がんの高危険度群を対象とするがん予防介入試験に関する研究

主任研究者 兵庫医科大学 石川 秀 樹

研究成果の要旨

本研究では、大腸がんの高危険度群に対し3つの無作為割付臨床試験を実施した。

1) 大腸腫瘍摘除者に対する食生活介入試験：対象者219人を実験群104人、対照群102人に割付けた。介入前の実験群・対照群の背景に差はなく、生物学的受容指標においても良好な受容性が得られた。あと2年以内で完遂の予定である。

2) 大腸腫瘍摘除者に対する運動指導介入試験：211人中165人が食事指導の参加を承諾、運動負荷の除外項目に抵触しない127人中103人を無作為に運動療法・食事療法群53人と食事療法のみ群50人に割り付け、2年間の介入は完遂した。2年目の腺腫の発生率では、運動療法を行った群で有意差はないが発生はやや減少する傾向が見られた。

3) 遺伝性非ポリポーシス大腸がん（HNPCC）に対する発がん予防試験：HNPCC患者100人を対象に、Sアリルシステインを主成分とした熟成ニンニク抽出（AGE）カプセルによる二重盲検無作為割付介入試験を実施した。2005年3月末までに、75人に参加を呼びかけ59人（79%）の参加同意を得た。参加同意後に6人が参加を中止した。あと3年以内で完遂の予定である。

研究者名および所属施設

研究者名 所属施設および職名

石川 秀 樹 兵庫医科大学医学部 助手

徳留 信 寛 名古屋市立大学大学院医学研究科 教授

富田 尚 裕 関西労災病院 部長

野 水 整 星総合病院 診療部長兼主任外科部長

松浦 成 昭 大阪大学大学院医学系研究科 教授

平田 敬 治 産業医科大学医学部 助手

HNPCCにおける発がん予防に関する研究

大腸腫瘍摘除後の腫瘍予防のための食生活介入研究

病歴聴取および腫瘍組織 R E R 解析からのHNPCCスクリーニングの検討

HNPCCの臨床的研究

HNPCCにおける細胞増殖・アポトーシス等に関する研究

HNPCCの発がん機序に関する研究

総括研究報告

1 研究目的

本研究の目的は、大腸がんの高危険度群に対して、食品成分の投与や生活習慣変容による3つの無作為割付臨床試験を実施し、大腸がん予防法を開発することである。

1) 大腸腫瘍摘除者に対する食生活介入試験 大腸

腫瘍摘除後の患者に対し、多価不飽和脂肪酸のn3 / n6比を上げる食事指導による無作為割付介入試験を完遂する。

2) 大腸腫瘍摘除者に対する運動指導介入試験 大腸多発腫瘍摘除後の患者に対して、フィットネスクラブでの運動勧奨による無作為割付介入試験を完遂する。

3) 遺伝性非ポリポーシス大腸がん（HNPCC）に対する

る発がん予防試験 HNPCC 患者 100 人を対象に、S アリルシステインを主成分とした熟成ニンニク抽出 (AGE) カプセルによる二重盲検無作為割付介入試験を実施する。それにあわせて HNPCC の実態把握と大腸背景粘膜の mRNA 発現量測定による中間代理指標の開発を行う。

2 研究成果

1) 大腸腫瘍摘除者に対する食生活介入試験

徳留らにより、大腸腫瘍の内視鏡的摘除を受けた患者を対象に、実験群・対照群の無作為割付を行い、インフォームドコンセントを入手した。実験群には、a) 総脂肪摂取抑制、b) n-6PUFAs (リノール酸など) を多く含む植物油摂取の抑制、c) 魚介類摂取の勧奨、d) α -リノレン酸を多く含むしそ油摂取の勧奨、e) 魚油製剤 (EPA 100mg/日 + DHA 400mg/日相当量) 摂取の勧奨を行っている。対照群には総脂肪摂取抑制のみを導入している。

