

計畫編號：DOH96-TD-F-113-024

行政院衛生署九十六年度委託科技研究計畫

建立保健食品之預防大腸癌功能評估方法

研究報告

執行機構：台北醫學大學

計畫主持人：施純光

研究人員：周翠娟、許倬華、李威、黃俊傑

全程計畫：自 96 年 3 月 1 日至 97 年 2 月 29 日止

本年度計畫：自 96 年 3 月 1 日至 97 年 2 月 29 日止

*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，依合約之規定：如對
媒體發布研究成果應事先徵求本署同意*

目錄

目錄	1
表次	2
中文摘要	3
英文摘要	4
一、前言	5
二、材料與方法	8
三、結果	16
四、討論	34
五、結論與建議	46
九十六年度計畫執行成果報告表	47
九十六年度計畫重要研究成果及對本署之具體建議	48
參考文獻	49

表次

表 1 化學誘發型大腸癌動物模式實驗條件之比較.....	17
表 2 糙米對雄性 F344 鼠體重之影響.....	18
表 3 糙米對雄性 F344 鼠飼料攝取量之影響.....	19
表 4 糙米對雄性 F344 鼠餵食效率之影響.....	20
表 5 餵食糙米 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 之影響.....	21
表 6 餵食糙米 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發各種大小 ACF 之 影響	22
表 7 餵食糙米 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 分布之影 響	23
表 8 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 之影響...	24
表 9 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發各種大小 ACF 之影響	25
表 10 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 分布之影 響	26
表 11 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 MDF 之影響...	27
表 12 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發腫瘤之影響...	28
表 13 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠體重及飼料攝取量之影響.....	29
表 14 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 之影響...	31
表 15 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發各種大小 ACF 之影響	32
表 16 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 分布之 影響	33

摘要

大腸癌是和膳食關係最密切的癌症，許多膳食因子可調節大腸癌的形成，透過膳食預防大腸癌為合理可行的方向。研究顯示目前已有數百種食品或其成分具有預防大腸癌的潛力，是研發保健食品的良好原料。自從我國健康食品管理法實施以來，衛生署陸續公告多種健康食品的保健功能評估方法，但迄今尚無預防癌症的相關保健功能評估方法。本研究之目的為建立保健食品預防大腸癌功能的完整評估方法及判定標準，並實際以不同食品探討此評估方法的可行性及應用性。首先蒐集大腸癌研究之相關文獻，比較其實驗條件與實驗結果，經整理分析後初擬保健食品預防大腸癌功效的完整評估方法及判定標準，並選擇糙米及發酵乳此兩種具有預防大腸癌潛力的食品作為實驗樣品，探討此方法用於評估不同種類食品預防大腸癌功效之可行性及應用性。研究結果顯示化學誘發動物模式適合作為評估食品預防大腸癌功效之實驗模式，在此模式下糙米可降低大腸癌前期病變—缺乏黏液素病灶的發生率，但無法抑制大腸癌前期病變—異常腺窩病灶。發酵乳可抑制異常腺窩病灶，且呈現劑量反應。本研究成果可提供學界完善的大腸癌研究模式，並可作為衛生署制定保健食品預防大腸癌功能評估方法的依據。

關鍵詞：保健食品、大腸癌、預防、評估方法

Abstract

Colorectal cancer is the form of cancer most closely associated with diet. Dietary factors play a role in colorectal carcinogenesis, and thus it may be possible to prevent the occurrence of this cancer by dietary modification. Hundreds of dietary agents have been tested against colorectal cancer, and these agents are highly interesting for developed as health food. The Department of Health has promulgated several assessment methods of health food on health care effects; however, there is not any assessment method for the preventive effect of health food on cancer. This study was designed to establish an assessment method of health food on prevention of colorectal cancer and to evaluate the application of this method. First, we collected references about colorectal cancer studies, compared their experimental designs and results, and established an assessment method of health food on prevention of colorectal cancer. Second, we investigated the preventive effect of brown rice and fermented milk on colorectal cancer using this method to evaluate its application. The results showed that the chemically induced animal model is a good model for studies on the preventive effect of food against colorectal cancer. Brown rice reduced the incidence of mucin-depleted foci, a preneoplastic lesion, but did not inhibit aberrant crypt foci (ACF), another preneoplastic lesion. Fermented milk inhibited ACF in a dose-response. This study will contribute to provide an animal model for colorectal cancer studies and to establish a referential assessment method of health food on prevention of colorectal cancer.

