

肝内胆管癌における NAD(P)H: quinone oxidoreductase - 1 発現の臨床的意義

須 藤 翔

新潟大学大学院医歯学総合研究科

消化器・一般外科学分野

(主任：若井俊文教授)

Clinical Significance of NQO1 Expression in Intrahepatic Cholangiocarcinoma

Natsuru SUDO

Division of Digestive and General Surgery,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Toshifumi WAKAI)

要 旨

【目的】酸化ストレス応答において重要な転写因子である nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) は、NAD(P)H: quinone oxidoreductase - 1 (NQO1) を活性化し、細胞を酸化ストレスや発癌から防御している。乳癌、大腸癌、肺癌、肝細胞癌、膵臓癌における変異 NQO1 発現に関する報告が散見されるが、肝内胆管癌における Nrf2 および NQO1 発現と術後成績との関連は未解明である。本研究の目的は、肝内胆管癌における Nrf2 および NQO1 発現を検討し、これら転写因子の発現が予後に与える影響を明らかにすることである。

【対象と方法】1992年1月から2012年10月までに当科で根治切除が施行された肝内胆管癌43例を対象とし、Nrf2 および NQO1 発現を免疫組織化学にて検討した。非腫瘍性肝内胆管上皮細胞をコントロールとして、腫瘍細胞の Nrf2 および NQO1 発現を発現陽性と発現欠失とに分類した。NQO1 発現欠失例は、同一標本内の非腫瘍性肝内胆管上皮細胞は NQO1 発現陽性を示すが、腫瘍細胞は NQO1 発現が欠失した“NQO1 発現陰性化”群、非腫瘍性肝内胆管上皮細胞が NQO1 遺伝子多型により NQO1 発現欠失を示す“Polymorphism”群の2群に分類した。13種類の臨床病理学的因子に関して単変量 (log-rank 検定)、多変量解析 (Cox 比例ハザードモデル) を用いて生存解析を行った。経過観察期間中央値は45か月であった。

【結果】Nrf2 および NQO1 発現：Nrf2 発現陽性は31例、発現欠失は12例であり、NQO1 発現陽性は28例、発現欠失は15例であった。Nrf2 発現と NQO1 発現との間に有意な関連を認めた ($P=0.012$)。NQO1 発現様式と腫瘍の組織分化度に関しては、NQO1 発現欠失を示す頻度は高分化型で10% (10例中1例)、中～低分化型では42% (33例中14例) であった。

術後成績：全症例の累積3年生存率は44%、生存期間中央値は22か月であった。NQO1 発現欠失群 (累積3年生存率13%、生存期間中央値18か月) は発現陽性群 (累積3年生存率

Reprint requests to: Natsuru SUDO
Division of Digestive and General Surgery,
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消化器・
一般外科学分野 (第一外科) 須藤 翔

60 %, 生存期間中央値 66 か月)と比較して術後成績は有意に不良であった ($P = 0.009$)。Nrf2 発現と術後成績に有意な関連は認められなかった ($P = 0.172$)。多変量解析では、リンパ節転移 ($P = 0.003$)、遠隔転移 ($P = 0.007$) および NQO1 発現欠失 ($P < 0.001$) が独立した予後不良因子であった。

NQO1 遺伝子多型および NQO1 発現陰性化：NQO1 発現欠失 15 例中、Polymorphism 群は 10 例、NQO1 発現陰性化群は 5 例であり、肝内胆管癌切除例において、NQO1 遺伝子多型により NQO1 発現欠失を示す頻度は 23 % (43 例中 10 例)であった。NQO1 発現陰性化群が最も術後成績不良 (累積 3 年生存率 0 %, 生存期間中央値 18 か月)であり、Polymorphism 群は累積 3 年生存率 30 %, 生存期間中央値 15 か月、NQO1 発現陽性群が最も術後成績良好 (累積 3 年生存率 60 %, 生存期間中央値 66 か月)であった ($P = 0.029$)。

【結論】NQO1 発現欠失は、肝内胆管癌における独立した予後不良因子である。NQO1 発現欠失例には、遺伝子多型により NQO1 発現が欠失した症例と、NQO1 発現陰性化症例が含まれ、NQO1 発現陰性化群の予後はより不良である。

キーワード：肝内胆管癌, NQO1, Nrf2, 外科切除, 予後因子

緒 言

NAD (P) H: quinone oxidoreductase-1 (NQO1) は、DT-diaphorase, menadione reductase または quinone reductase1 としても知られるフラボ蛋白質の一種で、生体異物である quinone 類の 2 電子還元反応を触媒し、低毒化または無毒化する働きを有する¹⁾。生体内では、酸化ストレスに応じて転写因子である nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) が核内に移行することで、NQO1 の転写が活性化される²⁾。正常細胞においては、NQO1 は酸化ストレスから細胞を守り¹⁾²⁾、同時に腫瘍抑制因子である p53 を安定化することで細胞の発癌を抑制している³⁾⁴⁾。Radjendirane ら¹⁾は NQO1 遺伝子をノックアウトしたマウスモデルを用いて、NQO1 が細胞の癌化抑制に働いていることを証明した。近年では、乳癌⁵⁾⁶⁾、大腸癌⁵⁾⁶⁾、肺癌⁵⁾⁻⁷⁾、肝細胞癌⁵⁾⁸⁾、膵臓癌⁹⁾における変異 NQO1 発現に関する報告が散見される。胆管癌における NQO1 発現に関しては、細胞株を用いた *in vitro* 研究の結果がいくつか報告されているが¹⁰⁾¹¹⁾、肝内胆管癌における NQO1 発現の臨床的意義に関する報告は少ない。

