

厚生労働科学研究費補助金

厚生労働科学特別研究事業

ジアシルグリセロールの発がんプロモーション作用に関する
研究

平成 15 年度 総合研究報告書

主任研究者 飯郷正明

平成 17 (2005) 年 5 月

目次

I. 総合研究報告

ジアシルグリセロールの発がんプロモーション作用に関する 研究-----	1
飯郷正明	

II. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	42
-------------------------	----

III. 研究成果の刊行物・別刷-----	46
-----------------------	----

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金 (厚生労働科学特別研究事業)
総合研究報告書

ジアシルグリセロールの発がんプロモーション作用に関する研究

主任研究者 飯郷 正明 国立がんセンター・研究所
がん予防基礎研究プロジェクト・室長

研究要旨 「体に脂肪が付きにくい食用油」 ジアシルグリセロール (“DAG”) に含まれる 1,2-DAG は、細胞内でプロテインキナーゼ (protein kinase) C を活性化させる物質であり、発がんプロモーターである可能性が指摘されている。本研究では舌、食道、胃、乳腺および他の臓器における“DAG”の発がん亢進・プロモーション作用に対する影響を、舌、乳腺などの発がん高感受性ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子トランスジェニック (Hras 128) ラット (Tg) およびその同腹野生型ラットを用いて検討した。これら雌雄ラットを用い、発がんイニシエーション処置として 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) 10 ppm を実験開始時より 10 週間飲水投与した。このイニシエーション期間およびその後の 10 週間のポストイニシエーション期間の合計 20 週間、“DAG”を高用量 (5.5% “DAG” + 0% トリアシルグリセロール {TAG})、中用量 (2.75% “DAG” + 2.75% TAG)、低用量 (1.375% “DAG” + 4.125% TAG) の 3 用量で自由摂取させた。体重、摂餌量、摂水量とも全ての群で顕著な差は見られなかった。腫瘍発生においては、雄 Tg ラットの舌の扁平上皮がんの頻度および数の傾向解析において、亢進・プロモーション作用が示唆された。雌 Tg および雌雄の野生型では有意差は認められなかった。この結果を確認するために当トランスジェニックおよび野生型ラットを用いた今回よりも高用量、長期間の実験が必要と考えられる。

A. 研究目的

一般の食用油成分は triacylglycerole

(TAG)、つまり三つの脂肪酸がグリセリンとエステル結合した形で存在する。しかし、その三つの脂肪酸のうち一つを欠く

diacylglycerol (DAG)は植物油成分中に数%存在し、二つの脂肪酸とグリセリンとのエステル結合の位置が異なる1,2-および1,3-DAGが存在する。それらは自然界では3:7の比で存在する。通常食べる油TAGは、小腸で脂肪分解酵素リパーゼによって2-モノアシルグリセロールと脂肪酸に分解、そして吸収される。吸収された脂肪酸と2-モノアシルグリセロールはまた小腸上皮細胞においてTAGに再合成され体内に運搬されて利用される。一方、1,3-DAGは小腸で消化分解を受けると、2-モノアシルグリセロールが生成されないために、吸収後にTAGへの再合成がほとんど行われぬ。そのために中性脂肪への転化が少ないと考えられ、これを主成分とした「体に脂肪がつきにくい食用油」(“DAG”)が市販され広く使われている。脂肪酸組成の大きな違いはないが(表1)、“DAG”には1,3-DAGの他、脂肪酸の置換部位の異なる1,2-DAGが30%程含まれている。1,2-DAGは、生体内ではphospholipase C (PLC)によりphosphatidyl inositol bisphosphate (PIP₂)から生成され、発がんプロモーターである12-*o*-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA)と同様に細胞内でprotein kinase C (PKC)を活性化させる物質であり、TPAタイプの発がんプロモーターとして作用する可能性が危惧されている。さらに1,2-DAGは細胞内ではRas guanyl nucleotide-releasing protein (Ras-GRP)を活性化し、Ras/Raf/mitogen-activated protein kinase (MAPK)カスケードに関わることが明らか

になっている。5.3%“DAG”はSDラットにおける2年間の慢性毒性試験で発がん性は認められておらず(M.G. Soni, et al. Food and Chemical Toxicology, 39, 317-329, 2001)、またSDラットのDMBA誘発乳がんに対し、7.0%“DAG”の混餌投与90日間の実験では、プロモーション作用を示さないことが報告されている(M. Sugano, et al. J. Oleo Sci., 51, 583-588, 2002)。本研究では、“DAG”のRas活性化作用との関連から、津田らによって作製された舌、食道、乳腺発がん高感受性ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子トランスジェニック(Tg)ラットを用いて、“DAG”の発がん亢進(4NQOと同時投与)およびプロモーション(4NQO投与後に投与)について、特に“DAG”が代謝分解されることなく直接暴露されると考えられる舌、食道および前胃に注目し、発がん亢進・プロモーション作用について検討し、リスク評価に対するより具体的な情報を提供することを目的とした。

B. 研究方法

化学発がん高感受性であるTgとその同腹の野生型ラットを用いた。6週齢雌雄に4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO)を10 ppmの用量で10週間飲水投与による発がんイニシエーション処置を行った。このイニシエーション期間とその後のポストイニシエーション期間(10週間)に“DAG”含有基礎飼料を計20週間自由に摂取させた後、屠殺し、主として舌、食道、乳腺及び他の臓器における腫瘍発生

におけるプロモーション作用の有無について検討した(図1)。“DAG”の基礎食中濃度は5.5%、2.75%および1.375%の3用量とし、総脂質量を5.5%に統一するために、2.75%および1.375%群では残りの脂肪酸を大豆油:菜種油(7:3)で調整し、すべての群で脂肪酸組成をほぼ一定になるようにした。対照群は4NQO投与後通常の基礎食(改変AIN-93G, 5.5%TAG)投与群とし、屠殺後肉眼的に病変の有無を観察し、舌、食道、胃(前胃、腺胃)、小腸、大腸、肝、腎を採取、固定し、舌、食道、胃、乳腺については全動物より、他は肉眼的に病変のある臓器より病理標本を作製した。また、“DAG”自体のこの系における毒性をみるために、“DAG”5.5%単独群とTAG5.5%群を併設した。雌雄のTgおよび野生型の各群構成は15(雌)および16(雄)匹とした(合計24群、372匹)。また主要臓器の毒性評価のために定期的な体重測定、屠殺時の血清生化学的検査を行った。