対象者 219 名 (男 163 名、女 56 名) を実験群 104 名 (男 76 名、女 28 名)、対照群 102 名 (男 76 名、女 26 名) に割付けた (拒否 13 名)。介入前において、実験群・対照群の年齢、男女比、BMI、摂取エネルギー、飲酒・喫煙習慣、血清脂質 (TG や HDL-C)、PT、過酸化脂質などの血液検査項目、大腸内視鏡検査結果 (腫瘍の数、大きさ、性状) などには両群に差はなかった。実験群の微量抗酸化物質や食物繊維の摂取量、運動習慣、血清 TC は高かったが、本研究の介入内容である総脂質、n-6PUFAs、n-3PUFAs の摂取量、脂肪エネルギー比には有意差はなく、概ね良好な無作為割付が行われた。

これまでに、実験群 66 名 (男 48 名、女 19 名) と対照群 52 名 (男 43 名、女 9 名) のエンドポイントにおいて、コンプライアンスマーカーおよび中間マーカーを評価した。実験群では、摂取エネルギー、脂質エネルギー比や食用油の摂取量が有意に減少し、青身魚由来の脂質とタンパク質が有意に増加した。脂肪酸摂取では、一価不飽和脂肪酸やリノール酸が主たる構成成分である n-6PUFAs が有意に減少し、 α -リノレン酸、EPA、DHA で構成される n-3PUFAs が有意に増加したことにより、n-6PUFAs/n-3PUFAs は有意に低下した。一方、対照群では脂肪酸の変化はみられなかった。

一般血液検査では、実験群の TG が有意に減少したが、対照群では血清 TC や血糖値が有意に上昇した。副反応の指標として、PT や過酸化脂質などを評価した

が、副反応が出現するほどではなかった。実験群において、各種脂肪酸の摂取量の変化に対応して、その血漿中濃度は有意に変化した。対照群では変化はみられなかった。現在、赤血球膜・S 状結腸粘膜中脂肪酸構成の分析を行っている。また、S 状結腸粘膜におけるアポトーシスマーカー (TUNEL、Bax、Bcl-2) や細胞増殖マーカー (Ki-67) の免疫化学組織染色の分析も継続している。

これまでのところ、良好なコンプライアンスが得られ、エンドポイントも期待される傾向が観察されている。引き続き、コンプライアンスを維持して、エンドポイントの解析に耐えうるデータの維持と管理が必要である。

2) 大腸腫瘍摘除者に対する運動指導介入試験

石川らは、大腸腫瘍摘除者に対する運動指導介入試験として、適応基準に合致した 211 人に参加を呼びかけ、165 人 (78%) が食事指導についての参加を承諾した。参加を承諾した 165 人のうち運動負荷に関する除外項目により除外された 41 人を除く 127 人について運動負荷療法についての無作為割付試験について再び参加を呼びかけた。103 人 (81%) が参加を承諾し、運動療法および食事療法をおこなう 53 人と食事療法のみを行う 50 人に無作為に割り付けされた。2 年間の介入はすべて終了した。2 年目の腺腫の発生率では、運動療法を行った群で有意差はないが発生はやや減少する傾向が見られた。また、運動療法を行った群の 2 年目の大腸背景粘膜で cyclin D1、PCNA mRNA 発現が減少し、Bax mRNA 発現は増加する傾向が見られた。

3) 遺伝性非ポリポーシス大腸がん (HNPCC) に対する発がん予防試験

HNPCC に対する発がん予防試験を行うための基礎検討のために下記の検討を行った。富田らは、遺伝性非ポリポーシス性大腸癌 (HNPCC) の診断における病歴および臨床病理学的諸因子の重み、および RER 解析の有用性を検証し、臨床上有用な HNPCC スクリーニングの strategy を確立するため、大阪遺伝性大腸癌研究会 (代表世話人：岩永 剛先生) の中での多施設共同研究 (阪神地区 18 施設) として、HNPCC を疑う大腸癌症例を集積し、検討を行った。