Key words: Health food; Colorectal cancer; Prevention; Assessment method

一、前言

自民國 71 年至 95 年，癌症已連續 25 年高居我國十大死因之首，對國人的生命及健康構成極大威脅。在所有癌症中，大腸癌是和膳食關係最密切的癌症 (Drasar and Irving, 1973; Reddy, 2000)。許多膳食因子與大腸癌的形成有關，例如：高熱量、高脂肪、高肉類飲食與大腸癌的發生率或死亡率之間為正相關；而膳食纖維、鈣、維生素 D 則與大腸癌的發生率或死亡率之間為負相關 (Burnstein, 1993; Kune, 1996; Lipkin *et al.*, 1999; Kono, 2004)。由此可知：透過膳食預防大腸癌為合理可行的方向。

化學預防 (Chemoprevention) 是指利用天然物 (例如：食品成分) 或合成物 (例如：藥物) 預防、逆轉或延遲癌症的發展 (Swan and Ford, 1997)，對於早期癌症患者或有癌症前期病變者而言非常重要 (Reddy and Rao, 2003)。近年來，食品成分逐漸成為熱門的化學預防劑 (Chemopreventive agent)，美國 National Cancer Institute (NCI) 極力倡導以科學方法評估及開發具有化學預防潛力的食品成分 (Kelloff *et al.*, 2000)。根據統計，目前已有數百種食品或其成分經過評估可能具有預防大腸癌的潛力 (Parnaud *et al.*, 1999; Wargovich *et al.*, 2000; Corpet and Tache, 2002; Corpet and Pierre, 2003)。國人日常攝食的米 (Kawabata *et al.*, 1999; Liao *et al.*, 2006)、薏仁 (Shih *et al.*, 2004) 及發酵乳製品 (Tavan *et al.*, 2002) 均為近年來相當受重視的研究對象。

目前學界用於研究大腸癌的動物模式有三種，分別為異種移植模式 (Xenograft model)、基因改造模式 (Genetically modified model)、化學誘發模式 (Chemically induced model)。異種移植模式是將經過培養的人類大腸癌細胞植入實驗動物體內，因其與人類癌症發展過程差異大而較不適用。基因改造模式是令實驗動物某基因產生突變或截斷某基因而產生似人類遺傳性大腸癌的腫瘤，但目前已建立模式所產生的腫瘤為小腸腫瘤而非大腸腫瘤。化學誘發模式是以致癌物處理實驗動物，使其逐步發展大腸癌，此致癌過程及腫瘤性質與人類較接近，是目前最廣泛使用的大腸癌動物模式，已有研究證實此模式的實驗結果與人體介入性研究 (Intervention study) 的結果相當一致 (Corpet and Pierre, 2005)。

然而大腸癌的形成過程緩慢，所需誘發時間甚至長達一年以上，相當耗費時間、人力及金錢，因此許多學者致力於尋找大腸癌形成前的替代終點生物標記 (Surrogate endpoint biomarker, SEB)。Bird (1987) 所提出的 Aberrant crypt foci (ACF)、Yamada 等 (2000) 所提出的 β -Catenin accumulated crypts (BCAC)、Caderni 等 (2003) 所提出的 Mucin-depleted foci (MDF)、Ochiai 等 (2005) 所提出的 Dysplastic aberrant crypt foci (DACF) 即為近年來受重視的大腸癌 SEB，但何者能作為大腸癌的代表性 SEB 仍無定論，有待進一步評估。

自從我國健康食品管理法實施以來，衛生署陸續公布多種健康食品的保健功能評估方法，包括：牙齒保健、改善骨質疏鬆、調節血脂、免疫調節、胃腸功能改善、護肝、調節血糖、抗疲勞、延緩衰老、促進鐵吸收、輔助調節血壓、不易形成體脂肪及輔助調整過敏體質等 13 項，但至今仍無癌症相關保健功能的評估方法。大腸癌和膳食的關係非常密切，透過膳食因子可調節大腸癌形成，因此發展保健食品預防大腸癌有其必要性，而建立保健食品預防大腸癌的評估方法亦有其需求。本研究擬廣泛蒐集國內外相關科學文獻，建立保健食品預防大腸癌功效的完整評估方法及判定標準，並實際以具有防癌潛力的糙米及發酵乳進行實驗，探討此評估方法於評估不同種類食品預防大腸癌的可行性及應用性。研究完成後希望能有助於發展防癌保健食品，維護國人健康，並作為衛生署制定保健食品預防大腸癌評估方法時的依據。

二、材料與方法

(一) 建立保健食品預防大腸癌功能評估方法及判定標準

1. 文獻搜尋

利用 SCOPUS、MEDLINE、PubMed 等電子書目資料庫 (Electronic bibliographic database)，以 Colorectal cancer、Colon cancer、Rectal cancer、Aberrant crypt foci、Mucin-depleted foci 等關鍵字搜尋國內外大腸癌研究的科學文獻，以動物實驗之文獻作為研究對象。

2. 文獻整理

詳讀前述文獻，分析比較化學誘發模式中須考慮的各項變數，包括：

- (1) 實驗動物：種類、品系、性別。
- (2) 飲食：種類、組成、添加物。
- (3) 致癌方法：致癌物種類、劑量、給予途徑、誘發時程。
- (4) 實驗終點：大腸癌前期病變、大腸腫瘤。