(倫理面への配慮)動物実験を実施するにあたり、国立がんセンター研究所実験動物取扱規程を遵守し適切な処置を行った。特に屠殺の際には、最大限に動物の苦痛軽減に努め、動物愛護の精神を充分考慮に入れて行った。

C. 結果

C-1.“DAG”摂取による体重、摂餌量および摂水量に対する影響

雌雄ラットに対し実験開始時より4NQO 10 ppmを飲水投与し同時に“DAG”混餌試料を高用量(5.5%“DAG”+0%TAG)、中用量(2.75%“DAG”+2.75%TAG)、低用量(1.375%“DAG”+4.125%TAG)の3用量で自由摂取させた。体重、摂餌量、摂水量とも全ての群で顕著な差は見られなかった(前年度報告済み)。

C-2.“DAG”による血液生化学性状への影響

血液生化学性状に対するDAGの影響を、4NQO投与群間では4NQO+0%“DAG”すなわち5.5%TAG(対照群)と比較し、4NQO非投与群間では5.5%“DAG”のみ投与した群と無処置群(5.5%TAG)とを比較した。血清トリグリセライド(TG)値は、雄Tgの4NQO+5.5%“DAG”投与群が4NQOのみ投与群に比し有意に低下した。4NQO非投与群間では無処置群に比し5.5%“DAG”投与群で有意に増加した。遊離脂肪酸(FFA)は、雌野生型で4NQO+2.75%“DAG”投与群が4NQO+0%“DAG”(対照群)に比し有意に高かった。肝機能では雄Tgで4NQO+5.5%“DAG”群が対照群に比しGOTが有意に高かった。雌野生型でも4NQO+5.5%“DAG”群が対照群に比し有意に高かった。またこの群はGPT値も有意に高かった(表2)。

C-3. 発がん

C-3-1. 舌

4NQOの舌発がん発生に対する“DAG”

の影響を、対照の 4NQO+0% “DAG”すなわち 5.5%TAG 群と比較した (表 3~10)。Tg ラット雄において、どの“DAG”群においても扁平上皮乳頭腫 (乳頭腫) の発生率 (図 2) は、対照群と比較して、有意差は見られなかった。扁平上皮がん発生率は (図 3)、5.5% “DAG”で 43.8%であり 4NQO のみ投与した対照群の 12.3%と比べ 3.6 倍に増加したが、有意差はみられなかった。しかし、発生頻度の用量相関の傾向検定において、有意な用量相関が認められた(コクラン・アミテージ傾向検定、 $P=0.0352$) (表 3)。この結果から、用量に相関して扁平上皮がんの発生率が増加することが考えられた。さらにラット 1 匹当たりの扁平上皮がんおよび乳頭腫と扁平上皮がんの合計の個数においても、用量に相関した有意な増加がみられた (線形回帰分析、各々 $P=0.0184$ 、 $P=0.0259$) (表 4)。しかし、雄ラットの野生型では 4NQO と“DAG”の投与群 (第 1、2、3 群) で腫瘍が少数発生したが有意な増加ではなかった (表 5、6)。一方、雌においては、Tg および野生型共に “DAG”の影響は見出せなかった (表 7~10)。

C-3-2. 胃

4NQO 投与群の前胃に扁平上皮乳頭腫とがんが少数の個体に発生し、“DAG”投与群 (第 1-3 群) に増加する傾向が見られたが、群間に有意差は見られなかった (表 11~18)。また Tg 群において“DAG”

のみの投与群で 1 匹(1/16)に乳頭腫の発生を見たが有意ではなかった。従って前胃に対する発がん亢進・プロモーション作用は見られなかった。腺胃では腫瘍の発生はなかった。

C-3-3. 乳腺

雌雄において、4NQO の投与による腺腫、腺がんおよび少数の肉腫の発生が見られたが、4NQO のみの群と比較して有意差はなかった (表 19~26)。野生型ではがんの発生はなかった。

C-3-4. 食道

どの群においても 4NQO による食道腫瘍の発生は見られなかった。従って腫瘍発生に対する影響の評価はできなかった。

C-3-5. その他の臓器

その他、小腸、大腸、肝、膵、腎、肺、脾などの臓器では、どの群においても腫瘍発生は見られなかったため評価はできなかった。

D. 考察

“DAG”投与後の血液生化学性状に対する影響としては、トリグリセライド、遊離脂肪酸、GOT、GPT 値に有意な差がみられたが、これらはいずれも用量依存性のない変化か、あるいは正常範囲を大きく逸脱しない変化であり、生理的変動範囲内の変化と判断した。また、トリグリセライドについて雌では Tg 及び野生型共

にどの群も正常範囲を上回っているが、Wolfordらのデータによる10パーセンタイル～90パーセンタイル値に収まり、特に異常な値とは見なさなかった。

これらトリグリセライド、総コレステロール、GOT、GPT、尿素窒素、クレアチニンについてはソフトサイエンス社「実験動物の生物学的特性データ」に依った。

4NQO発がんに対する“DAG”の発がん修飾作用について、脳を除く主要臓器について詳細に検討した結果、雄Tgにおいて、DAGの用量に相関して舌扁平上皮がんの発生率と個数が、コ克蘭・アミテージの傾向検定およびロジスティック回帰の検定において有意な増加($p < 0.05$)を示すことが明らかになった。この結果は確認が必要であるが、喫煙習慣のある人などの高危険度群において、舌発がんプロモーション作用の可能性を示唆するものと考えられる。しかし、4NQO投与の各群間の解析で、乳頭腫と扁平上皮がんを併せた発生頻度に関して、対照群(5.5% TAG)と5.5%“DAG”投与群における分散分析では $p = 0.058$ 、ノンパラメトリック検定(クラスカルワリス検定)では $p = 0.090$ となり、有意な差はみられなかった。このことは、各群の動物数が少ないことに起因すると考えられた。舌を除く他の消化器臓器や乳腺などに対しては、Tgおよび野生型とも“DAG”の発がん修飾作用は見られなかった。