乳癌では NQO1 遺伝子多型による NQO1 発現欠失が、腫瘍の脱分化を促進し予後不良因子とな

ることが報告されているが¹²⁾⁻¹⁴⁾、肝内胆管癌における NQO1 発現と予後との関連に関してはこれまで明らかにされていない。本研究では、NQO1 発現欠失が肝内胆管癌における予後不良因子であるという仮説を立て、仮説検証を行った。本研究の目的は、肝内胆管癌における Nrf2 と NQO1 発現を検討し、これら転写因子の発現が術後成績に与える影響を明らかにすることである。

対象と方法

1. 対象

1992 年 1 月から 2012 年 10 月までに、当科で根治切除が施行された肝内胆管癌 43 例を対象とした。年齢の中央値は 67 歳 (31-82 歳)、性別は男性 30 例、女性 13 例であった。術式の内訳は、拡大左葉切除 16 例、左葉切除 7 例、拡大右葉切除 6 例、左三区域切除 4 例、右葉切除 2 例、後区域切除 2 例、右三区域切除 1 例、中央二区域切除 1 例、後区域・S8 切除 1 例、S4a・5 切除 1 例、S8 切除 1 例、S3 切除 1 例であった。肝外胆管切除 31 例、門脈合併切除 6 例、肝動脈合併切除 1 例、下大静脈合併切除 1 例が併施された。全例でリンパ節郭清が施行され、郭清リンパ節は UICC の TNM 分類第 7 版¹⁵⁾に準拠し分類した。術前化学

療法は5例(12%)に施行され、内訳は gemcitabine (GEM) 1例, TS-1 (S-1) 1例, GEM/S-1 併用1例, GEM/cisplatin (CDDP) 併用1例, CDDP 単注1例であった。術後補助化学療法は20例(47%)に施行され、内訳は GEM 8例, S-1 4例, GEM/CDDP 併用4例, GEM/S-1 併用4例であった。術後観察期間中央値は45か月(1-230か月)であった。予後調査の時点で、20例が再発により原病死、6例が他病死、11例が無再発生存中であった。

2. 病理組織学的因子

対象となった43例は、全例が組織学的に腺癌であり、腫瘍径中央値は4.0 cm (1.2-17.4 cm)であった。組織分化度(histologic grade)は標本内で最も分化度が低い部分で評価し、内訳は高分化型(G1)10例, 中分化型(G2)16例, 低分化型(G3)17例であった。所属リンパ節転移は15例(35%)に認められた。遠隔転移は6例(14%)に認められ、内訳は傍大動脈リンパ節転移3例, 腹膜播種3例であった。UICCのTNM分類第7版¹⁵⁾に基づき、Stage Iは13例, Stage II

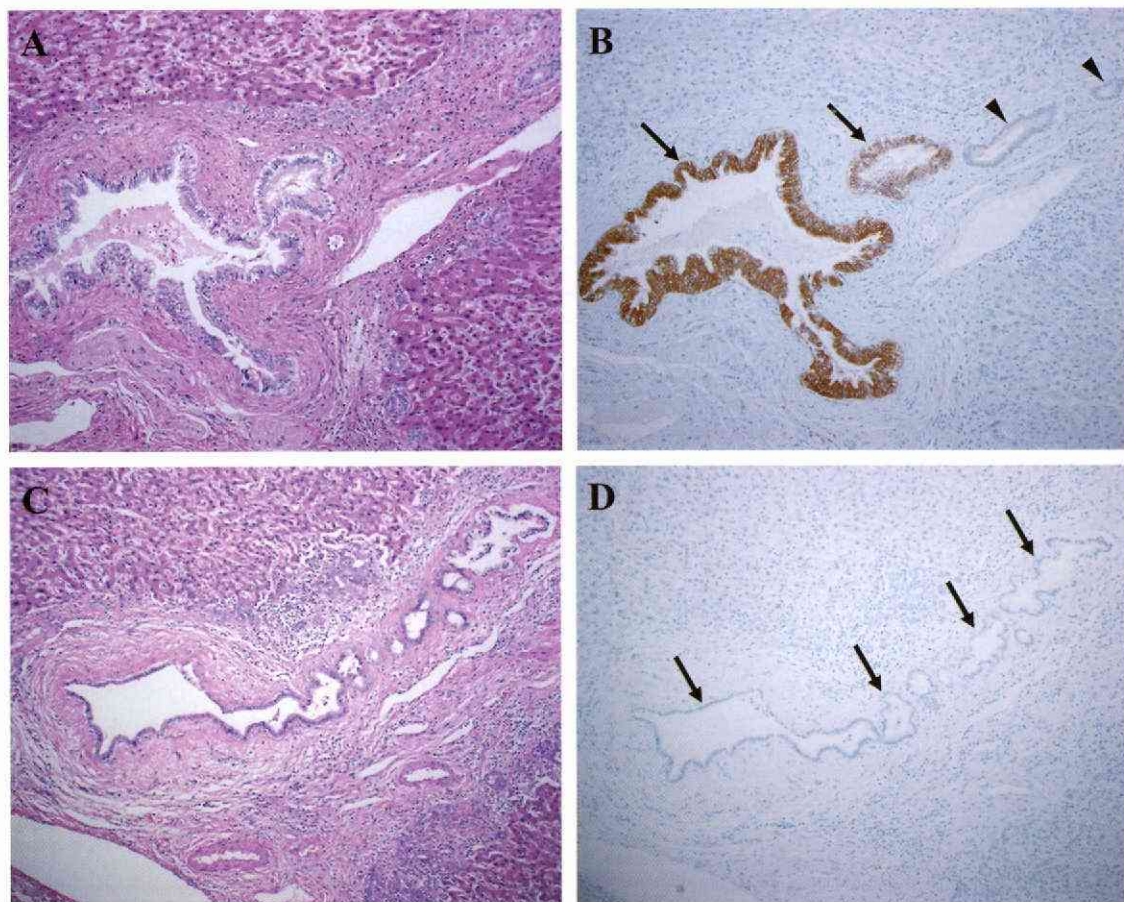


図1 非腫瘍性肝内胆管上皮細胞におけるNQO1発現

大型の小葉間胆管はNQO1発現陽性(B, 矢印)であるが、小型の小葉間胆管はNQO1発現を認めない(B, 矢頭)。NQO1遺伝子多型(polymorphism)により、NQO1発現は欠失している(D, 矢印)。(A)(C) HE染色, (B)(D) NQO1免疫組織化学。