3. 初擬保健食品預防大腸癌功能評估方法及判定標準

根據前述分析結果初擬保健食品預防大腸癌功能評估方法及判定標準。

(二) 評估保健食品預防大腸癌功能評估方法之可行性及應用性

【實驗一】以內含型取代實驗探討誘發性大腸癌動物模式用於評估糙米預防大腸癌之效果

1. 實驗材料

(1) 動物：使用約 5 週齡之 F344 品系雄鼠。

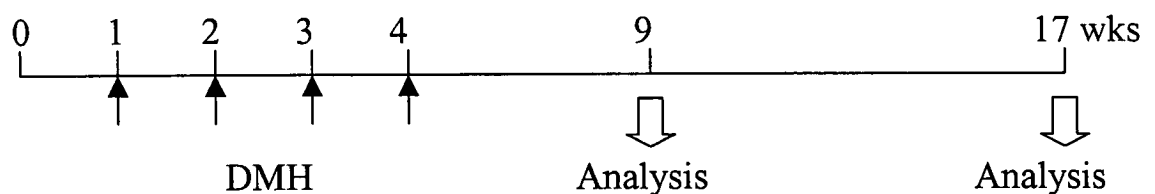
(2) 飼料：以 AIN-93G diet 為基礎飼料，實驗組飼料依糙米之一般成分分析結果調整蛋白質 (Casein)、脂肪 (Soybean oil)、纖維 (α -Cellulose) 及澱粉 (Corn starch) 之添加百分比。

(3) 藥品：以 1,2-Dimethylhydrazine (DMH) 誘發大腸癌，以 Piroxicam (一種具有預防大腸癌效果之非類固醇消炎藥) 作為正對照組之大腸癌化學預防劑。

2. 實驗設計

實驗動物經 1 週適應期後隨機分為 5 組，開始餵食實驗飼料。於實驗開始 1 週起，每週以腹腔注射方式給予 1 劑 DMH，劑量為 40 mg/kg，共注射 4 劑。分別於注射第 1 劑 DMH 後 8 週及 16 週時犧牲動物，取出大腸進行分析。

Group	Diet
1. Control	AIN-93G
2. Piroxicam	AIN-93G containing 0.04% piroxicam
3. 5% Rice	AIN-93G containing 5% brown rice
4. 10% Rice	AIN-93G containing 10% brown rice
5. 20% Rice	AIN-93G containing 20% brown rice



3. ACF 分析法 (Bird, 1998)

沿縱軸將結腸完全剪開並攤平，使其黏膜面向上，將結腸等切成 3 段 (近端、中段、遠端)，每段均夾在 2 片濾紙間，平坦置於已裝 10% Buffered formalin 之培養皿中，固定 24 小時以上。觀察 ACF 時先將已固定的結腸組織浸於 0.2% Methylene blue (以 PBS 作為溶劑)，染色時間約 5 分鐘，再將已染色的結腸組織置於玻片上 (黏膜面向上)，以 40-100 倍的光學顯微鏡觀察 ACF。

4. 黏液素分析法 (Jenab *et al.*, 2001 ; Caderni *et al.*, 2003)

採用 High iron diamine alcian blue (HIDAB) method 分析大腸黏液素。

將已被 Methylene blue 染色的遠端結腸置於 High iron diamine

solution (20 mg N, N'-Dimethyl-*p*-phenylenediamine 及 120 mg N, N'-Dimethyl-*m*-phenylenediamine 溶於 50 mL 蒸餾水，再加 1.4 mL 之 60% FeCl₃ solution) 中，於室溫避光下染 1 小時。取出結腸，以蒸餾水清洗後，置於 1% Alcian blue solution (以 3% Acetic acid 作為溶劑) 中染 30 分鐘。取出結腸，以 80% Ethanol 清洗後再次以蒸餾水清洗，最後將完成染色的結腸置於玻片上 (黏膜面向上)，以 40-100 倍的光學顯微鏡觀察大腸癌前期病變黏液素分泌情形。經 HIDAB 法染色後，Sulfomucin (SUM) 染成深棕色，Sialomucin (SIM) 染成藍色，無黏液素之區域則不會染色。大腸癌前期病變依發展程度由小到大依序為：分泌 SUM 之 ACF (SUM-ACF)、同時分泌 SUM 與 SIM 之 ACF (MIX-ACF)、分泌 SIM 之 ACF (SIM-ACF)、缺乏黏液素之病灶 (MDF)。

5. 腫瘤分析法 (Rao *et al.*, 1995)

