
 原 著

潰瘍性大腸炎の炎症性発癌における DNA 二重鎖切断の意義

谷 優 佑

新潟大学大学院医歯学総合研究科

分子・診断病理学分野

(指導：味岡洋一教授)

Significance of DNA Double Strand Break (DSB) in Inflammatory Carcinogenesis of Ulcerative Colitis

Yusuke TANI

Division of Molecular and Diagnostic Pathology, Niigata University

Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Yoichi Aizuka)

要 旨

潰瘍性大腸炎（以下 UC）の炎症粘膜には高頻度で大腸癌が発生すること（炎症性発癌）が知られている。本研究では、ヒト癌の発癌早期過程に重要な役割を果たしていると考えられている DNA 二重鎖切断（DNA double strand break：以下 DSB）が、① UC 粘膜で生じているかどうか、② UC 粘膜における DSB と炎症の活動性との関連、③ UC 粘膜における DSB と UC 罹患期間との関連、を検討した。ホルマリン固定全大腸炎型 UC 外科切除例 104 例（UC 群）の直腸または S 状結腸を対象とした。正常対照は、炎症性腸疾患を合併しない大腸癌外科切除例 50 例（非 IBD 群）の直腸または S 状結腸の非腫瘍粘膜とした。UC 群、非 IBD 群の代表切片パラフィンブロックから 3 μ m 厚連続切片 2 枚を作成し、HE 染色と DSB のマーカーである γ H2AX に対する免疫染色を行った。UC の炎症時相は、寛解期、慢性活動期、活動期に分類した。 γ H2AX の発現状態は、検索切片内の総陰窩数に対する γ H2AX 陽性陰窩の割合（ γ H2AX crypt index：以下 γ H2AX-CI）として評価した。① UC 群は非 IBD 群に比べ γ H2AX-CI が有意に高値であった（中央値で 11.0% vs. 0%, $P < 0.001$ ）。② UC の炎症時相別の γ H2AX-CI は、寛解期：中央値 4.4%、慢性活動期：中央値 13.7%、活動期：中央値 15.3% であり、寛解期と活動期との間には有意差があった（ $P < 0.001$ ）。③ 炎症時相別にみた γ H2AX-CI と UC 罹患年数との間には有意な相関はなかった。これらのことから、UC 粘膜では正常大腸粘膜に比べ有意

Reprint requests to: Yusuke TANI
Division of Molecular and Diagnostic Pathology,
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
分子・診断病理学分野 谷 優 佑

に高頻度にDSBが生じており、更にDSBの頻度は炎症の活動性と関連していたことから、DSBはUCの炎症性発癌に関連しているものと推定された。一方、DSBとUC罹患年数との間には有意な相関がなかったことから、活動性炎症で生じたDSBは必ずしも罹患年数に応じて蓄積されて行く訳ではなく、DNA損傷応答(DNA damage response:以下DDR)により修復されることが示唆された。すなわち、UCの炎症性発癌には活動性炎症によるDSBが必要条件ではあるものの、DSBに対するDDRの破綻が非可逆的な発癌過程への進行には必須であり、炎症性発癌メカニズムの解明にはDSBとDDRを併せた検討が必要と考えられた。

キーワード：潰瘍性大腸炎、炎症性発癌、DNA二重鎖切断、 γ H2AX

緒 言

潰瘍性大腸炎(Ulcerative colitis:以下UC)は大腸粘膜の慢性持続性炎症を来たす原因不明の炎症性腸疾患である¹⁾。UCによって慢性炎症に曝された大腸粘膜には高頻度で癌が発生することが知られており²⁾³⁾、炎症性発癌と呼ばれている⁴⁾。炎症性発癌では、長期の罹患年数や炎症活動性が危険因子とされており^{5)–9)}、欧米では、全大腸炎型UCの大腸癌発生率は5.4%⁵⁾、一般人口に対する発癌リスクは14.8倍⁵⁾、UC発症後30年で累積癌発生率は40%⁸⁾になるとされている。欧米に比べ頻度は低いものの、本邦でも大腸癌研究会(第55回)のアンケート集計¹⁰⁾では、UCの2.6%(123/4,796例)は大腸癌を合併しており、発癌率は欧米と同様にUC経過年数が長いものほど高いことが報告されている。他方、炎症性発癌のメカニズムについては、早期にp53遺伝子異常が起きることや、通常の大腸癌の発癌過程であるadenoma-carcinoma sequenceにみられるAPC遺伝子変異は発癌後期に起きること¹¹⁾¹²⁾、などが知られているが、その詳細は解明されていない。