2003 年 7 月に症例集積の完了した第 2 次研究の結果を踏まえて、今回の第 3 次研究においてはエントリー基準の一部改定を行い、改定アムステルダム基準合致

例、50歳未満の若年者例、同時性あるいは異時性大腸多発癌、同時性あるいは異時性多臓器重複癌、第1度近親者に少なくとも2名のHNPCC関連癌を有する大腸癌（HNPCC関連癌には、大腸癌、胃癌、子宮癌、小腸癌、膵癌、腎盂・尿管癌を含む）、主治医がHNPCCの可能性を考える大腸癌の術前大腸癌症例のエントリーを行った。

インフォームドコンセント取得の後、手術時に摘出標本から腫瘍および正常部分を採取凍結し、DNAを抽出の後、PCR法を用いて5つのmicrosatellite marker（D2S123, D3S1067, TP53, D18S51, BAT26）でのMSI解析を行い、2つ以上陽性の場合をMSI-high、1つ陽性の場合をMSI-low、陰性の場合をMSSと判定した。エントリー項目および臨床病理学的因子とMSIとの関連について検討すると共に、アムステルダム基準合致例、およびMSI-high症例に関しては、患者に説明の上、可能な場合は別の臨床研究（菅野班（吉田班）班研究）として原因遺伝子の遺伝子診断を行った。

現時点での登録症例39例中、症例登録書(CRF)回収は34例、解析終了は37例。MSI-highは6例(16.2%)、MSI-lowは2例(5.4%)であった。現在までに2例において遺伝子診断を行い、うち1例にhMSH2遺伝子のgermline mutation（病的変異との既報告あり）が確認された。今回の第3次研究においては、それまでの第1次、第2次におけるエントリー基準の大きな項目であった本邦の臨床診断基準を敢えて削除したが、現在のところ、登録症例数は少なくなったものの、MSI-highの割合は16.2%と、2次研究の12.2%よりも上昇し、またその中からHNPCCを疑って遺伝子診断の実施に至った症例も既に2例出ている。

野水らは、遺伝性非ポリポーシス大腸癌におけるTGF β 型レセプターを中心とした免疫染色の検討を行った。対象はHNPCC13例28病変、若年者大腸癌4例、一般大腸癌21例である。免疫染色はABC法により、TGF β Rはup state 06-227、Ki67はZYMED 7B11、BAXはDAKO A3533、bcl-2はDAKO 124の抗体を使用した。TGF β Rの染色率は、一般大腸癌において、正常部で71.4%、腫瘍部で52.4%、HNPCCにおいて、正常部で28.6%、腫瘍部で28.6%、若年者大腸癌では、正常部で100%、腫瘍部で75%であった。BAXでは、一般大腸癌において、正常部で66.7%、腫瘍部で61.9%、HNPCCにおいて、正常部で64%、腫瘍部で64%、若年者大腸癌では、正常部で100%、腫瘍部で100%であった。Bcl-2では、一般大腸癌において、正常部で28.6%、腫瘍部で4.8%、

HNPCCにおいて、正常部で3.6%、腫瘍部で3.6%、若年者大腸癌では、正常部で0%、腫瘍部で0%であった。Ki67 labeling index(Ki67-LI)では、一般大腸癌において、77.8%、HNPCCにおいて、19.2%、若年者大腸癌では、80%であった。一般大腸癌に比較し、HNPCCでのKi67の染色性が有意に低く、HNPCCの予後を良好にしている一因は、細胞増殖能が低いことが関係している可能性も考えられた。

また、野水らは、HNPCCの遺伝子変異検出率を上げるためにMultiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)法を行い、HNPCC家系で、これまでに見いだすことのできなかったhMLH1のexon4-19の欠失を見いだした。