將取出的結腸、盲腸、小腸及胃沿縱軸完全剪開，以 PBS 清洗後，攤平置於濾紙上，使其黏膜面向上。檢查腫瘤，記錄其位置及數目，並以游標尺測量每個腫瘤的長度 (Length, L)、寬度 (Width, W)、深度 (Depth, D)，並由下列公式求得腫瘤體積 (Volume, V): $V = L \times W \times D \times \pi/6$ 。

6. 統計分析

大腸癌前期病變及腫瘤發生率以百分比表示，其餘數值以平均值與標準差表示。大腸癌前期病變發生率及腫瘤發生率以卡方檢定

(Chi-squared test)比較，其餘數值以變異數分析(Analysis of variance, ANOVA)及鄧肯氏多變域檢定(Duncan's multiple range test)比較。

$P < 0.05$ 視為具有統計上顯著差異。

【實驗二】以外添型補充實驗探討誘發性大腸癌動物模式用於評估發酵乳預防大腸癌之效果

1. 實驗材料

(1)動物：使用約 5 週齡之 F344 品系雄鼠。

(2)飼料：以 AIN-93G diet 為基礎飼料，實驗組管餵發酵乳，負對照組管餵蒸餾水，正對照組管餵 Piroxicam。

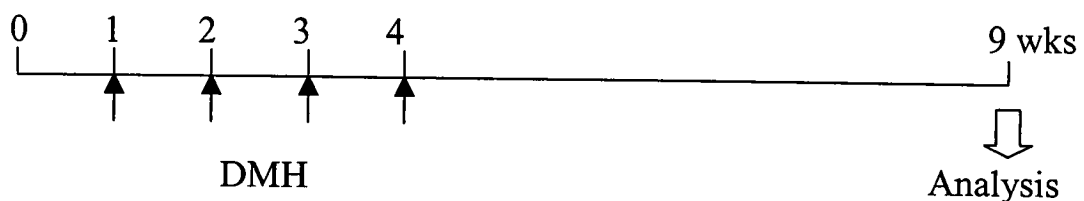
(3)藥品：以 DMH 誘發大腸癌，以 Piroxicam 作為正對照組之大腸癌化學預防劑。

2. 實驗設計

實驗動物經 1 週適應期後隨機分為 5 組，開始餵食實驗飼料。於實

驗開始 1 週起，每週以腹腔注射方式給予 1 劑 DMH，劑量為 20 mg/kg，共注射 4 劑。於注射第 1 劑 DMH 後 8 週時犧牲動物，取出大腸進行分析。

Group	Diet	Tube feeding
1. Control	AIN-93G	Distilled water (3 mL/d)
2. Piroxicam	AIN-93G	Piroxicam (2 mg/3 mL; 3 mL /d)
3. Y1	AIN-93G	Fermented milk (1 mL/d)
4. Y2	AIN-93G	Fermented milk (2 mL/d)
5. Y3	AIN-93G	Fermented milk (3 mL/d)



3. ACF 分析法 (Bird, 1998)

沿縱軸將結腸完全剪開並攤平，使其黏膜面向上，將結腸等切成 3 段（近端、中段、遠端），每段均夾在 2 片濾紙間，平坦置於已裝 10% Buffered formalin 之培養皿中，固定 24 小時以上。觀察 ACF 時先將已固定的結腸組織浸於 0.2% Methylene blue（以 PBS 作為溶劑），染色時間約 5 分鐘，再將已染色的結腸組織置於玻片上（黏膜面向上），

以 40-100 倍的光學顯微鏡觀察 ACF。

4. 黏液素分析法 (Jenab *et al.*, 2001 ; Caderni *et al.*, 2003)

採用 High iron diamine alcian blue (HIDAB) method 分析大腸黏液素。將已被 Methylene blue 染色的遠端結腸置於 High iron diamine solution (20 mg N, N'-Dimethyl-*p*-phenylenediamine 及 120 mg N, N'-Dimethyl-*m*-phenylenediamine 溶於 50 mL 蒸餾水，再加 1.4 mL 之 60% FeCl₃ solution) 中，於室溫避光下染 1 小時。取出結腸，以蒸餾水清洗後，置於 1% Alcian blue solution (以 3 % Acetic acid 作為溶劑) 中染 30 分鐘。取出結腸，以 80% Ethanol 清洗後再次以蒸餾水清洗，最後將完成染色的結腸置於玻片上 (黏膜面向上)，以 40-100 倍的光學顯微鏡觀察大腸癌前期病變黏液素分泌情形。經 HIDAB 法染色後，Sulfomucin (SUM) 染成深棕色，Sialomucin (SIM) 染成藍色，無黏液素之區域則不會染色。大腸癌前期病變依發展程度由小到大依序為：分泌 SUM 之 ACF (SUM-ACF)、同時分泌 SUM 與 SIM 之 ACF (MIX-ACF)、分泌 SIM 之 ACF (SIM-ACF)、缺乏黏液素之病灶 (MDF)。

5. 腫瘤分析法 (Rao *et al.*, 1995)