近年、ヒトの癌の発癌早期過程におけるDNA二重鎖切断(DNA double strand break:以下DSB)の重要性が報告されている。DSBは遺伝子の不安定性をもたらす深刻なDNA損傷であり^{13)–15)}、細胞が炎症や放射線照射による酸化ストレスや、ウイルス感染、その他化学的な刺激などに曝されたときに生じる¹⁵⁾。細胞核内に生じたDSBに対しては、それを修復するためのDNA損

傷応答(DNA damage response:以下DDR)が発動するが、DSBに対するDDRの破綻により細胞の癌化が起きることが解明されている¹⁶⁾¹⁷⁾。すなわち、DSBが生じた細胞は、前癌病変としてのポテンシャルを有していると考えられる。

本研究では、発癌過程におけるDSBに着目し、DSBの際に発現する核内ヒストン蛋白の一種であるリン酸化H2AX(γ H2AX)をマーカーとして、UCの大腸粘膜におけるDSBの発現状況と発癌危険因子である炎症活動性およびUC罹患年数との関連について検討した。

対象と方法

1. 対象

1981年から2011年までに新潟大学臨床病理学分野(旧第一病理学教室)で病理診断された、大腸癌を合併しないホルマリン固定全大腸炎型UC外科切除例(全大腸切除)104例(UC群)を対象とした。対象は全割もしくは亜全割され病理組織学的検索がなされていたが、UCに合併する大腸癌の52~78%が直腸もしくはS状結腸に発生する¹⁸⁾¹⁹⁾ことを考慮し、直腸もしくはS状結腸から代表切片1~4切片を選択した。また、直腸癌またはS状結腸癌を主病変として外科切除された、UC等の炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease:IBD)を合併しない大腸50例(以下非IBD群)を対照群とし、直腸もしくはS状結腸の非腫瘍性粘膜部から代表切片1切片を選択した。UC群、非IBD群の臨床事項を表1に示す。UC群、非IBD群の代表切片を用いて、組織学的

表 1 症例の臨床的事項

	性別 (男:女)	手術時年齢 (歳) 中央値 (範囲)	UC 診断時年齢 (歳) 中央値 (範囲)	UC 罹患年数 中央値 (範囲)
UC 群 (n=104)	51:52	34.0 (10-76)	26 (8-71)	4.0 (0-20)
非IBD 群 (n=50)	27:23	66.5 (42-86)	-	-

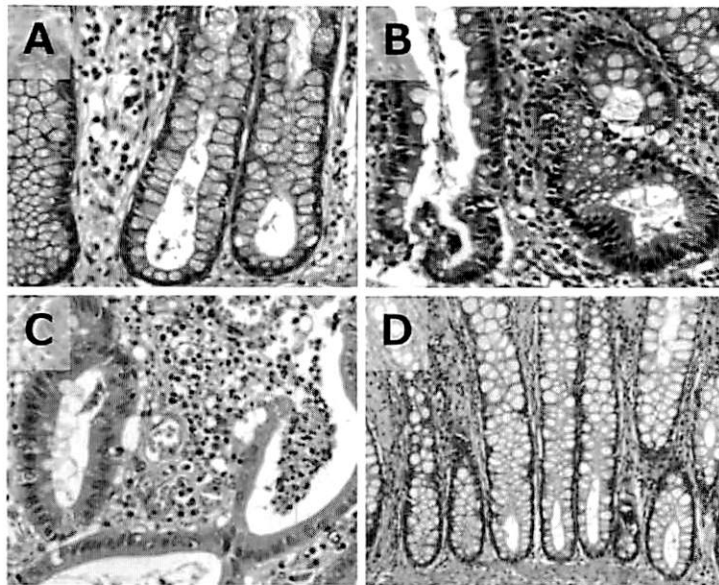


図 1 UC の炎症時相分類

- A：寛解期 (HE 染色, ×対物 40). 炎症細胞浸潤は軽度であり, 杯細胞粘液は保たれている.
- B：慢性活動期 (HE 染色, ×対物 40). 寛解期, 活動期のいずれにも当てはまらない, 杯細胞粘液は減少し, 粘膜固有層には中等度の慢性炎症細胞浸潤を認めるが, 好中球浸潤はなく, 陰窩炎や陰窩膿瘍も認められない.
- C：活動期 (HE 染色, ×対物 40). 粘膜固有層に好中球浸潤があり, 陰窩炎や陰窩膿瘍を認める.
- D：非 IBD 群の非腫瘍粘膜 (HE 染色, ×対物 20).