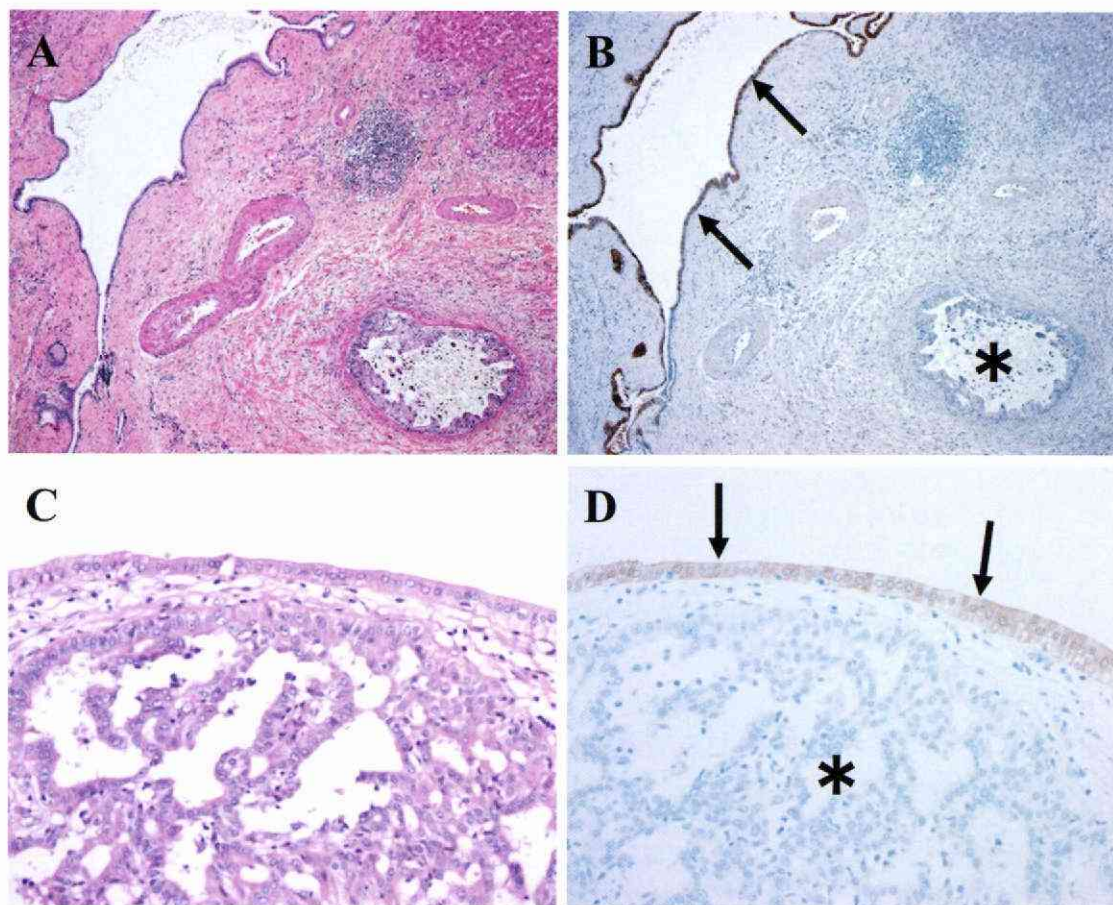


図2 肝内胆管癌におけるNQO1発現陰性化

非腫瘍性肝内胆管上皮細胞はNQO1発現陽性(B, D 矢印)だが、腫瘍細胞ではNQO1発現は欠失している(B, D 中の*)。(A)(C) HE 染色, (B)(D) NQO1免疫組織化学。

は11例, Stage IIIは2例, Stage IVAは11例, Stage IVBは6例であった。

3. 免疫組織化学

切除標本を10%ホルマリンで固定後に、パラフィン包埋ブロックから3 μ mの連続切片を作製し、それぞれHematoxylin Eosin 染色, NQO1 (rabbit monoclonal antibody against NQO1, Epitomics, Burlingame, CA, USA) およびNrf2 (rabbit monoclonal antibody against Nrf2, Epitomics, Burlingame, CA, USA) に対する免疫組織化学を施行した。非腫瘍性肝内胆管上皮細胞

をコントロールとして、腫瘍細胞のNrf2およびNQO1発現を評価した。Ohtaら¹⁶⁾の報告に基づき、細胞質と核のいずれか、またはその両者が染色される場合をNrf2発現陽性とし、いずれも染色されない場合をNrf2発現欠失とした。また、Winskiら¹⁷⁾の報告に基づき、細胞質と核のいずれか、またはその両者が染色される場合をNQO1発現陽性とし、いずれも染色されない場合をNQO1発現欠失とした。