將取出的結腸、盲腸、小腸及胃沿縱軸完全剪開，以 PBS 清洗後，攤平置於濾紙上，使其黏膜面向上。檢查腫瘤，記錄其位置及數目，並以游標尺測量每個腫瘤的長度 (Length, L)、寬度 (Width, W)、深度 (Depth, D)，並由下列公式求得腫瘤體積 (Volume, V)： $V = L \times W \times D \times \pi/6$ 。

6. 統計分析

大腸癌前期病變及腫瘤發生率以百分比表示，其餘數值以平均值與標準差表示。大腸癌前期病變發生率及腫瘤發生率以卡方檢定

(Chi-squared test) 比較，其餘數值以變異數分析 (Analysis of variance, ANOVA) 及鄧肯氏多變域檢定 (Duncan's multiple range test) 比較。

$P < 0.05$ 視為具有統計上顯著差異。

三、結果

(一) 大腸癌動物模式之文獻整理

由於人類飲食及行為複雜，不易透過介入性研究 (Intervention study) 探討膳食成分對大腸癌的影響 (McIntosh *et al.*, 2001)，因此以動物模式作為保健食品預防大腸癌功能評估方法較適當。

本研究蒐集與整理國內外大腸癌研究之科學文獻，詳細比較實驗模式中須考慮之各項因子，包括：實驗動物、飲食、致癌方法、實驗終點，文獻整理結果如表 1 所示。

表 1 化學誘發型大腸癌動物模式實驗條件之比較

Table 1. Comparison of experimental condition in the animal model of chemically induced colorectal cancer

Animal	Diet	Induction method [Carcinogen; Dosage (mg/kg)×n]	ACF induction (week)	Tumor induction (week)	Reference
SD rat	AIN-93	DMH; 20×4	—	28	McIntosh <i>et al.</i> , 1999
F344 rat	CE-2	DMH; 20×4	7-11	—	Taniyama <i>et al.</i> , 2000
F344 rat	CE-2	DMH; 40×4	—	29	Taniyama <i>et al.</i> , 2000
F344 rat	Se-deficient	DMH; 25×2	8	—	Finley <i>et al.</i> , 2001
SD rat	AIN-76	DMH; 15×6	—	30	Park <i>et al.</i> , 2001
F344 rat	Labo MR stock	DMH; 20×4	—	36	Hagiwara <i>et al.</i> , 2001
SD rat	AIN-76	DMH; 25×8	—	18	Liu <i>et al.</i> , 2001
F344 rat	AIN-76	DMH; 25×2	9	—	Davis and Uthus, 2002
F344 rat	Oriental MF	DMH; 40×4	—	35	Futakuchi <i>et al.</i> , 2002
SD rat	AIN-76	DMH; 13.3×6	—	26	Kennedy <i>et al.</i> , 2002
F344 rat	CE-2	DMH; 20×3	10	—	Salim and Fukushima, 2003
SD rat	Oriental MF	DMH; 40×5	—	36	Cheng <i>et al.</i> , 2003
SD rat	AIN-93	DMH; 15×2	11	—	Khil and Gallaher, 2004
SD rat	AIN-93	DMH; 15×2	7	—	Hsu <i>et al.</i> , 2004
F344 rat	CE-2	DMH; 40×2	8	—	Yoshimi <i>et al.</i> , 2004
SD rat	AIN-76	DMH; 40×5	11	—	Schwartz <i>et al.</i> , 2004
SD rat	Oriental MF	DMH; 40×5	—	37	Orita <i>et al.</i> , 2004
F344 rat	CE-2	DMH; 40×2	4	—	Inamine <i>et al.</i> , 2005
F344 rat	Soyprotein-free	DMH; 20×4	6	—	Barth <i>et al.</i> , 2005
F344 rat	AIN-76	DMH; 30×10	—	25	Femia <i>et al.</i> , 2005
F344 rat	CE-2	DMH; 40×4	—	39	Wei <i>et al.</i> , 2005
LIO rat	Chow	DMH; 21×5	—	26	Popovich <i>et al.</i> , 2005
SD rat	Unknown	DMH; 30×5	—	23	Brown <i>et al.</i> , 2005
F344 rat	CRF-1	DMH; 40×3	9	19	Onose <i>et al.</i> , 2006
F344 rat	AIN-93	DMH; 30×6	9	—	Park <i>et al.</i> , 2007

(二) 實驗一：以內含型取代實驗探討誘發性大腸癌動物模式用於評估糙米預防大腸癌之效果

1. 攝食及生長狀況

如表 2 所示，各組動物之起始體重相近，介於 114 g 及 116 g 之間。隨著飼養時間增長，體重逐漸增加。在第 9 週時，5%糙米組之體重顯著大於 Piroxicam 組 ($P < 0.05$)，但在第 17 週時此兩組間並無顯著差異。無論於第 9 週或第 17 週時，三種劑量糙米組之體重均與對照組間無顯著差異。