および免疫組織化学的検索を行った.

2. 方法

代表切片のパラフィンブロックから 3µm 厚の連続切片 2 枚を作成し, 1 枚はヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色), 1 枚は γH2AX に対する免疫染色を施行した.

組織学的検索

HE 染色標本を用いて, UC の炎症活動性を以下の 3 時相に分類した (図 1). 炎症寛解期: 陰窩杯細胞粘液が正常まで回復. 粘膜固有層には好中球浸潤はなく, 軽度の慢性炎症細胞 (リンパ球・形質細胞) 浸潤を認めるのみ. 炎症活動期: 陰窩杯細胞粘液は著明に減少し, 粘膜固有層には好中球浸潤があり, 慢性炎症細胞浸潤は軽度~中等度

で、陰窩炎や陰窩膿瘍が認められる。炎症慢性活動期：活動期と寛解期のいずれにも分類されないもの。

免疫組織学的検索

γ H2AXに対する免疫染色は酵素ポリマー法を用いて施行した²⁰⁾。切片は脱パラフィン後に、10mMのクエン酸緩衝液(pH 6.0)中で121℃、20分間オートクレーブをかけ、抗原を賦活化した。0.3% H_2O_2 メタノールで20分間インキュベートして内因性ペルオキシダーゼを除去し、10%正常ヤギ血清で30分間インキュベートして非特異的反応のブロッキングをした後、マウス抗 γ H2AX抗体(Milipore Inc, JBW3, 使用濃度1:500)を4℃で一晩反応させた。二次抗体にはヒストファインシンプルステインMAX-PO(ニチレイバイオサイエンス社)を用い、室温で30分インキュベートした。発色剤にはジアミノベンジジン、核染色にはヘマトキシリンを用いた。エタノールで脱水、キシレンで透徹後、カバーガラスで封入した。

γ H2AXに対する免疫染色標本を用い、代表切片内の総陰窩数に対する γ H2AX陽性細胞を含む陰窩数の割合を、 γ H2AX crypt index(以下 γ H2AX-CI)として算出し、 γ H2AX発現状態の指標とした。なお、粘膜最表層被蓋上皮細胞は増殖活性はなく管腔内に脱落する運命にあり²¹⁾²²⁾、腫瘍化との関連性に乏しいと考えられることから、評価対象からは除外した。

3. 統計解析

各群間の γ H2AX-CIはマン・ホイットニーのU検定(両側)を、 γ H2AX-CIと罹患年数との関係はスピアマンの順位相関係数を用いて検定した。有意水準は、2群間の比較の場合は0.05、3群間の比較の場合は、ボンフェローニ法を用いて0.017とした。全ての統計検定はIBM SSAP statistics 22を用いた。

結 果

1. UC群と非IBD群の γ H2AX発現

非IBD群では γ H2AX陽性細胞はほとんどみられず(中央値0.0%、範囲0.0-4.5%)、UC群(中央値11.0%、範囲0.0-82.8%)との間には有意差があった($P < 0.001$)(図2)。UC群では、炎症寛解期および慢性活動期陰窩の深部もしくは中層に少数散在性に γ H2AX陽性細胞が認められた。一方、炎症活動期では、粘膜固有層の好中球浸潤が高度な領域に存在する陰窩や陰窩炎、陰窩膿瘍部に陽性細胞が集簇して出現する傾向があった(図3)。

2. 炎症時相と γ H2AX発現

UC群における炎症時相別の γ H2AX-CIは、寛解期($n : 28$)(中央値4.4%、範囲0.0-32.0%)、慢性活動期($n : 24$)(中央値13.7%、範囲0.0-64.2%)、活動期($n : 52$)(中央値15.3%、範囲0.0-82.8%)であり、炎症の活動性が高いほど γ H2AX発現陰窩の頻度が高かった。統計学的には、寛解期と慢性活動期、慢性活動期と活動期の間には有意差はなく、寛解期と活動期の間にはのみ有意差がみられた($P < 0.001$)(図4)。