非腫瘍性肝内胆管上皮細胞の多くはNQO1発現陽性を示す(図1A, B)が、NQO1遺伝子多型(polymorphism)により、NQO1発現欠失を示す

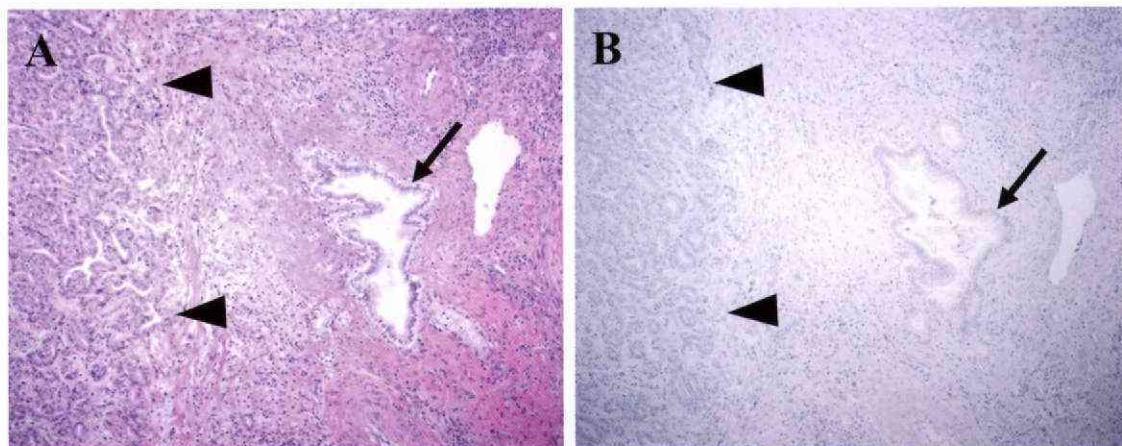


図3 NQO1遺伝子多型(polymorphism)によるNQO1発現欠失
非腫瘍性肝内胆管上皮細胞(矢印)がNQO1発現欠失かつ腫瘍細胞(矢頭)も
NQO1発現欠失している。(A) HE染色, (B) NQO1免疫組織化学。

症例も散見された(図1C, D)。腫瘍細胞がNQO1発現欠失を示す場合、同一標本内の非腫瘍性肝内胆管上皮細胞のNQO1発現様式によって2群に分類した。非腫瘍性肝内胆管上皮細胞はNQO1発現陽性だが腫瘍細胞はNQO1発現欠失を示す場合を“NQO1発現陰性化”群(図2)、非腫瘍性肝内胆管上皮細胞がNQO1発現欠失かつ腫瘍細胞もNQO1発現欠失を示す場合を“Polymorphism”群(図3)の2群に分類した。

4. 予後因子

肝内胆管癌切除後の長期成績に影響を与える因子を明らかにするために、11種類の臨床病理学的因子(年齢、性別、腫瘍径、組織分化度、TNM Stage, pT分類, pN分類, pM分類、癌遺残度、術前化学療法の有無、術後補助化学療法の有無)にNrf2発現およびNQO1発現を加えた13種類の因子に関して、単変量および多変量解析を行った。年齢のカットオフ値は、中央値を参考として65歳とした。各因子の評価はUICCのTNM分類第7版¹⁵⁾に基づき、腫瘍径は5.0 cmをカットオフ値として設定した。TNM StageはStage I-II/Stage III-IVB, pT分類はpT1-2/pT3-4のそれぞ

れ2群に分けて分類した。

5. 統計学的解析

統計解析はPASW Statistics 17 software package (SPSS Japan, Tokyo, Japan)を用いて行った。上記13種類の臨床病理学的因子に関して、Fisherの直接確率法を用いた比較検討を行った。また、Kaplan-Meier法を用いた生存解析を行った。単変量解析にはlog-rank検定を用い、単変量解析で有意な因子を多変量解析(Cox比例ハザードモデル)に投入し、独立規定因子を解析した。いずれの解析においても両側検定を行い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意であると判定した。

結 果

1. 肝内胆管癌におけるNrf2およびNQO1発現

43例中31例(72%)が腫瘍細胞におけるNrf2発現陽性を示し、12例(28%)がNrf2発現欠失を示した。また、43例中28例(65%)が腫瘍細胞におけるNQO1発現陽性を示し、15例(35%)がNQO1発現欠失を示した。Nrf2発現とNQO1発現との間に有意な関連を認めた($P =$