表 2 糙米對雄性 F344 鼠體重之影響

Table 2. Effect of brown rice on body weight of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Body weight (g)		
	Week 0	Week 9	Week 17
Control	114 ± 26	285 ± 17 ^{a,b}	358 ± 31
Piroxicam	114 ± 26	278 ± 30 ^b	371 ± 28
5% Rice	115 ± 26	297 ± 11 ^a	369 ± 21
10% Rice	115 ± 25	284 ± 21 ^{a,b}	384 ± 34
20% Rice	116 ± 26	285 ± 21 ^{a,b}	373 ± 42

¹ All values are mean ± SD (n = 11-16 at week 0 and 9; n = 6-8 at week 17).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

表 3 為飼料攝取量。各組動物之飼料攝取量均隨飼養週數之增加而增加。無論在實驗前期（第 0-9 週）、實驗後期（第 9-17 週）或實驗全程，各組之飼料攝取量均無顯著差異。

表 3 糙米對雄性 F344 鼠飼料攝取量之影響

Table 3. Effect of brown rice on feed intake of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Feed intake (g/d)		
	Week 0-9	Week 9-17	Total
Control	12.9 ± 0.2	14.8 ± 0.9	13.7 ± 0.5
Piroxicam	12.3 ± 1.0	15.2 ± 0.1	13.6 ± 0.9
5% Rice	13.2 ± 0.3	14.3 ± 0.5	13.5 ± 0.1
10% Rice	13.0 ± 0.4	15.2 ± 0.8	13.9 ± 0.7
20% Rice	13.0 ± 0.5	14.7 ± 1.1	13.6 ± 0.8

¹ All values are mean ± SD (n = 11-16 during week 0 and 9; n = 6-8 during week 9 and 17).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

表 4 為餵食效率。各組動物之餵食效率均隨飼養週數之增加而降低。在實驗前期（第 0-9 週），各組之餵食效率無顯著差異。在實驗後期（第 9-17

週), 10%糙米組之餵食效率顯著大於 5%糙米組 ($P < 0.05$), 但三種劑量糙米組之餵食效率均與對照組間無顯著差異。就實驗全程而言, 20%糙米組之餵食效率顯著大於對照組及 Piroxicam 組 ($P < 0.05$), 但三種劑量糙米組間並無顯著差異。

表 4 糙米對雄性 F344 鼠餵食效率之影響

Table 4. Effect of brown rice on feed efficiency of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Feed efficiency (g/d) ⁴		
	Week 0-9	Week 9-17	Total
Control	21.0 ± 3.7	8.9 ± 2.4 ^{a,b}	13.7 ± 1.3 ^b
Piroxicam	19.7 ± 1.9	9.2 ± 1.8 ^{a,b}	14.5 ± 1.0 ^b
5% Rice	21.6 ± 3.2	8.7 ± 3.3 ^b	15.5 ± 2.0 ^{a,b}
10% Rice	20.3 ± 3.8	11.8 ± 2.3 ^a	15.5 ± 2.3 ^{a,b}
20% Rice	20.4 ± 4.0	9.8 ± 2.4 ^{a,b}	17.0 ± 2.3 ^a

¹ All values are mean ± SD (n = 11-16 during week 0 and 9; n = 6-8 during week 9 and 17).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

⁴ Body weight gain/feed intake × 100%.

2. 餵食糙米 9 週對大腸癌相關病變之影響

第 9 週時各組大腸癌前期病變 ACF 之發生率、數目及腺窩多發性如表 5 所示。所有動物於注射第 1 劑 DMH 8 週後均產生 ACF，各組 ACF 發生率均為 100%。Piroxicam 組之 ACF 數、異常腺窩數及腺窩多發性均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，三種劑量糙米組與對照組間則無顯著差異。

表 5 餵食糙米 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 之影響

Table 5. Effect of 9-week feeding of brown rice on DMH-induced ACF in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Incidence (% of rats with ACF)	Number of ACF/colon	Number of aberrant crypts/colon	Crypt multiplicity (number of aberrant crypts/focus)
Control	100%	133 ± 43 ^a	306 ± 119 ^a	2.3 ± 0.2 ^a
Piroxicam	100%	25 ± 24 ^b	46 ± 43 ^b	1.9 ± 0.3 ^b
5% Rice	100%	135 ± 42 ^a	302 ± 101 ^a	2.2 ± 0.1 ^a
10% Rice	100%	148 ± 19 ^a	329 ± 56 ^a	2.2 ± 0.2 ^a
20% Rice	100%	124 ± 37 ^a	283 ± 80 ^a	2.3 ± 0.1 ^a

¹ All values except for incidence are mean ± SD (n=5-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