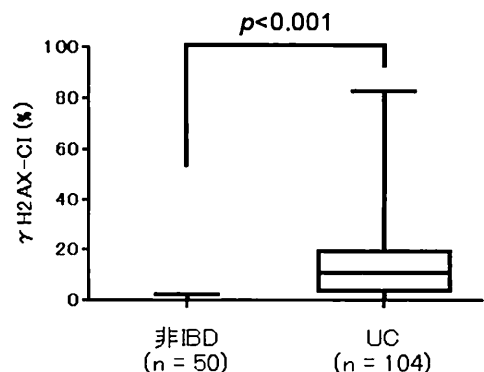


図2 非IBD群およびUC群における γ H2AX-CI
 γ H2AX-CI(crypt index)はUC群(中央値11.0%)
が非IBD群(同0.0%)に比べ有意に高い($p < 0.001$)
(マン・ホイットニーのU検定, 有意水準0.05)。

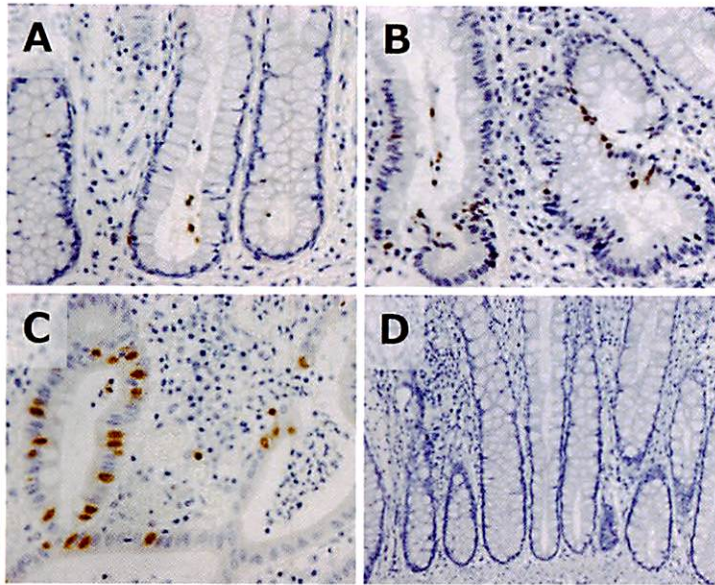


図3 UC 粘膜および非 IBD 粘膜の γ H2AX 免疫染色

- A：寛解期（×対物 40）。ごく少数の陽性細胞を認める。
- B：慢性活動期（×対物 40）。陽性細胞が少数散在する。
- C：活動期（×対物 40）。多数の γ H2AX 陽性細胞を認める。
- D：非 IBD 症例（×対物 20）。 γ H2AX 陽性細胞はほとんど認められない。

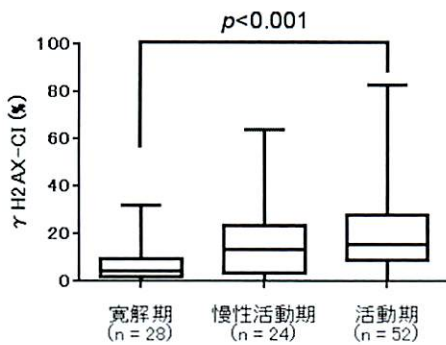


図4 炎症時相別での γ H2AX-CI

UC 群における γ H2AX-CI (crypt index) は、活動期が寛解期に比べ有意に高い ($p < 0.001$) (マン・ホイットニーの U 検定, 有意水準 0.017)。

3. UC 罹患年数と γ H2AX 発現

前項の検討より、 γ H2AX 発現と炎症時相との間には有意差もしくは有意な傾向があるため、

UC 群の炎症粘膜を寛解期、慢性活動期、活動期に分け、それぞれで UC 罹患年数と γ H2AX 発現との関係を検討したが、どの炎症時相でも両者の間に有意な相関は認められなかった (図 5)。