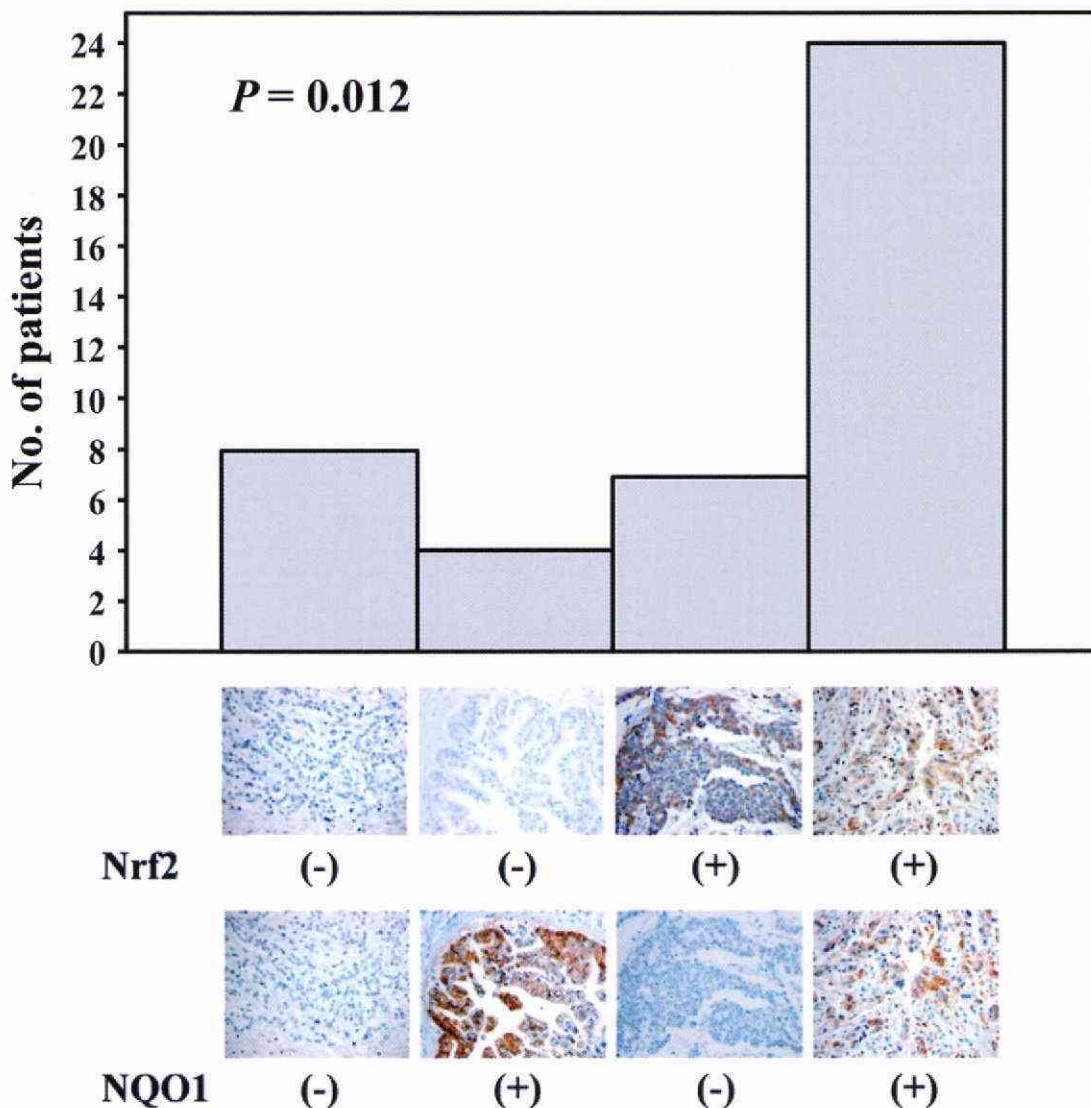


図4 肝内胆管癌における Nrf2 発現と NQO1 発現との関連

0.012, 図4).

腫瘍細胞の組織分化度と NQO1 発現様式に関して, NQO1 発現欠失を示す頻度は高分化型で 10 % (10 例中 1 例), 中～低分化型では 42 % (33 例中 14 例) であった ($P = 0.127$).

2. 肝内胆管癌切除後の術後成績に影響を与える臨床病理学的因子

43 例全体の累積 3 年生存率は 44 % であり, 生存期間中央値は 22 か月であった. 単変量解析により, TNM Stage III-IVB ($P < 0.001$), pT3-4 ($P = 0.038$), pN1 ($P = 0.002$), pM1 ($P < 0.001$), 腫瘍径 ≥ 5.0 cm ($P = 0.022$), 癌遺残度 R1 ($P = 0.014$), NQO1 発現欠失 ($P = 0.009$), これら 7