このように今回の実験において“DAG”による舌発がんは傾向検定でのみ有意な

結果であった。さらに群間で有意差が見られるかについては、各群のTgの動物数を40～50匹程度に増やし野生型も含めた40週程度の実験期間が必要と思われる。また、舌に直接高濃度の“DAG”が接触するような状態で摂取されること、および条件によっては大量摂取する場合を考慮したりリスク評価を行うためには、更に高濃度(7.5および11.0%)の“DAG”濃度における影響を検討する必要があると考えられる。この場合、発がんプロモーション作用の分かっている同用量のトリグリセライド型リノール酸を併設すればプロモーション作用の程度を評価することができる。

本実験において、雄Tgにおける舌発がん亢進・プロモーション作用が比較的短期間に見出された理由の一つに、このTgが発がん高感受性であることが挙げられる。田中ら(金沢医大・病理)によると、舌においては、野生型と比較して、その感受性は雄で5.4倍、雌で4.3倍と試算されている。これは実験期間の短縮を意味しており、この意味で野生型も加えた実験が必要であろう。

“DAG”およびTAGに含まれる脂肪酸の種類と含量はほぼ同じであり、脂肪酸の種類による影響ではない。一般的にはTAGおよび“DAG”は小腸上皮において一つずつの脂肪酸およびモノアシルグリセライド(MAG)に分解された後吸収され、生じた2-モノアシルグリセロールは上皮細胞にてまたTAGに再合成されることが

知られている。口腔内においても TAG を分解するリパーゼが報告されている。しかし、口腔粘膜においては僅かではあるが“DAG”のまま吸収され、さらに細胞内に移行した可能性が考えられる。“DAG”が細胞内に入ると、1,2-DAG は発がんプロモーターである TPA と同様に、細胞内で PKC を活性化、さらに Ras-GRP を活性化し、Ras/Raf/MAPK カスケードを動かして細胞増殖を亢進させ、発がん物質（この場合 4NQO）によってイニシエーションを受けた細胞では、発がん亢進とプロモーション作用を発揮することになると考えられる。今後この点に関する作用機序に対し詳細に検討する必要がある。

E. 結論

発がん高感受性トランスジェニックラットを用いて、4NQO の発がんに対する“DAG”の発がんプロモーション作用について検討した結果、雄において、“DAG”が直接接触する舌のみにプロモーション作用を示唆する結果であった。

F. 健康危険情報

本実験からは健康危険情報については結論しえない。結果確認のための追加実験が望まれる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 飯郷正明。転移モデル。生物薬科学実

験講座 13。pp205-217。國元武彦、長縄博編集。廣川書店。東京(2003)

2) Nobuko Shindo-Okada and Masaaki Iigo. Expression of the Arp11 gene suppresses the tumorigenicity of PC-14 human lung adenocarcinoma cells. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.*, **312**, 889-896 (2003)

3) Masaaki Iigo, Mariko Shimamura, Eiji Matsuda, Ken-ichi Fujita, Hiroshi Nomoto, Jun Satoh, Shuji Kojima, David B. Alexander, Malcolm A. Moore and Hiroyuki Tsuda. Orally administered bovine lactoferrin induces caspase-1 and interleukin-18 in the mouse intestinal mucosa: a possible explanation for inhibition of carcinogenesis and metastasis. *Cytokine*, **25** (1), 36-44 (2004)

4) Mariko Shimamura, Yukio Yamamoto, Hiromi Ashino, Tsutomu Oikawa, Tadahiko Hazato, Hiroyuki Tsuda, and Masaaki Iigo. Bovine lactoferrin inhibits tumor-induced angiogenesis. *Int. J. Cancer*, **111**, 111-116 (2004)

5) Tetsuyuki Takahashi, Nobuo Takasuka, Masaaki Iigo, David B. Alexander, Masaki Baba, Hoyoku Nishino, Hiroyuki Tsuda, and Toru Okuyama. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, reduces prostaglandin E2 and nitric oxide, causes poptosis, and suppresses

aberrant crypt foci development. *Cancer Science*, **95**, 448-453 (2004)

6) Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Kazunori Sekine, Masaaki Iigo, and Hiroyuki Tsuda. Lactoferrin modifies apoptosis-related gene expression in the colon of the azoxymethane-treated rat. *Cancer Lett.*, **213**: 21-29 (2004)

7) Hiroshi Nomoto, Masaaki Iigo, Hiroki Hamada, Shuji Kojima, and Hiroyuki Tsuda. Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed proanthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis. *Nutr. & Cancer*, **49**: 81-88 (2004)

8) Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Kazunori Sekine, Masaaki Iigo and Hiroyuki Tsuda. Lactoferrin enhances Fas expression and apoptosis in the colon mucosa of azoxymethane-treated rats. *Carcinogenesis*, **25** :1961-1966 (2004)

9) Hiroyuki Tsuda, Y. Ohshima, Hiroshi Nomoto., Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Masaaki Iigo, Nobuo Takasuka and Malcolm A Moore. Cancer prevention by natural compounds. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **19**: 245-263 (2004)

2.学会発表

1) Tsuda, H., Iigo, M., Fujita, K., Sekine, K.,

Ohkubo, S., Takahashi, T., Nomoto, H., Kunimoto, K., Alexander, D.B., Okada, S. and Koza, T. Cancer chemoprevention by lactoferrin and analysis on the mechanisms. Sixth International Conference on Lactoferrin: Structure, Function and Applications, Capri, (May 2003)

2) Iigo, M., Fujita, K., Shimamura, M., Yamamoto, F., Nomoto, H., Alexander, D.B., Sekine, K., Tamura, Y. and Tsuda, H. Induction of cytokines in the intestinal mucosa by oral administration of bovine lactoferrin-A possible explanation for inhibition of carcinogenesis and metastasis-. Sixth International Conference on Lactoferrin: Structure, Function and Applications, Capri, (May 2003)