考 察

慢性炎症はヒトの癌発生におけるリスク因子であることが知られており、ヒトの癌の少なくとも三分之一が炎症と関連していると考えられている¹⁶⁾。炎症と発癌を結びつけるメカニズムとして、炎症によって発生する活性酸素や活性窒素が DNA を直接傷害し、DNA 一重鎖切断や二重鎖切断 (DSB) を引き起こすことや^{23) - 26)}、炎症性サイトカイン IL-6 を介する DNA のメチル化経路²³⁾が知られている。また、抗炎症剤であるメサラミンが、過酸化亜硝酸による DSB 発生を抑える²⁷⁾と同時に、人体において抗腫瘍効果を示すこと²⁸⁾が知られており、このことから逆に炎症によって

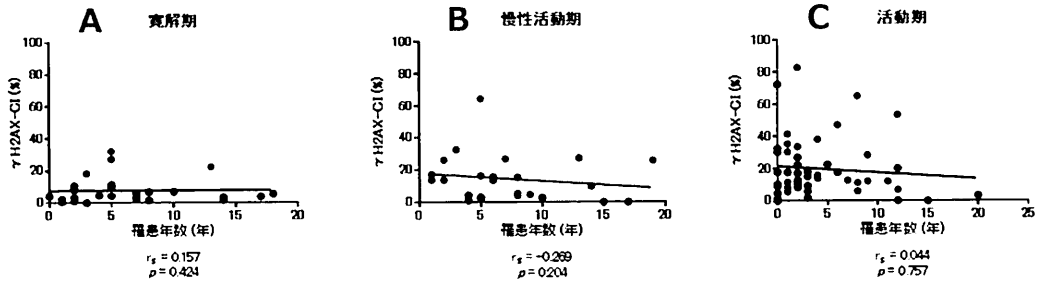


図5 炎症時相別にみた γ H2AX-CIとUC罹患年数との関係

A : 寛解期. B : 慢性活動期. C : 活動期. いずれの炎症時相でも, γ H2AX-CI (crypt index) とUC罹患年数に相関はみられなかった(寛解期: $r_s = 0.157$, $p = 0.424$. 慢性活動期: $r_s = -0.269$, $p = 0.204$. 活動期: $r_s = 0.044$, $p = 0.757$) (r_s : スピアマンの順位相関係数, 有意水準0.05)

引き起こされるDSBが腫瘍発生の引き金となりうる事が想定される。

UCに大腸癌が好発することは, これまでの多数の疫学的研究²⁾⁻¹⁰⁾からも明らかであるが, UCにおけるDSBの検討は少数例散見されるのみに過ぎない²⁹⁾⁻³¹⁾. これら先行研究の中でRisquesら²⁹⁾とShonら³⁰⁾は, UCでは正常大腸粘膜に比べ γ H2AX発現が高い傾向にあると報告しているが, いずれも生検組織を対象とした検討であり, UCの炎症時相と γ H2AX発現との関連についての十分な検討はなされていない. UCの炎症状態は炎症罹患範囲全体を通じて必ずしも均質ではなく, 小さな生検標本ではUCの炎症状態を正確に評価することは困難なことも多い. UCの炎症状態をより包括的に判定するためには, 外科切除材料を用いた検討が必須と考えられる。

外科切除材料を用いた本研究では, UC群は正常大腸粘膜(非IBD群)に比べ γ H2AX陽性陰窩の頻度が有意に高く, 先行研究³⁰⁾³¹⁾と同様に, UCの慢性持続性炎症粘膜ではDSBが生じていることが確認された. 更に炎症時相との関連では, 炎症の活動性が高いほどDSBも高頻度に起きていることが明らかとなった. このことは, DSBは炎症による酸化ストレスにより引き起こされるという研究の結果²³⁾⁻²⁶⁾とも一致する. また, UCの発癌リスクは炎症の活動性が高いと上昇する

5)-9)とされているが, 本研究結果から, UCにおける炎症性発癌は, 活動性炎症の持続による大腸上皮細胞のDSBを出発点とすることが考察される。

このことから, 免疫組織学的に同定されるDSBが, UCにおける炎症性発癌高危険群を拾い上げるための有用な臨床病理学的マーカーになりうる可能性があることも示唆される。