松浦らは、HNPCCにおける細胞増殖・アポトーシス等に関する研究として、大腸癌介入試験における分子生物学的バイオマーカー測定に関する基礎的研究を行った。本研究の関連プロジェクトである小麦ふすま、乳酸菌製剤および運動負荷の介入試験において採取された大腸粘膜生検サンプルを材料にして、多数の分子マーカーを検討し、サンプル中の保存状態、安定性、再現性ならびに結果の有意性からcyclin D1、PCNA（proliferating cell nuclear antigen）およびBax mRNA発現の測定が最も有効であることを明らかにした。介入の有無にかかわらず、大腸腫瘍の既往歴のある患者の大腸粘膜生検サンプルでCyclin D1あるいはPCNAのmRNA発現高値症例およびBax mRNA発現低値症例では異型度の強い腺腫が発生するリスクが2倍程度に増加する結果が得られた。また、これらのmRNA発現レベルと喫煙、アルコール摂取を初めとする種々の生活習慣との間には有意な相関が見られた。中間代理指標として非腫瘍部である大腸粘膜上皮を採取し、そのmRNAを評価するのは技術的にも容易で、定量性、客観性にも優れているので、将来、大腸腺腫、さらには大腸癌の代理マーカーとして測定することが期待できると考えられた。

平田らは、1,2-dimethylhydrazine (DMH)によるラット大腸発癌モデルを用いて、AGEの発癌抑制効果を検討した。5週齢の雄SDラット60匹をcontrol群(n=12)、AGE単独投与群(n=12)、1,2-dimethylhydrazine (DMH)単独投与群(n=18)、DMHおよびAGE投与群(n=18)の4群に分けた。AGE投与群には4%のAGEを配合したペレットを経口投与し、AGE非投与群にはCE-2基本飼料を与えた。DMH投与群には実験開始2週間後よりDMH(20mg/kg)を週1回20週間皮下投与し、DMH非投与群には生理食

塩水を皮下投与した。DMH投与開始から25週目に全ラットを屠殺し、体重、各種臓器重量、大腸腫瘍の発生頻度、大腸aberrant crypt foci(ACF)の発生頻度の検討、HE染色による病理組織学的診断、非腫瘍部粘膜のKi-67(MIB-5)、ssDNA、Bax免疫染色を行った。飼料摂取量は各群間で有意差が無かった。体重、肝重量および相対肝重量はDMH投与で減少したが、脾重量はDMH投与で増加した。DMH非投与群は両群共に大腸腫瘍が発生しなかったが、DMH単独群では 3.7 ± 1.0 個(mean $\pm$ S.D)、発生率93.3%と腫瘍を認めた。DMH+AGE群でも 1.0 ± 1.0 個、発生率66.7%と腫瘍が認められたが、平均個数はDMH単独群と比較して有意($p=0.0081$)に減少していた。DMH非投与群は両群共に大腸ACFの発生を認めなかったが、DMH単独群では 273.3 ± 106.0 個、DMH+AGE群では 141.6 ± 75.2 個のACFが発生し、両群間に有意差($p<0.0001$)を認めた。MIB-5 indexもDMH単独群が $37.8 \pm 9.0\%$ 、DMH+AGE群が $22.9 \pm 8.3\%$ と、AGE投与により有意($p<0.0001$)に低下した。ssDNA免疫染色によるapoptosis indexはDMH単独群が $0.86 \pm 0.36\%$ 、DMH+AGE群が $0.74 \pm 0.34\%$ と、AGE投与により低下する傾向があったが、Bax陽性細胞はDMH単独群が $26.4 \pm 10.0\%$ 、DMH+AGE群が $33.5 \pm 12.9\%$ と、AGE投与により増加する傾向があった。これらのことより、AGEはDMH投与による大腸発癌を抑制し、大腸癌の化学予防効果を持つことが示唆された。その機序として細胞増殖抑制が考えられた。

石川らはHNPCCにおける発がん予防に関する研究として、HNPCCまたはその病的変異保有者を対象とし、熟成ニンニク抽出物が大腸がんの発生を予防するか否かを、二重盲検による無作為割付臨床試験により検討した。