3) Fujita, K., Takahashi, T., Sekine, K., Tamura, Y., Iigo, M. and Tsuda, H. Lactoferrin enhances TNF-related apoptosis-inducing ligand(trail)-induced apoptosis on human colon carcinoma cell lines. Sixth International Conference on Lactoferrin: Structure, Function and Applications, Capri, (May 2003)

4) 藤田健一、高橋徹行、関根一則、飯郷正明、津田洋幸、ラクトフェリンによるAOM投与ラット大腸におけるBcl-2関連遺伝子の発現変動、第10回日本がん予防研究会、札幌、(2003年6月)

- 5) 野本博、飯郷正明、浜田博喜、大谷修一、小島周二、津田洋幸、プロアントシアニジン類緑物質のAOM誘発ラット大腸ACFへの修飾作用、第10回日本がん予防研究会、札幌、(2003年6月)
- 6) 飯郷正明、藤田健一、野本博、大久保重敏、関根一則、國元武彦、飯沼元、神津隆弘、奥坂拓志、岡田周市、津田洋幸、ウシラクトフェリンを用いた介入研究の基礎と応用、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 7) 藤田健一、高橋徹行、松田栄治、飯郷正明、津田洋幸、ラクトフェリンによるヒト大腸がん細胞株におけるTRAIL誘発細胞死増強作用、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 8) 高須賀信夫、飯郷正明、Kim, C.K., 津田洋幸、ヒトプロト型c-Ha-rasトランスジェニックラット-Hras128-(Tg)の γ -線照射に対する乳腺発がん感受性について、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 9) 松田栄治、飯郷正明、高須賀信夫、藤田健一、小島周二、矢澤一良、関根一則、津田洋幸、マウス大腸発がんに対するラクトフェリンと不飽和脂肪酸併用による抑制効果の検討、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 10) 島村真里子、飯郷正明、芦野洋美、山本行男、羽里忠彦、ラクトフェリン関連物質の血管新生阻害作用、日本癌学会総会、名古屋。(2003年9月)
- 11) 飯郷正明、伊崎智子、平野祥子、野本博、津田洋幸、徳武昌一、ブドウ種子成分プロシアニジンによるコロン26に対する抗腫瘍効果と肺転移抑制、日本薬学会124年会、大阪。(2004年3月)
- 12) 飯郷正明、島村真里子、藤田健一、大久保重敏、津田洋幸、ウシラクトフェリンの免疫能増強、血管新生阻害およびアポトーシス誘導による発がん抑制作用と臨床応用への試み、第11回日本がん予防研究会、東京(2004年7月)
- 13) 藤田健一、松田栄治、飯郷正明、津田洋幸、ヒトラクトフェリンおよびその部分断片ペプチドの細胞内発現と局在の解析、第11回日本がん予防研究会、東京(2004年7月)
- 14) 飯郷正明、野本博、徳武昌一、浜田博喜、津田洋幸、ブドウ種子成分プロシアニジンによる大腸発がん抑制とアポトーシス誘導、第63回日本癌学会学術総会、福岡(2004年9月)
- 15) 上田しのぶ、高須賀信夫、飯郷正明、

竹下文隆、落合孝広、津田洋幸、変異型 c-Ha-ras コンディショナルトランスジェニックラットにおける膵発がんの組織発生の検討、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

16) 津田洋幸、飯郷正明、高須賀信夫、松田栄治、関根一則、大久保重敏、大島浩、深町勝巳、田中卓二、福島昭治、多機能生理活性物質によるがん予防—ラクトフェリンからのメッセージ—、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

17) 松田栄治、飯郷正明、高須賀信夫、藤田健一、小島周二、矢澤一良、関根一則、津田洋幸、ラクトフェリンと不飽和脂肪酸併用によるマウス大腸がん抑制効果の増強、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

18) 岡田信子、飯郷正明、Arp11 遺伝子の発現によるヒト肺腺がん細胞株 PC-14 の造腫瘍性の抑制、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

19) 津田洋幸、深町勝巳、関根一則、大

久保重俊、飯郷正明、高須賀信夫、松田栄治、がん予防 — 多機能生理活性物質ラクトフェリンからのメッセージ、第1回ラクトフェリンフォーラム、東京（2004年10月）

20) 飯郷正明、島村真里子、若林裕之、大久保重敏、津田洋幸、ウシラクトフェリンによる免疫能増強および血管新生阻害による発がん抑制作用と臨床応用、第1回ラクトフェリンフォーラム、東京（2004年10月）

21) 松田栄治、藤田健一、飯郷正明、津田洋幸、若林敬二、ヒトラクトフェリンおよびその部分断片ペプチドの発現とその細胞内局在、第1回ラクトフェリンフォーラム、東京（2004年10月）

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

表 1. 市販食用油の脂肪酸組成

	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	他
A油 (“DAG”含有)	3.1	1.1	38.9	46.6	9.0	1.3 (%)
B油	6.8	2.6	44.8	34.6	9.6	1.6
C油	8.5	3.5	33.5	44.2	9.1	1.2
D油	7.2	2.9	42.7	37.0	8.7	1.5
E油	10.9	3.9	20.0	52.9	11.2	1.2
F油	6.7	3.8	17.5	71.0	0.5	0.5
G油	4.2	2.0	60.8	20.2	11.4	1.4
H油	10.1	3.5	77.1	7.0	0.9	1.4

表 2-1. 血液生化学性状

(Hras128 Tg 雄)

投与群 (正常範囲)	TG (33~163)	FFA	Tcho (48~113)	LP
1 4NQO+5.5%“DAG”	130±80*	1084±461	105±17	6.0±0.7
2 4NQO+2.75%“DAG”	157±48	570±170	105±10	5.8±0.4
3 4NQO+1.375%“DAG”	239±100	1119±470	110±9	7.0±0.8
4 4NQO+5.5%TAG	302±143	666±168	108±17	6.6±1.1
5 5.5%“DAG”	160±66#	691±154	97±13	6.8±0.8
6 5.5%TAG	139±35	836±177	121±17	6.8±0.4

投与群 (正常範囲)	GOT (22~98)	GPT (7~65)	BUN (11.5~19.0)	CR (0.28~0.52)
1 4NQO+5.5%“DAG”	126±22*	25±18	52±77	0.48±0.27
2 4NQO+2.75%“DAG”	77±32	18±6	14±2	0.34±0.03
3 4NQO+1.375%“DAG”	134±31	35±25	20±4	0.35±0.07
4 4NQO+5.5%TAG	75±14	18±4	16±1	0.31±0.04
5 5.5%“DAG”	104±27#	22±8	18±3	0.35±0.04
6 5.5%TAG	126±43	28±11	17±3	0.31±0.02

* : p<0.05 as compared to 4NQO + 5.5%TAG group (第4群).