他方, 炎症の活動性と同様に, UCの罹患年数も炎症性発癌の危険因子であることが知られている²⁾⁴⁾⁵⁾が, 本研究結果では, いずれの炎症時相においても, UCの罹患年数と γ H2AX発現陰窩頻度との間には有意な相関はみられなかった. このことは, 活動性炎症により生じたDSBは必ずしも罹患年数に応じて蓄積されて行く訳ではないことを示している. DSBに対しては, DNA損傷部位の修復, アポトーシスや細胞老化への誘導などのDDR(DNA損傷応答)が発動されている¹⁶⁾¹⁷⁾. 実験的にも, 放射線照射によるDSBに発生した γ H2AXは, 照射24時間後にはほとんど消失することも示されている³²⁾. これらのことから, 炎症性発癌には活動性炎症によるDSBが必要条件ではあるものの, DSBに対するDDRの破綻が非可逆的な発癌過程への進行に必須であり, 今後はDSBとDDRを併せた検討を行うことがUCの炎症性発癌メカニズムの解明に必要と考えられる。

結 論

UC 粘膜では正常大腸粘膜に比べ有意に高頻度で DSB が生じており、DSB の頻度は炎症の活動性と関連していたが、UC の罹患年数と DSB との間には有意な相関はなかった。これらのことから、UC の炎症性発癌には活動性炎症による DSB が必要条件であるものの、非可逆的な発癌過程への進行には DSB に対する DDR の破綻が必須と考えられた。UC の炎症性発癌メカニズムの解明には、DSB と DDR を併せた検討が必要である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導頂きました新潟大学大学院医歯学総合研究科分子・診断病理学分野 味岡洋一教授、および消化器・一般外科分野 若井俊文教授に深謝いたします。また、標本作製や染色などで協力いただきました新潟大学医学部臨床病理学分野職員（山口尚之、小林和恵、佐藤彩子）に深謝いたします。なお、本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」（渡辺班）の援助を受けた。

文 献

- 1) Crohn BB and Rosenberg H: The sigmoidoscopic picture of chronic ulcerative colitis (non-specific). *Am J Med Sci* 170: 220 - 228, 1925.
- 2) Ekblom A, Helmick C, Zack M and Adami HO: Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* 323: 1228 - 1233, 1990.
- 3) Pohl C, Hombach A and Kruis W: Chronic inflammatory bowel disease and cancer. *Hepatogastroenterol* 47: 57 - 70, 2000.
- 4) Itzkowitz SH and Yio X: Inflammation and Cancer. IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. *American J Physiol Gastrointestinal Liver Physiol* 287: G7 - G17, 2004.
- 5) Eaden JA, Abrams KR and Mayberry JF: The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 48: 526 - 535, 2001.
- 6) Munkholm P: Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 18: 1 - 5, 2003.
- 7) Rutter M, Saunders B, Wilkinson K, Rumbles S, Schofield G, Kamm M, Williams C, Price A, Talbot I and Forbes A: Severity of inflammation is a risk factor for colorectal neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 126: 451 - 459, 2004.
- 8) Chambers WM, Warren BF, Jewell DP and Mortensen NJM: Cancer Surveillance in ulcerative colitis. *Br J Surg* 92: 928 - 936, 2005.
- 9) Risques RA, Rabinovitch PS and Brentnall TA: Cancer surveillance in inflammatory bowel disease: new molecular approaches. *Curr Opin Gastroenterol* 22: 382 - 390, 2006.
- 10) 平井 孝, 加藤知行, 金光幸秀: 炎症性腸疾患と大腸癌—第 55 回大腸癌研究会アンケート結果. *胃と腸* 37: 887 - 893, 2002.
- 11) Matkowskyj KA, Chen ZE, Rao MS and Yang GY: Dysplastic lesions in inflammatory bowel disease: molecular pathogenesis to morphology. *Arch Pathol Lab Med* 137: 338 - 350, 2013.
- 12) Scarpa M, Castagliuolo I, Castoro C, Pozza A, Scarpa M, Kotsafti A and Angriman I: Inflammatory colonic carcinogenesis: a review on pathogenesis and immunosurveillance mechanisms in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 20: 6774 - 6785, 2014.
- 13) McKinnon PJ and Caldecott KW: DNA strand break repair and human genetic disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 8: 37 - 55, 2007.
- 14) Jeggo PA and Löbrich M: DNA double-strand breaks: their cellular and clinical impact? *Oncogene* 26: 7717 - 7719, 2007.
- 15) Bonner W, Redon C, Dickey J, Nakamura A, Sedelnikova O, Solier S and Pommier Y: γ H2AX and cancer. *Nat Rev Cancer* 8: 957 - 967, 2008.
- 16) Bartkova J, Hořejší Z, Koed K, Krámer A, Tort F, Zieger K, Guldborg P, Schested M, Nesland JM, Lukas C, Orntoft T, Lukas J and Bartek J: DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature* 434:

- 864 - 870, 2005.
- 17) Gorgoulis VG, Vassiliou LV, Karakaidos P, Zacharatos P, Kotsinas A, Liloglou T, Venere M, DiTullio RA Jr, Kastrinakis NG, Levy B, Kletsas D, Yoneta A, Herlyn M, Kittas C and Halazonetis TD: Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature* 434: 907 - 913, 2005.
 - 18) Desaint B, Legendre C and Florent C: Dysplasia and cancer in ulcerative colitis. *Hepato - gastroenterol* 36: 219 - 226, 1989.
 - 19) 鈴木公孝, 渡邊聡明, 畑 啓介, 名川弘一: 潰瘍性大腸炎の癌化とサーベイランスの検討 - 本邦報告例の解析 -. *日本大腸肛門病会誌* 56: 62 - 68, 2003.
 - 20) Takabayashi H, Wakai T, Ajioka Y, Korita PV and Yamaguchi N: Alteration of the DNA damage response in colorectal tumor progression. *Hum Pathol* 44: 1038 - 1046, 2013.
 - 21) Crosnier C, Stamataki D and Lewis J: Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control. *Net Rev Genet* 7: 349 - 359, 2006.
 - 22) Ross MH, Pawlina W, 監訳 内山安男, 相磯貞和: *Ross 組織学*, 原書第5版, 南江堂, 東京, 546, 2006.
 - 23) Murata M, Thanan R, Ma N and Kawanishi S: Role of nitrate and oxidative DNA damage in inflammation - related carcinogenesis. *J Biomed Biotechnol* 623019, 2012.
 - 24) Ohnishi S, Ma N, Thanan R, Pinlaor S, Olfat H, Murata M and Kawanishi S: DNA damage in inflammation - related carcinogenesis and cancer stem cells. *Oxid Med Cell Longev* 2013: 387014, 2013.
 - 25) Seril DN, Liao J, Yang GY and Yang CS: Oxidative stress and ulcerative colitis - associated carcinogenesis: studies in humans and animal models. *Carcinogenesis* 24: 353 - 362, 2003.
 - 26) Mangerich A, Dedon PC, Fox JG, Tannenbaum SR and Wogan GN: Chemistry meets biology in colitis - associated carcinogenesis. *Free Radic Res* 47: 958 - 986, 2013.
 - 27) Graham PM, Li JZ, Dou X, Zhu H, Misra HP, Jia Z and Li Y: Protection against peroxynitrite - induced DNA damage by mesalamine: implications for anti - inflammation and anti - cancer activity. *Mol Cell Biochem* 378: 291 - 298, 2013.
 - 28) Tang J, Sharif O, Pai C and Silverman AL: Mesalamine protects against colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 55: 1696 - 1703, 2010.
 - 29) Risques RA, Lai LA, Brentnall TA, Li L, Feng Z, Gallaher J, Mandelson MT, Potter JD, Bronner MP and Rabinovitch PS: Ulcerative colitis is a disease of accelerated colon aging evidence from telomere attrition and DNA damage. *Gastro - enterology* 135: 410 - 418, 2008.
 - 30) Risques RA, Lai LA, Himmetoglu C, Ebae A, Li L, Feng Z, Bronner MP, Al - Lahham B, Kowdley KV, Lindor KD, Rabinovitch PS and Brentnall TA: Ulcerative colitis - associated colorectal cancer arises in a field of short telomeres, senescence, and inflammation. *Cancer Res* 71: 1669 - 1679, 2011.
 - 31) Shon JJ, Schetter AJ, Yfantis HG, Ridnour LA, Horikawa I, Khan MA, Robles AI, Hussain SP, Goto A, Bowman ED, Hofseth LJ, Bartkova J, Bartek J, Wogan GN, Wink DA and Harris CC: Macrophages, nitric oxide and microRNAs are associated with DNA damage response pathway and senescence in inflammatory bowel disease. *PLOS one* 7: e44156, 2012.
 - 32) Markova E, Schultz N and Belyaev IY: Kinetics and dose - response of residual 53BP1/gamma - H2AX foci: co - localization, relationship with DSB repair and clonogenic survival. *Int J Radiat Biol* 83: 319 - 329, 2007.

(平成28年1月20日受付)