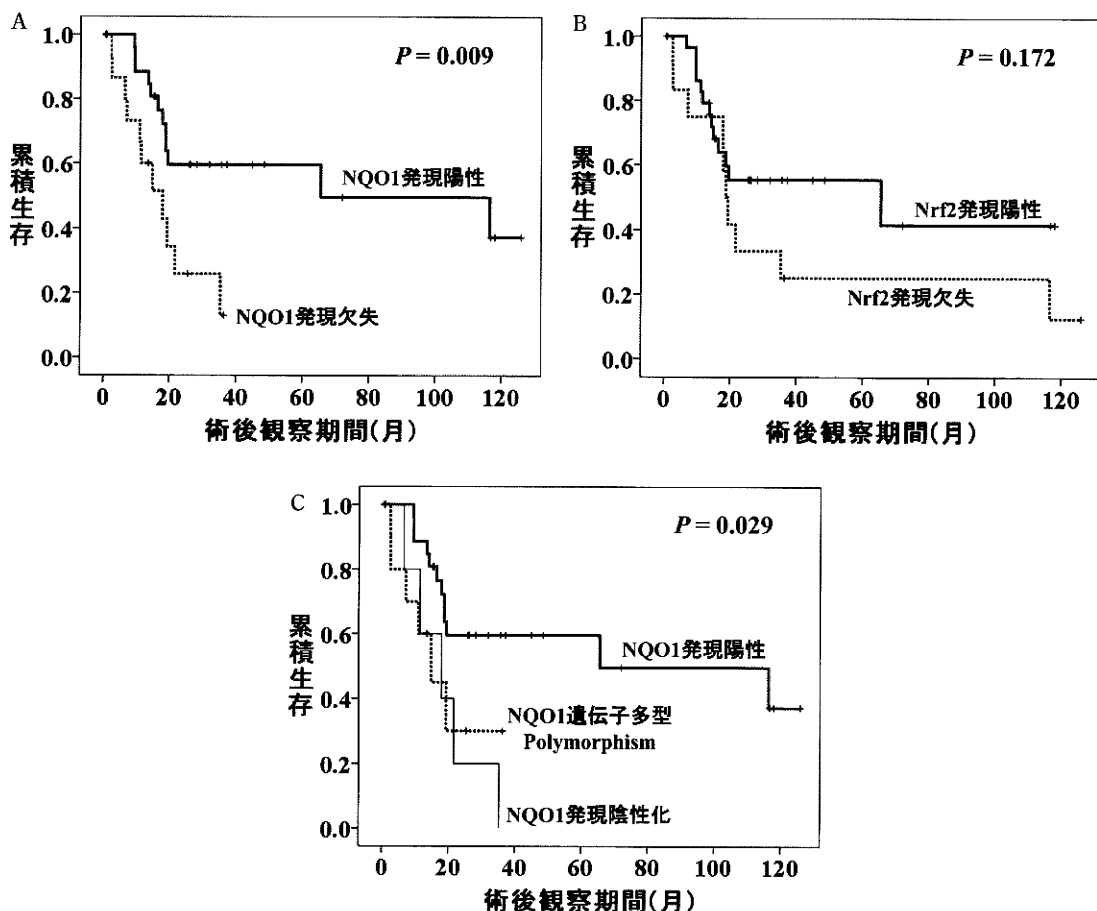


図5 肝内胆管癌の術後累積生存率曲線

- (A) NQO1発現欠失群の術後成績はNQO1発現陽性群と比較して有意に不良であった ($P = 0.009$).
 (B) Nrf2発現欠失群とNrf2発現陽性群との間で術後成績に有意な差は認めなかった ($P = 0.172$).
 (C) NQO1発現様式を、NQO1発現陽性、Polymorphism、NQO1発現陰性化の3群に分けて術後成績を比較するとNQO1発現陰性化群が最も術後成績不良であり、NQO1発現陽性群が最も術後成績良好であった ($P = 0.029$).

種類の臨床病理学的因子が術後成績不良な因子であった。NQO1発現欠失群（累積3年生存率13%，生存期間中央値18か月）はNQO1発現陽性群（累積3年生存率60%，生存期間中央値66か月）と比較して成績は有意に不良であった ($P = 0.009$, 図5A)。一方、Nrf2発現欠失群は累積3年生存率25%，生存期間中央値19か月、Nrf2発現陽性群は累積3年生存率55%，生存期

間中央値66か月であり、Nrf2発現と術後成績との有意な関連は認めなかった ($P = 0.172$, 図5B)。単変量解析にて抽出された7種類の臨床病理学的因子に対して、多変量解析を行った結果、pN1 ($P = 0.003$), pM1 ($P = 0.007$), NQO1発現欠失 ($P < 0.001$) が肝内胆管癌切除後の独立した予後不良因子であった (表1)。

表 1 肝内胆管癌切除後の術後成績に影響を与える臨床病理学的因子

臨床病理学的因子	症例数	累積 3 年 生存率 (%)	単変量解析	多変量解析	
			P 値	ハザード比 (95%信頼区間)	P 値
腫瘍径	< 5.0 cm	29	61	0.022	
	≥ 5.0 cm	14	0		
TNM Stage	Stage I-II	24	70	< 0.001	
	Stage III-IVB	19	12		
pT 分類	pT1-2	36	53	0.038	
	pT3-4	7	0		
pN 分類	pN0	28	60	1.000	0.003
	pN1	15	20	5.118 (1.771-14.786)	
pM 分類	pM0	37	52	1.000	0.007
	pM1	6	0	4.556 (1.519-13.663)	
癌遺残度	R0	33	56	0.014	
	R1	10	11		
NQO1 発現	陽性	28	60	1.000	< 0.001
	欠失	15	13	6.517 (2.320-18.307)	

3. NQO1 遺伝子多型および NQO1 発現陰性化の臨床的意義

NQO1 発現欠失 15 例のうち、非腫瘍性肝内胆管上皮細胞が NQO1 発現欠失を示す Polymorphism 群は 10 例、非腫瘍性肝内胆管上皮細胞が NQO1 発現陽性を示す NQO1 発現陰性化群は 5 例であった。肝内胆管癌切除例において、NQO1 遺伝子多型により NQO1 発現欠失を示す頻度は 23 % (43 例中 10 例) であった。

NQO1 発現様式を、NQO1 発現陽性、Polymorphism、NQO1 発現陰性化の 3 群に分けて術後成績を比較した検討では、NQO1 発現陰性化群が最も術後成績不良であり（累積 3 年生存率 0 %、生存期間中央値 18 か月）、Polymorphism 群は累積 3 年生存率 30 %、生存期間中央値 15 か月、NQO1 発現陽性群は最も術後成績良好（累積 3 年生存率 60 %、生存期間中央値 66 か月）であった ($P = 0.029$, 図 5C)。

考 察

NQO1 が生体内において果たす最も中心的な役割は、正常細胞を酸化ストレスから守り¹⁾²⁾、癌化を防ぐこと³⁾⁴⁾である。本研究では、NQO1 発現欠失が肝内胆管癌における予後不良因子であるという仮説を立て、仮説検証を行うため、肝内胆管癌 43 例の切除標本に対する免疫組織化学を行

い、NQO1 発現と術後成績との関連を解析した。本研究は、NQO1 発現欠失が肝内胆管癌における独立した予後不良因子であることを初めて明らかにした。

NQO1 発現と腫瘍細胞の組織分化度との関連については、これまでにいくつかの相反する臨床データが報告されている。Siegelmann - Danieli ら¹⁸⁾は、乳癌における NQO1 の遺伝子型と組織分化度との間に有意な関連を認めたと報告しているが、Fragerholm ら¹³⁾は両者の間に関連は認めなかったとしている。また、Basu ら¹⁹⁾は膀胱癌の組織分化度と NQO1 発現との間に有意な関連は認められなかったと報告しているが、Gan ら²⁰⁾は、低分化型の膀胱癌に比べ高分化型の膀胱癌では NQO1 発現がより高頻度に認められたとしている。当教室では過去に、根治切除を施行された肝内胆管癌 34 例を対象とした研究を行い、NQO1 発現欠失は腫瘍細胞の脱分化を反映し、組織分化度と有意な関連を認めたことを報告した²¹⁾。一方、今回の研究結果からは、NQO1 発現欠失例において、中～低分化度の腫瘍を多く認める傾向は示されたが、NQO1 発現と組織分化度との間に有意な関連は認められなかった ($P = 0.127$)。この結果の相違は、研究対象とした症例の中に Polymorphism 群がどれ位の頻度で認められるかが影響している可能性が考えられた。