: p<0.05 as compared to 5.5%TAG group (第6群).

表 2-2. 血液生化学性状

(野生型、雄)

投与群	TG	FFA	Tcho	LP
正常範囲	(33~163)		(48~113)	
1 4NQO+5.5%"DAG"	147±55	571±78	83±19	6.6±0.9
2 4NQO+2.75%"DAG"	191±57	624±151	102±15	6.4±0.5
3 4NQO+1.375%"DAG"	207±61	758±112	112±20	6.8±0.8
4 4NQO+5.5%TAG	136±52	573±117	88±6	6.4±0.5
5 5.5%"DAG"	165±58 [#]	742±155	109±8	7.0±1.2
6 5.5%TAG	234±104	1266±508	109±24	8.8±5.7

投与群	GOT	GPT	BUN	CR
正常範囲	(22~98)	(7~65)	(11.5~19.0)	(0.28~0.52)
1 4NQO+5.5%"DAG"	81±29	16±8	17±3	0.36±0.05
2 4NQO+2.75%"DAG"	94±45	42±71	16±1	0.32±0.02
3 4NQO+1.375%"DAG"	105±40	20±8	17±3	0.34±0.06
4 4NQO+5.5%TAG	97±33	21±17	19±2	0.38±0.04
5 5.5%"DAG"	122±43	28±13	23±2	0.33±0.05
6 5.5%TAG	133±63	25±12	20±2	0.40±0.12

: p<0.05 as compared to 5.5%TAG group (第6群).

表 2-3. 血液生化学性状

(Hras128 Tg、雌)

投与群	TG	FFA	Tcho	LP
正常範囲	(23~68)		(55~117)	
1 4NQO+5.5%“DAG”	246±206	1042±389	80±8	7.6±3.1
2 4NQO+2.75%“DAG”	153±93	710±304	87±20	7.0±1.6
3 4NQO+1.375%“DAG”	145±94	393±115	74±9	7.0±1.7
4 4NQO+5.5%TAG	145±106	559±462	75±11	6.4±0.5
5 5.5%“DAG”	173±91	502±222	83±16	6.2±0.8
6 5.5%TAG	164±120	568±129	86±17	6.7±0.6

投与群	GOT	GPT	BUN	CR
正常範囲	(23~99)	(8~58)	(11.3~21.5)	(0.31~0.54)
1 4NQO+5.5%“DAG”	93±36	16±2	20±1	0.48±0.16
2 4NQO+2.75%“DAG”	68±16	11±4	17±4	0.41±0.12
3 4NQO+1.375%“DAG”	96±66	22±26	17±1	0.37±0.06
4 4NQO+5.5%TAG	74±27	11±4	18±3	0.37±0.05
5 5.5%“DAG”	74±14	12±3	16±2	0.40±0.03
6 5.5%TAG	77±18	14±3	20±3	0.56±0.24

表 2-4. 血液生化学性状

(野生型、雌)

投与群 正常範囲	TG (23~78)	FFA	Tcho (55~147)	LP
1 4NQO+5.5%“DAG”	143±126	691±226	102±20	7.0±0.7
2 4NQO+2.75%“DAG”	109±45	870±168*	95±10	6.8±0.4
3 4NQO+1.375%“DAG”	113±87	557±104	94±6	7.0±1.0
4 4NQO+5.5%TAG	124±84	526±118	91±3	7.8±1.3
5 5.5%“DAG”	103±79	600±118	98±9	6.3±0.5
6 5.5%TAG	121±99	538±202	110±32	7.4±0.5

投与群 正常範囲	GOT (21~292)	GPT (7~227)	BUN (10.3~21.6)	CR (0.28~0.51)
1 4NQO+5.5%“DAG”	88±32*	19±6*	20±2	0.47±0.08
2 4NQO+2.75%“DAG”	66±13	14±1	18±2	0.40±0.04
3 4NQO+1.375%“DAG”	59±6	12±3	29±10	0.46±0.09
4 4NQO+5.5%TAG	53±7	12±5	19±3	0.39±0.03
5 5.5%“DAG”	61±9	12±2	22±8	0.41±0.07
6 5.5%TAG	50±3	14±5	28±8	0.40±0.09

* : p<0.05 as compared to 4NQO + 5.5%TAG group (第4群)

表3. 舌発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)
(Hras128 Tg ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)		
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
1 4NQO+5.5%“DAG”	16	4 (25.0)	7 (43.8)	9 (56.3)
2 4NQO+2.75%“DAG”	15	6 (40.0)	3 (20.0)	8 (53.3)
3 4NQO+1.375%“DAG”	14	1 (7.1)	2 (14.3)	3 (21.4)
4 4NQO+5.5%TAG	16	3 (18.8)	2 (12.3)	5 (31.3)
5 5.5%“DAG”	16	0	0	0
6 5.5%TAG	16	0	0	0

* P<0.05, コクラン・アミテージの傾向検定

表4. 舌発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)
(Hras128 Tg ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
1 4NQO+5.5%“DAG”	16	0.25±0.45	0.44±0.51	0.69±0.70
2 4NQO+2.75%“DAG”	15	0.53±0.74	0.20±0.41	0.73±0.80
3 4NQO+1.375%“DAG”	14	0.07±0.27	0.14±0.36	0.21±0.43
4 4NQO+5.5%TAG	16	0.19±0.40	0.13±0.34	0.31±0.48
5 5.5%“DAG”	16	0	0	0
6 5.5%TAG	16	0	0	0