ACF 生長情形如表 6 所示。各組均以帶有 2 個異常腺窩的 ACF 數目最多。Piroxicam 組之各種大小 ACF 數目均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，三種劑量糙米組與對照組間則無顯著差異。

表 6 餵食糙米 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發各種大小 ACF 之影響
Table 6. Effect of 9-week feeding of brown rice on the number of DMH-induced ACF according to the various number of crypts in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Number of foci containing			
	1 crypt	2 crypts	3 crypts	4 crypts or more
Control	31 ± 5 ^a	56 ± 18 ^a	30 ± 15 ^a	16 ± 8 ^a
Piroxicam	10 ± 10 ^b	11 ± 11 ^b	3 ± 3 ^b	1 ± 1 ^b
5% Rice	33 ± 11 ^a	57 ± 14 ^a	30 ± 16 ^a	15 ± 8 ^a
10% Rice	37 ± 8 ^a	63 ± 11 ^a	35 ± 12 ^a	12 ± 5 ^a
20% Rice	29 ± 10 ^a	55 ± 19 ^a	26 ± 9 ^a	15 ± 5 ^a

¹ All values are mean ± SD (n=5-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

ACF 分布情形如表 7 所示。ACF 主要出現於中段及遠端結腸，較少出現於近端結腸。Piroxicam 組無論近端、中段、遠端結腸之 ACF 數均顯著小

於對照組 ($P < 0.05$)，三種劑量糙米組與對照組間則無顯著差異。就分布百分比而言，對照組之 ACF 多數集中於中段結腸 (佔 50%)，Piroxicam 組、5%及 10%糙米組之 ACF 則較集中於遠端結腸 (佔 49-77%)。

表 7 餵食糙米 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 分布之影響

Table 7. Effect of 9-week feeding of brown rice on the distribution of DMH-induced ACF in the colon of male F344 rats^{1,2,3}

Experimental group ⁴	ACF distribution		
	Proximal colon	Middle colon	Distal colon
Control	11 ± 9 ^a (8%)	66 ± 24 ^a (50%)	56 ± 17 ^a (42%)
Piroxicam	1 ± 1 ^b (4%)	5 ± 6 ^b (19%)	20 ± 21 ^b (77%)
5% Rice	8 ± 7 ^{a,b} (6%)	61 ± 23 ^a (45%)	67 ± 21 ^a (49%)
10% Rice	8 ± 10 ^{a,b} (5%)	64 ± 16 ^a (43%)	76 ± 16 ^a (51%)
20% Rice	9 ± 7 ^{a,b} (7%)	59 ± 26 ^a (47%)	57 ± 18 ^a (46%)

¹ All values are mean ± SD (n=5-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Values in parentheses are percentage of ACF on a particular site.

⁴Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

3. 餵食糙米 17 週對大腸癌相關病變之影響

第 17 週時各組大腸癌前期病變 ACF 之發生率、數目及腺窩多發性如表 8 所示。所有動物於注射第 1 劑 DMH 16 週後均產生 ACF，各組 ACF 發生率均為 100%。Piroxicam 組之 ACF 數、異常腺窩數及腺窩多發性均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)。5%糙米組之異常腺窩數顯著大於對照組 ($P < 0.05$)，三種劑量糙米組之 ACF 數及腺窩多發性與對照組間則無顯著差異。

表 8 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 之影響

Table 8. Effect of 17-week feeding of brown rice on DMH-induced ACF in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Incidence (% of rats with ACF)	Number of ACF/colon	Number of aberrant crypts/colon	Crypt multiplicity (number of aberrant crypts/focus)
Control	100%	183 ± 32 ^a	435 ± 52 ^b	2.4 ± 0.2 ^a
Piroxicam	100%	51 ± 36 ^b	99 ± 73 ^c	1.9 ± 0.1 ^b
5% Rice	100%	260 ± 92 ^a	664 ± 241 ^a	2.5 ± 0.2 ^a
10% Rice	100%	185 ± 61 ^a	457 ± 156 ^{a,b}	2.5 ± 0.1 ^a
20% Rice	100%	245 ± 94 ^a	642 ± 281 ^{a,b}	2.6 ± 0.2 ^a

¹ All values except for incidence are mean ± SD (n=6-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

ACF 生長情形如表 9 所示。各組均以帶有 2 個異常腺窩的 ACF 數目最多。Piroxicam 組之各種大小 ACF 數目均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)。5% 糙米組帶有 2 個及 3 個異常腺窩之 ACF 數顯著大於對照組 ($P < 0.05$)，三種劑量糙米組帶有 1 個及 4 個以上異常腺窩之 ACF 數與對照組間則無顯著差異。