Nrf2 は、正常環境下においては抑制タンパク質で

ある Keap1 により細胞質内に保持されている²⁾が、Keap1 遺伝子の変異や発現低下によって核内へ移行し活性化する¹⁶⁾。酸化還元反応に関わる転写因子である Nrf2 は、抗酸化物質や生体異物に対する反応の過程において NQO1 遺伝子の誘導を促進する²²⁾。本研究において、著者らは Nrf2 発現が NQO1 発現と有意な関連を示すことを明らかにしたが、Nrf2 発現陽性 31 例のうち 7 例 (23%) は NQO1 発現欠失を示していた。また、NQO1 発現欠失が肝内胆管癌切除例における予後不良因子であることが示された一方で、Nrf2 発現欠失と術後成績との間には有意な関連は認められなかった。本来、Nrf2 の下流に位置する転写酵素である NQO1 だが、両者の発現が必ずしも一致しないという結果からは、NQO1 遺伝子多型の関与や Nrf2 を介さない NQO1 発現経路の存在が示唆される。

NQO1 遺伝子多型の一例として、C609T の置換により特徴づけられる NQO1 * 2¹²⁾ が知られている。NQO1 * 2 は人口の 4.4% - 20.3% に認められるミスセンス遺伝子変異であり、乳癌発症の危険因子であることが報告されている²³⁾。また、NQO1 * 2 による NQO1 発現欠失が、ユビキチンプロテアソーム系を介した腫瘍の脱分化を促進し、乳癌患者における予後不良因子となることが報告されている^{12) - 14)}。一方、肝内胆管癌において、NQO1 遺伝子多型による NQO1 発現欠失と予後との関連についての報告はこれまでほとんどなされていなかった。本研究では、肝内胆管癌患者における NQO1 遺伝子多型による NQO1 発現欠失の頻度は約 23% であることを初めて明らかにした。NQO1 遺伝子多型による NQO1 発現欠失は肝内胆管癌の予後不良因子であり、諸家の報告もふまえると、様々な悪性腫瘍において予後不良を示す重要な因子である可能性が示唆される。

NQO1 は mitomycinC (MMC) 等の抗癌剤の生体内活性化にも関係している。広く知られているように、MMC は適度な酸性環境下でのみ NQO1 により触媒される²⁴⁾。Buranrat ら¹¹⁾ は、ヒト胆管細胞癌株を用いた実験で NQO1 の阻害剤としての性質を持つ dicoumarol が、胆管細胞

癌に対する GEM の細胞傷害性を増強させることを示したが、このことから、胆管癌において NQO1 発現は GEM に対する感受性に影響を与える可能性が示唆される。NQO1 発現が欠失した肝内胆管癌は予後不良であるが、その一方で GEM に対する感受性が高いことを鑑みれば、補助化学療法の良い適応となる可能性が有る。Powis ら²⁵⁾ は、ヒト NQO1 遺伝子を組み込んだマウス細胞株において、MMC による細胞発育抑制効果は明らかに上昇しなかったと報告している。このように、NQO1 やその阻害剤と抗癌剤感受性等に関してはまだ明らかとなっていない点も多く、今後より大規模な研究を行っていく必要がある。

本研究にはいくつかの制限がある。第一に後方視的研究であること、第二に対象とした症例数が少ないこと、そして経過観察期間が短いことである。しかしそれらの制限を考慮しても、今回の研究から得られた結果は統計学的に顕著に有意であり、これらのバイアスによる影響により導かれた結果ではないと考える。

結 論

NQO1 発現欠失は、肝内胆管癌切除例における独立した予後不良因子である。NQO1 発現欠失例には、遺伝子多型 (polymorphism) により NQO1 発現が欠失した症例と NQO1 発現が陰性化した症例が含まれ、NQO1 発現が陰性化した症例の予後はより不良である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・一般外科学分野、若井俊文 教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Radjendirane V, Joseph P, Lee YH, Kimura S, Klein - Szanto AJ, Gonzalez FJ and Jaiswal AK: Disruption of the DT diaphorase (NQO1) gene in mice leads to increased menadione toxicity. J