対象は、アムステルダム診断基準 類似基準に合致するHNPCC関連がん術後患者または、遺伝子診断にてHNPCC関連遺伝子に異常があることが判明した者である。アムステルダム診断基準 類似基準合致例とは、3名以上の血縁者がHNPCC関連がん(大腸がん、子宮内膜がん、小腸がん、腎盂・尿管がん、胃がん)に罹患しており、かつ、罹患の1名は他の2名の第一度近親者であること、少なくとも継続する2世代にわたり罹患者がいること、罹患者の1名は50歳未満で診断されていること、家族性大腸腺腫症が除外されていることのすべての条件に合致していることである。年齢は25歳以上とする。説明と同意(インフォームドコンセント)はすべて面談により、小冊子を用いながら、

口頭で詳しく説明し、同意の取得は自署による署名を得る。

登録後、半年以内に大腸内視鏡検査を行い、大腸腫瘍の有無を確認、S状結腸粘膜の正常部位から2カ所の粘膜採取を行った後に、試験食品の投与を開始する。

割付方法は、試験統計家が、性、年齢(50歳以上・50歳未満)、大腸手術既往の有無、遺伝子変異の有無による層別化ブロックランダム法により、無作為に熟成ニンニク抽出物(AGE)を服用するAGE群と、無機能食品を服用するNF群に分ける。試験食品はデータセンターから参加者に直接郵送する。服用状況は、服用日誌の記録と、服用しなかった試験食品の回収、2年目の採血によるSアリルシステイン濃度の測定により把握する。

AGE、は熟成ニンニク抽出液に賦形剤としてセルロースを加え乾燥した熟成ニンニクエキスをカプセルに充填し、1日量である4カプセルに熟成ニンニク抽出液1.6 ml(エキス分として約480~500 mg)、セルロース735 mg、ショ糖脂肪酸エステル11 mgを含有する。無機能食品は、4カプセルにセルロース735 mg、ショ糖脂肪酸エステル11mg、スターチ494mgを含有する。

試験開始時と終了時に全大腸内視鏡検査を実施し、大腸病変の有無を確認する。もしも、隆起性病変があった場合には、生検による組織診断を実施する。内視鏡検査時にS状結腸の2カ所より大腸粘膜採取し、mRNAの抽出を行う。それ以外に、免疫学的検査としてNK細胞活性、NK細胞数、各種免疫関連サイトカインの測定、食事内容調査として、栄養士の電話による聞き取りによる平日3日間連続食事調査、体力測定として、ステップテスト負荷による心拍数、乳酸上昇閾値の測定、運動量調査として加速時計(ライフコーダー)1週間装着などを行う。予定患者数は100人、各群50人である。呼びかけ期間は2002年1月1日~2006年9月30日であり、試験が終了するのは2008年9月30日である。試験終了後も10年間は追跡を行う予定である。中間解析は実施しない。

2005年3月末までに、HNPCCが疑われる患者及びその家族144人に面談を行い、家族歴既往歴の聴取や、遺伝子検査のためのカウンセリングなどを行った。その結果、93人がアムステルダム類似診断基準に合致した。内視鏡検査時期や抗がん剤の服用の有無などより、参加を呼びかけることのできない者を除く75人に参加を呼びかけ59人(79%)の参加同意を得た。参加同意

後に6人が参加を中止した。

これまでに試験食品による重篤な有害事象は認めていない。

本研究に用いる予防候補物質としては、観察的疫学研究及び基礎的研究の成績を総合的に検索した結果、熟成ニンニク抽出物を採用した。ニンニクは、観察的疫学研究である症例対照研究やコホート研究において、大腸がんの発生を予防する可能性が強く示唆されている。In vitroや動物実験における検討でも、大腸を含む種々の腫瘍の発生を抑制することが報告されており、ニンニクの発がん抑制においてはイオウ化合物が重要な働きをすることも示唆されている。しかし、がん予防目的でニンニクなどを摂取する場合は、毎日一定量を継続して摂取することが必要であるが、生ニンニクには強烈な臭いと刺激があり、毎日の摂取は必ずしも容易ではない。また、過剰摂取により、胸焼け・下痢・胃腸粘膜の障害などが引き起こされることも報告されており、これは、アリシン或いはその分解産物である脂溶性イオウ化合物に起因すると考えられている。他方、ニンニクを希エタノール中で18ヶ月以上抽出・熟成し、抽出液を滅菌ろ過して得られたエキス(熟成ニンニク抽出物、Aged Garlic Extract: AGE)は、臭いと刺激性が低減されており、前臨床試験にて安全性も確認されている。更に、滋養強壮剤としての長期間の使用経験、臨床試験などを通じて、ヒトでの安全性も非常に高いといえる。これら考慮して、本研究においてはAGEを採用することとした。