Mean±SD,

P<0.05, 線形回帰分析

表5. 舌発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(野生型 ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)			
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん	
7	4NQO+5.5%“DAG”	16	1 (6.3)	1 (6.3)	2 (12.5)
8	4NQO+2.75%“DAG”	15	0	2 (13.3)	2 (13.3)
9	4NQO+1.375%“DAG”	16	0	0	0
10	4NQO+5.5%TAG	16	0	0	0
11	5.5%“DAG”	16	0	0	0
12	5.5%TAG	16	0	0	0

表6. 舌発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(野生型 ラット, 雄)

	投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
			乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
7	4NQO+5.5%“DAG”	16	0.06±0.25	0.06±0.25	0.13±0.34
8	4NQO+2.75%“DAG”	15	0	0.13±0.35	0.13±0.35
9	4NQO+1.375%“DAG”	16	0	0	0
10	4NQO+5.5%TAG	16	0	0	0
11	5.5%“DAG”	16	0	0	0
12	5.5%TAG	16	0	0	0

Mean±SD

表7. 舌発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(Hras128 Tg ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍発生动物数 (%)			
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん	
13	4NQO+5.5%“DAG”	15	0	1 (6.7)	1 (6.7)
14	4NQO+2.75%“DAG”	14	0	0	0
15	4NQO+1.375%“DAG”	15	0	1 (6.7)	1 (6.7)
16	4NQO+5.5%TAG	15	0	0	0
17	5.5%“DAG”	12	0	0	0
18	5.5%TAG	14	0	0	0

表8. 舌発がんに対する"ジアシルグリセロール"の影響 (腫瘍数)

(Hras128 Tg ラット, 雌)

	投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
			乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
13	4NQO+5.5%"DAG"	15	0	0.07±0.26	0.07±0.26
14	4NQO+2.75%"DAG"	14	0	0	0
15	4NQO+1.375%"DAG"	15	0	0.07±0.26	0.07±0.26
16	4NQO+5.5%TAG	15	0	0	0
17	5.5%"DAG"	12	0	0	0
18	5.5%TAG	14	0	0	0

Mean ±SD

表9. 舌発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(野生型 ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)			
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん	
19	4NQO+5.5%“DAG”	13	0	0	0
20	4NQO+2.75%“DAG”	14	0	1 (7.1)	1 (7.1)
21	4NQO+1.375%“DAG”	13	0	1 (7.7)	1 (7.7)
22	4NQO+5.5%TAG	15	0	2 (13.3)	2 (13.3)
23	5.5%“DAG”	15	0	0	0
24	5.5%TAG	15	0	0	0

表10. 舌発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(野生型 ラット, 雌)

	投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
			乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
19	4NQO+5.5%“DAG”	13	0	0	0
20	4NQO+2.75%“DAG”	14	0	0.07±0.27	0.07±0.27
21	4NQO+1.375%“DAG”	13	0	0.08±0.28	0.08±0.28
22	4NQO+5.5%TAG	15	0	0.13±0.35	0.13±0.35
23	5.5%“DAG”	15	0	0	0
24	5.5%TAG	15	0	0	0

Mean±SD

表11. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)
(Hras128 Tg ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)			
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん	
1	4NQO+5.5% "DAG"	16	2 (12.5)	0	2 (12.5)
2	4NQO+2.75% "DAG"	15	4 (26.7)	0	4 (26.7)
3	4NQO+1.375% "DAG"	14	3 (21.4)	0	3 (21.4)
4	4NQO+5.5% TAG	16	1 (6.3)	0	1 (6.3)
5	5.5% "DAG"	16	1 (6.3)	0	1 (6.3)
6	5.5% TAG	16	0	0	0

表12. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)
(Hras128 Tg ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
1 4NQO+5.5%“DAG”	16	0.19±0.54	0	0.19±0.54
2 4NQO+2.75%“DAG”	15	0.27±0.46	0	0.27±0.46
3 4NQO+1.375%“DAG”	14	0.21±0.43	0	0.21±0.43
4 4NQO+5.5%TAG	16	0.06±0.25	0	0.06±0.25
5 5.5%“DAG”	16	0.06±0.25	0	0.06±0.25
6 5.5%TAG	16	0	0	0

Mean±SD

表13. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(野生型 ラット, 雄)

	投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)		
			乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
7	4NQO+5.5%“DAG”	16	1 (6.3)	1 (6.3)	1 (6.3)
8	4NQO+2.75%“DAG”	15	1 (6.7)	1 (6.7)	2 (13.3)
9	4NQO+1.375%“DAG”	16	0	0	0
10	4NQO+5.5%TAG	16	0	0	0
11	5.5%“DAG”	16	0	0	0
12	5.5%TAG	16	0	0	0

表14. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(野生型 ラット, 雄)

	投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
			乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
7	4NQO+5.5%“DAG”	16	0.06±0.25	0	0.06±0.25
8	4NQO+2.75%“DAG”	15	0.27±1.03	0.07±0.26	0.33±1.29
9	4NQO+1.375%“DAG”	16	0	0	0
10	4NQO+5.5%TAG	16	0	0	0
11	5.5%“DAG”	16	0	0	0
12	5.5%TAG	16	0	0	0
Mean±SD					

表15. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(Hras128 Tg ラット, 雌)

	投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)		
			乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん
13	4NQO+5.5%“DAG”	15	0	0	0
14	4NQO+2.75%“DAG”	14	1 (7.1)	0	1 (7.1)
15	4NQO+1.375%“DAG”	15	0	0	0
16	4NQO+5.5%TAG	15	2 (13.3)	0	2 (13.3)
17	5.5%“DAG”	12	0	0	0
18	5.5%TAG	14	0	0	0

表16. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(Hras128 Tg ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍数/ラット			
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん	
13	4NQO+5.5%“DAG”	15	0	0	0
14	4NQO+2.75%“DAG”	14	0.07±0.27	0	0.07±0.27
15	4NQO+1.375%“DAG”	15	0	0	0
16	4NQO+5.5%TAG	15	0.13±0.35	0	0.13±0.35
17	5.5%“DAG”	12	0	0	0
18	5.5%TAG	14	0	0	0