- Biol Chem 273: 7382 - 7389, 1998.
- 2) Jaiswal AK: Regulation of genes encoding NAD (P)H: quinone oxidoreductases. *Free Radic Biol Med* 29: 254 - 262, 2000.
 - 3) Asher G, Lotem J, Cohen B, Sachs L and Shaul Y: Regulation of p53 stability and p53 - dependent apoptosis by NADH quinone oxidoreductase 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 1188 - 1193, 2001.
 - 4) Anwar A, Dehn D, Siegel D, Kepa JK, Tang LJ, Pietenpol JA and Ross D: Interaction of human NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) with the tumor suppressor protein p53 in cells and cell - free systems. *J Biol Chem* 278: 10368 - 10373, 2003.
 - 5) Schlager JJ and Powis G: Cytosolic NAD(P)H: (quinone - acceptor) oxidoreductase in human normal and tumor tissue: effects of cigarette smoking and alcohol. *Int J Cancer* 45: 403 - 409, 1990.
 - 6) Siegel D and Ross D: Immunodetection of NAD (P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in human tissues. *Free Radic Biol Med* 29: 246 - 253, 2000.
 - 7) Siegel D, Franklin WA and Ross D: Immunohistochemical detection of NAD(P)H: quinone oxidoreductase in human lung and lung tumors. *Clin Cancer Res* 4: 2065 - 2070, 1998.
 - 8) Cresteil T and Jaiswal AK: High levels of expression of the NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1) gene in tumor cells compared to normal cells of the same origin. *Biochem Pharmacol* 42: 1021 - 1027, 1991.
 - 9) Ough M, Lewis A, Bey EA, Gao J, Ritchie JM, Bornmann W, Boothman DA, Oberley LW and Cullen JJ: Efficacy of beta - lapachone in pancreatic cancer treatment: exploiting the novel, therapeutic target NQO1. *Cancer Biol Ther* 4: 95 - 102, 2005.
 - 10) Prawan A, Buranrat B, Kukongviriyapan U, Sripa B and Kukongviriyapan V: Inflammatory cytokines suppress NAD(P)H: quinone oxidoreductase - 1 and induce oxidative stress in cholangiocarcinoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 135: 515 - 522, 2009.
 - 11) Buranrat B, Prawan A, Kukongviriyapan U, Kongpetch S and Kukongviriyapan V: Dicoumarol enhances gemcitabine - induced cytotoxicity in high NQO1 - expressing cholangiocarcinoma cells. *World J Gastroenterol* 16: 2362 - 2370, 2010.
 - 12) Ross D, Traver RD, Siegel D, Kuehl BL, Misra V and Rauth AM: A polymorphism in NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1): relationship of a homozygous mutation at position 609 of the NQO1 cDNA to NQO1 activity. *Br J Cancer* 74: 995 - 996, 1996.
 - 13) Fagerholm R, Hofstetter B, Tommiska J, Aaltonen K, Vrtel R, Syrjäkoski K, Kallioniemi A, Kilpivaara O, Mannermaa A, Kosma VM, Uusitupa M, Eskelinen M, Kataja V, Aittomäki K, von Smitten K, Heikkilä P, Lukas J, Holli K, Bartkova J, Blomqvist C, Bartek J and Nevanlinna H: NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 NQO1*2 genotype (P187S) is a strong prognostic and predictive factor in breast cancer. *Nat Genet* 40: 844 - 853, 2008.
 - 14) Siegel D, Anwar A, Winski SL, Kepa JK, Zolman KL and Ross D: Rapid polyubiquitination and proteasomal degradation of a mutant form of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1. *Mol Pharmacol* 59: 263 - 268, 2001.
 - 15) Sobin LH, Gospodarowicz MK and Wittekind Ch (eds): UICC. TNM Classification of Malignant Tumours. 7th edition. New York, John Wiley and Sons, Inc., 2009.
 - 16) Ohta T, Iijima K, Miyamoto M, Nakahara I, Tanaka H, Ohtsuji M, Suzuki T, Kobayashi A, Yokota J, Sakiyama T, Shibata T, Yamamoto M and Hirohashi S: Loss of Keap1 function activates Nrf2 and provides advantages for lung cancer cell growth. *Cancer Res* 68: 1303 - 1309, 2008.
 - 17) Winski SL, Koutalos Y, Bentley DL and Ross D: Subcellular localization of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 in human cancer cells. *Cancer Res* 62: 1420 - 1424, 2002.
 - 18) Siegelmann - Danieli N and Buetow KH: Significance of genetic variation at the glutathione S - transferase M1 and NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 detoxification genes in

- breast cancer development. *Oncology* 62: 39 - 45, 2002.
- 19) Basu S, Brown JE, Flannigan GM, Gill JH, Loadman PM, Martin SW, Naylor B, Scally AJ, Seargent JM, Shah T, Puri R and Phillips RM: Immunohistochemical analysis of NAD(P)H: quinone oxidoreductase and NADPH cytochrome P450 reductase in human superficial bladder tumours: relationship between tumour enzymology and clinical outcome following intravesical mitomycin C therapy. *Int J Cancer* 109: 703 - 709, 2004.
- 20) Gan Y, Mo Y, Kalns JE, Lu J, Danenberg K, Danenberg P, Wientjes MG and Au JL: Expression of DT-diaphorase and cytochrome P450 reductase correlates with mitomycin C activity in human bladder tumors. *Clin Cancer Res* 7: 1313 - 1319, 2001.
- 21) Wakai T, Shirai Y, Sakata J, Matsuda Y, Korita PV, Takamura M, Ajioka Y and Hatakeyama K: Prognostic significance of NQO1 expression in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 4: 363 - 370, 2011.
- 22) Venugopal R and Jaiswal AK: Nrf1 and Nrf2 positively and c-FOS and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 14960 - 14965, 1996.
- 23) Kelsey KT, Ross D, Traver RD, Christiani DC, Zuo ZF, Spitz MR, Wang M, Xu X, Lee BK, Schwartz BS and Wiencke JK: Ethnic variation in the prevalence of a common NAD(P)H: quinone oxidoreductase polymorphism and its implications for anti-cancer chemotherapy. *Br J Cancer* 76: 852 - 854, 1997.
- 24) Siegel D, Beall H, Kasai M, Arai H, Gibson NW and Ross D: pH-dependent inactivation of DT-diaphorase by mitomycin C and porfomycin. *Mol Pharmacol* 44: 1128 - 1134, 1993.
- 25) Powis G, Gasdaska PY, Gallegos A, Sherrill K and Goodman D: Over-expression of DT-diaphorase in transfected NIH 3T3 cells does not lead to increased anticancer quinone drug sensitivity: a questionable role for the enzyme as a target for bioreductively activated anticancer drugs. *Anticancer Res* 15: 1141 - 1145, 1995.

(平成26年1月21日受付)