ニンニクに特有なイオウ化合物の中でも水溶性の化合物に富むことがAGEの特徴とされており、抗ストレス作用、コレステロール低下作用、血小板凝集及び接着抑制作用、抗酸化作用、免疫能賦活作用、解毒作用、学習能力及び記憶改善作用などの薬理作用が報告されている。

AGEの発がん抑制については、動物実験で皮膚・大腸・肝臓・乳腺における腫瘍の発生抑制、in vitroではアフラトキシンB1・ベンズピレンによるDNA障害を抑制することが報告されている。また、AGE中の主要なイオウ化合物であるS-アリルシステインについても、大腸、乳腺、ハムスター頬袋における腫瘍の発生を抑制することが知られている。抑制のメカニズムとしては、第二相解毒酵素であるGlutathione-S-Transferaseの活性化、グルタチオンの増加などが考えられている。AGEは抗酸化作用を有しており、代謝活性化された発がん物質(ラジカル)に対してスカベンジャーとして

作用することが考えられる。

HNPCCにおける大腸がんの特徴の一つである組織学的にリンパ球の浸潤が強いことを考えると、AGEの持つ免疫賦活作用も腫瘍発生と増殖に抑制的に作用することが予測される。AGEの免疫賦活作用としては、リンパ球の増殖促進、リンフォカイン(IL-2、TNF α 、INF γ)の分泌促進、NK活性・LAK活性及びマクロファージ貪食能の促進などが報告されている。このような免疫能賦活化に基き、マウス移植Sarcome-180・Lewis lung carcinoma LL/2・膀胱がん細胞(MBT-2)など増殖抑制が報告されている。更に、人においても、進行がん患者及びAIDS患者へのAGE投与によりNK活性の上昇が認められている。

近年、種々の化学予防物質を用いたがん予防介入試験が行われているが、生薬や食品素材自体を用いた介入試験はほとんど進んでいない。NCIが実施したDesigner Food Programで最も予防の期待される食品として位置付けられたニンニクについては、NCIとBeijing Institute of Cancer Researchとの共同でAGEを用いて胃がんの発生抑制に関する介入試験が1995年より中国で進行中である。これらの経緯を経て、本研究ではHNPCCに対する予防物質にAGE採用した。

この試験は、遺伝子診断により発癌の超高危険度群を設定し、分子生物学的指標の変化を把握することにより発癌予防効果を把握しようとする試みであり、これからの発癌予防における臨床試験のモデルになるものと考えている。

3 倫理面への配慮

すべての試験の参加者には、面接により本試験に関する詳細な説明を行い、十分な理解の上でインフォームドコンセントを得ること、試験参加者の資料に関しては厳重な管理を行い個人情報の漏洩がないようにすること、試験参加中のいつでも参加者の希望により試験を中止できるような体制をとること、参加施設すべての倫理委員会の承認を得ることなどを行っている。

研究成果の刊行発表

外国語論文

1. Ishikawa, H., Chemoprevention of carcinogenesis in familial tumors. Int J Clin Oncol, 9:299-303, 2004.
2. Kaji, I., Ishikawa, H., et al. Outcome of 51 nonmalignant nodules in the liver: usefulness