Mean±SD

表17. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(野生型 ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)			
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん	
19	4NQO+5.5%“DAG”	13	0	0	0
20	4NQO+2.75%“DAG”	14	0	0	0
21	4NQO+1.375%“DAG”	13	0	0	0
22	4NQO+5.5%TAG	15	0	0	0
23	5.5%“DAG”	15	0	0	0
24	5.5%TAG	15	0	0	0

表18. 前胃発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(野生型 ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍数/ラット			
		乳頭腫	扁平上皮がん	乳頭腫+扁平上皮がん	
13	4NQO+5.5%“DAG”	15	0	0	0
14	4NQO+2.75%“DAG”	14	0	0	0
15	4NQO+1.375%“DAG”	15	0	0	0
16	4NQO+5.5%TAG	15	0	0	0
17	5.5%“DAG”	12	0	0	0
18	5.5%TAG	14	0	0	0

表19. 乳腺発がんに対する"ジアシルグリセロール"の影響 (頻度)
(Hras128 Tg ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)		
		腺がん	肉腫	腺がん+肉腫
1 4NQO+5.5%"DAG"	16	6 (37.5)	0	6 (37.5)
2 4NQO+2.75%"DAG"	15	4 (26.7)	1 (6.7)	5 (33.3)
3 4NQO+1.375%"DAG"	14	4 (28.6)	0	4 (28.6)
4 4NQO+5.5%TAG	16	5 (31.3)	2 (12.5)	7 (43.8)
5 5.5%"DAG"	16	1 (6.3)	0	1 (6.3)
6 5.5%TAG	16	5 (31.3)	0	5 (31.3)

表20. 乳腺発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)
(Hras128 Tg ラット, 雄)

	投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
			腺がん	肉腫	腺がん+肉腫
1	4NQO+5.5%“DAG”	16	0.56±0.81	0	0.56±0.81
2	4NQO+2.75%“DAG”	15	0.33±0.62	0.07±0.26	0.40±0.63
3	4NQO+1.375%“DAG”	14	0.36±0.63	0	0.36±0.63
4	4NQO+5.5%TAG	16	0.31±0.48	0.137±0.34	0.44±0.73
5	5.5%“DAG”	16	0.06±0.25	0	0.06±0.25
6	5.5%TAG	16	0.38±0.62	0	0.38±0.62
Mean±SD					

表21. 乳腺発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(野生型 ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)		
		腺がん	肉腫	腺がん+肉腫
7 4NQO+5.5%“DAG”	16	0	0	0
8 4NQO+2.75%“DAG”	15	1 (6.7)	0	1 (6.7)
9 4NQO+1.375%“DAG”	16	0	0	0
10 4NQO+5.5%TAG	16	0	0	0
11 5.5%“DAG”	16	0	0	0
12 5.5%TAG	16	0	0	0

表22. 乳腺発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(野生型 ラット, 雄)

投与群	動物数	腫瘍数/ラット			
		腺がん	肉腫	腺がん+肉腫	
7	4NQO+5.5%“DAG”	16	0	0	0
8	4NQO+2.75%“DAG”	15	0.06±0.25	0	0.06±0.25
9	4NQO+1.375%“DAG”	16	0	0	0
10	4NQO+5.5%TAG	16	0	0	0
11	5.5%“DAG”	16	0	0	0
12	5.5%TAG	16	0	0	0

Mean±SD

表23. 乳腺発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)
(Hras128 Tg ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)		
		腺がん	肉腫	腺がん+肉腫
1 4NQO+5.5%“DAG”	15	10 (66.7)	0	10 (66.7)
2 4NQO+2.75%“DAG”	14	9 (64.3)	0	9 (64.3)
3 4NQO+1.375%“DAG”	15	11 (73.3)	0	11 (73.3)
4 4NQO+5.5%TAG	15	11 (73.3)	0	11 (73.3)
5 5.5%“DAG”	12	6 (50.0)	0	6 (50.0)
6 5.5%TAG	14	6 (42.9.)	0	6 (42.9.)

表24. 乳腺発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(Hras128 Tg ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍数/ラット			
		腺がん	肉腫	腺がん+肉腫	
13	4NQO+5.5%“DAG”	15	1.13±1.10	0	1.13±1.10
14	4NQO+2.75%“DAG”	14	0.79±0.70	0	0.79±0.70
15	4NQO+1.375%“DAG”	15	1.27±0.88	0	1.27±0.88
16	4NQO+5.5%TAG	15	1.07±0.96	0	1.07±0.96
17	5.5%“DAG”	12	0.75±0.87	0	0.75±0.87
18	5.5%TAG	14	0.64±0.93	0	0.64±0.93

Mean±SD

表25. 乳腺発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (頻度)

(野生型 ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍発生動物数 (%)			
		腺がん	肉腫	腺がん+肉腫	
19	4NQO+5.5%“DAG”	13	0	1 (7.7)	1 (7.7)
20	4NQO+2.75%“DAG”	14	0	0	0
21	4NQO+1.375%“DAG”	13	0	0	0
22	4NQO+5.5%TAG	15	0	0	0
23	5.5%“DAG”	15	0	0	0
24	5.5%TAG	15	0	0	0

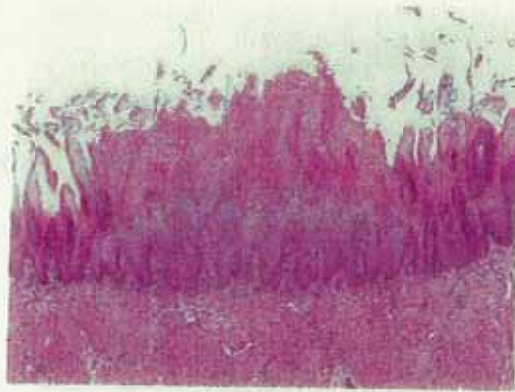
表26. 乳腺発がんに対する“ジアシルグリセロール”の影響 (腫瘍数)