- of aspiration cytology for diagnosis of dysplastic nodules. J. Exp.Clin. Cancer Res, 23:425-431, 2004.
3. Ishikawa, H., et al. Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors. Int. J. Cancer, in-press.
4. Kojima, M., Tokudome, S., et al., Perceived psychologic stress and colorectal cancer mortality: findings from the Japan Collaborative Cohort Study. Psychosomat. Med. 67: 72-77, 2005.
5. Kojima, M., Tokudome, S., et al., Diet and colorectal cancer mortality: results from the Japan Collaborative Cohort Study. Nutr. Cancer 50: 23-32, 2004.
6. Suzuki, K., Tokudome, S., et al., Serum oxidized low-density lipoprotein levels and risk of colorectal cancer: a case-control study nested in the Japan Collaborative Cohort Study. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 13: 1781-1787, 2004.
7. Tamakoshi, K., Tokudome, S., et al., A prospective study of reproductive and menstrual factors and colon cancer risk in Japanese women: findings from the JACC study. Cancer Sci., 95: 602-607, 2004.
8. Kojima, M., Tokudome, S., et al., Bowel movement frequency and risk of colorectal cancer in a large cohort study of Japanese men and women. Br.J. Cancer, 90:1397-1401, 2004.
9. Tamakoshi, K., Tokudome, S., et al., A prospective study of body size and colon cancer mortality in Japan: the JACC Study. Int. J. Obes, 28: 551-558, 2004.
10. Tomita, N. and Ooto, M., Molecular genetic diagnosis for familial tumors. Int. J. Clin. Oncol, 9:246-256, 2004.
11. Tomita, N., Fukunaga, M., et al., The novel germline mutation of hMLH1 gene in a case of suspected hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) patient with no family history of cancer. Jpn.J.Clin.Oncol, 34(9);556-560, 2004.
12. Miyakura Y, Nomizu T, et al., Extensive but hemiallelic methylation of the hMLH1 promoter region in early-onset colon cancers with microsatellite instability, Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2:147-156, 2004.
13. Ito, Y., Matsuura, N., et al. Polo-like kinase 1 overexpression is an early event in the progression of papillary carcinoma. Br J Cancer 90:414-418. 2004.
14. Ogawa, M., Matsuura, N., et al. Hepatic expression of ANG2 RNA in metastatic colorectal cancer, Hepatology, 39:528-539, 2004.
15. Ito, Y., Matsuura, N., et al. Cdc25A and cdc25B expression in malignant lymphoma of the thyroid: Correlation with histological subtypes and cell proliferation, Int J Mol Med, 13:431-435, 2004.
16. Murata, H., Matsuura, N., et al., Helicobacter bilis infection in biliary tract cancer, Aliment Pharmacol Ther, 20: 1-5, 2004.
17. Komazawa, N., Matsuura, N., et al., Tumorigenesis facilitated by Pten deficiency in the skin: Evidence of p53-Pten complex formation on the initiation phase, Cancer Sci, 95:639-643, 2004.
18. Maeda, Y., Matsuura, N., et al., Effects of Peak Inspiratory Flow on Development of Ventilator-induced Lung Injury in Rabbits, Anesthesiology, 101:722-728, 2004.
19. Ogata, T., Matsuura, N., et al., Particle Irradiation Suppresses Metastatic Potential of Cancer Cells, Cancer Res, 65:113-120, 2005.
20. Minagawa, N., Hirata, K., et al., 4-[3,5-bis(trimethylsilyl) benzamido] benzoic acid inhibits angiogenesis in colon cancer through reduced expression of vascular endothelial growth factor. Oncology Res, 14: 407-414, 2004.
21. Nakayama, Y., Hirata, K., et al., Relationships between local and systemic expression of interleukin-12 and plasma levels of vascular endothelial growth factor in patients with gastric cancer. Anticancer Res, 4: 3289-3294, 2004.

22. Sako, T., Hirata, K., et al., 4-[3,5-bis (trimethylsilyl) benzamido] benzoic acid (TAC-101) induces apoptosis in colon cancer partially through the induction of Fas expression. *in vivo*, 19:125-132, 2005.