(野生型 ラット, 雌)

投与群	動物数	腫瘍数/ラット		
		腺がん	肉腫	腺がん+肉腫
13 4NQO+5.5%“DAG”	15	0	0.08±0.28	0.08±0.28
14 4NQO+2.75%“DAG”	14	0	0	0
15 4NQO+1.375%“DAG”	15	0	0	0
16 4NQO+5.5%TAG	15	0	0	0
17 5.5%“DAG”	12	0	0	0
18 5.5%TAG	14	0	0	0

Mean±SD

舌：上皮過形成
(Hyperplasia)



舌：乳頭腫
(Papilloma)

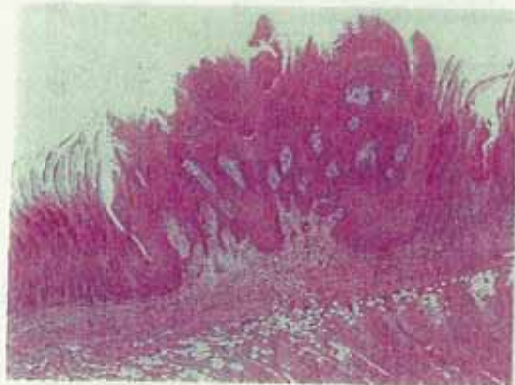


図2. 4NQO+5.5% "DAG"投与群 (Tgラット雄)

舌：扁平上皮がん

(Squamous cell
carcinoma)

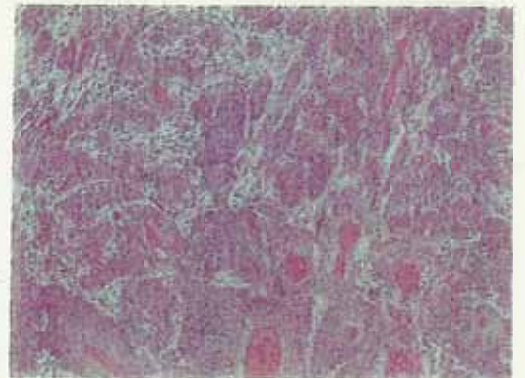
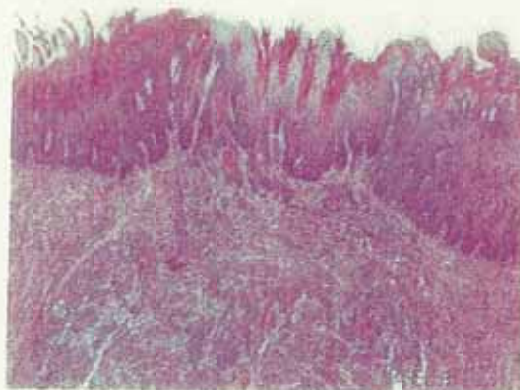
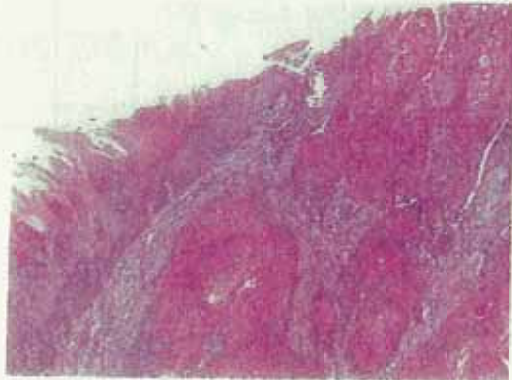


図3. 4NQO+5.5% "DAG"投与群 (Tgラット雄)

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
飯郷正明	転移モデル	國元武彦、 長縄博	生物薬科 学実験講 座13	廣川書店	東京	2003	pp205-217

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nobuko Shindo-Okada and Masaaki Iigo	Expression of the Arp11 gene suppresses the tumorigenicity of PC-14 human lung adenocarcinoma cells	Biochem. Biophysic. Res. Commun.	312	889-896	2003
Masaaki Iigo, Mariko Shimamura, Eiji Matsuda, Ken-ichi Fujita, Hiroshi Nomoto, Jun Satoh, Syuji Kojima, David B. Alexander, Malcolm A. Moore and Hiroyuki Tsuda	Orally administered bovine lactoferrin induces caspase-1 and interleukin-18 in the mouse intestinal mucosa: a possible explanation for inhibition of carcinogenesis and metastasis	Cytokine	25 (1)	36-44	2004
Mariko Shimamura, Yukio Yamamoto, Hiromi Ashino, Tsutomu Oikawa, Tadahiko Hazato, Hiroyuki Tsuda, and Masaaki Iigo	Bovine lactoferrin inhibits tumor-induced angiogenesis	Int. J. Cancer	111	111-116	2004

Tetsuyuki Takahashi, Nobuo Takasuka, Masaaki Iigo, David B. Alexander, Masaki Baba, Hoyoku Nishino, Hiroyuki Tsuda, and Toru Okuyama.	Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, reduces prostaglandin E2 and nitric oxide, causes poptosis, and suppresses aberrant crypt foci development.	Cancer Science	95	448-453	2004
Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Kazunori Sekine, Masaaki Iigo, and Hiroyuki Tsuda	Lactoferrin modifies apoptosis-related gene expression in the colon of the azoxymethane-treated rat.	Cancer Lett.	213	21-29	2004
Hiroshi Nomoto, Masaaki Iigo, Hiroki Hamada, Shuji Kojima, and Hiroyuki Tsuda	Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed proanthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis.	Nutr. & Cancer	49	81-88	2004
Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Kazunori Sekine, Masaaki Iigo and Hiroyuki Tsuda	Lactoferrin enhances Fas expression and apoptosis in the colon mucosa of azoxymethane-treated rats.	Carcinogenesis	25	1961-1966	2004

Hiroyuki Tsuda, Y. Ohshima, Hiroshi Nomoto., Ken- ichi Fujita, Eiji Matsuda, Masaaki Iigo, Nobuo Takasuka and Malcolm A Moore	Cancer prevention by natural compounds	Drug Metab. Pharmacokinet	19	245-263	2004
--	---	------------------------------	----	---------	------