表 9 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發各種大小 ACF 之影響
Table 9. Effect of 17-week feeding of brown rice on the number of DMH-induced ACF according to the various number of crypts in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Number of foci containing			
	1 crypt	2 crypts	3 crypts	4 crypts or more
Control	50 ± 25 ^a	64 ± 12 ^b	39 ± 10 ^b	30 ± 4 ^a
Piroxicam	18 ± 13 ^b	23 ± 16 ^c	8 ± 7 ^c	2 ± 2 ^b
5% Rice	55 ± 24 ^a	96 ± 33 ^a	60 ± 22 ^a	49 ± 22 ^a
10% Rice	41 ± 16 ^a	66 ± 21 ^b	45 ± 15 ^{a,b}	32 ± 14 ^a
20% Rice	49 ± 21 ^a	89 ± 32 ^{a,b}	56 ± 23 ^{a,b}	51 ± 28 ^a

¹ All values are mean ± SD (n=6-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

ACF 分布情形如表 10 所示。ACF 主要出現於中段及遠端結腸，較少出現於近端結腸。Piroxicam 組無論近端、中段、遠端結腸之 ACF 數均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)。20%糙米組之中段結腸 ACF 數顯著大於對照組 ($P < 0.05$)，三種劑量糙米組之近端及遠端結腸 ACF 數與對照組間則無顯著差異。就分布百分比而言，各組均呈現遠端 $>$ 中段 $>$ 近端之情形。

表 10 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 分布之影響
Table 10. Effect of 17-week feeding of brown rice on the distribution of DMH-induced ACF in the colon of male F344 rats^{1,2,3}

Experimental group ⁴	ACF distribution		
	Proximal colon	Middle colon	Distal colon
Control	35 ± 20 ^{a,b} (19%)	59 ± 15 ^b (32%)	89 ± 36 ^a (49%)
Piroxicam	6 ± 4 ^c (12%)	18 ± 22 ^c (35%)	27 ± 12 ^b (53%)
5% Rice	43 ± 40 ^a (16%)	97 ± 47 ^{a,b} (37%)	121 ± 49 ^a (46%)
10% Rice	14 ± 10 ^{b,c} (8%)	85 ± 27 ^{a,b} (46%)	87 ± 32 ^a (47%)
20% Rice	31 ± 18 ^{a,b,c} (13%)	104 ± 56 ^a (42%)	110 ± 29 ^a (45%)

¹ All values are mean ± SD (n=6-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Values in parentheses are percentage of ACF on a particular site.

⁴Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

各組大腸癌前期病變 MDF 之發生率及數目如表 11 所示。對照組所有動物均出現 MDF，發生率為 100%。Piroxicam 組完全無 MDF，5%糙米組 MDF 發生率為 38%，此 2 組之 MDF 發生率均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)。10%及 20%糙米組之 MDF 發生率分別為 75%及 88%，略小於對照組，但未達統計上無顯著差異。各組之 MDF 數並無顯著差異。

表 11 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 MDF 之影響

Table 11. Effect of 17-week feeding of brown rice on DMH-induced MDF in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	MDF incidence (% of rats with MDF)	Number of MDF/MDF-bearing rat
Control	100%	2 ± 1
Piroxicam	0% ⁴	0
5% Rice	38% ⁴	3 ± 2
10% Rice	75%	2 ± 2
20% Rice	88%	2 ± 2

¹ All values except for incidence are mean ± SD (n=6-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

⁴ Significantly different from control, $P < 0.05$.

各組大腸腫瘤之發生率、多發性及體積如表 12 所示。除了 Piroxicam

組無腫瘤外，其餘各組均出現大腸腫瘤。Piroxicam 組及三種劑量糙米組之大腸腫瘤發生率均略小於對照組，但未達統計上無顯著差異。5%糙米組之腫瘤多發性顯著大於其它組 ($P < 0.05$)。各組大腸腫瘤體積並無顯著差異。

表 12 餵食糙米 17 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發腫瘤之影響

Table 12. Effect of 17-week feeding of brown rice on DMH-induced tumors in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Tumor incidence (% of rats with tumors)	Tumor multiplicity (tumors/tumor-bearing rat)	Tumor volume (mm ³)
Control	43%	1 ± 0 ^b	16 ± 20
Piroxicam	0%	0 ^c	0
5% Rice	13%	2 ± 0 ^a	17 ± 17
10% Rice	25%	1 ± 0 ^b	8 ± 7
20% Rice	38%	1 ± 0 ^b	14 ± 6

¹ All values except for incidence are mean ± SD (n=6-8).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ Control: AIN-93G diet; Piroxicam: AIN-93G diet 0.04% piroxicam; 5% Rice: AIN-93G diet containing 5% brown rice; 10% Rice: AIN-93G diet containing 10% brown rice; 20% Rice: AIN-93G diet containing 20% brown rice.

(三) 實驗二：以外添型補充實驗探討誘發性大腸癌動物模式用於評估發

酵乳預防大腸癌之效果

1. 攝食及生長狀況

如表 13 所示，各組動物之起始體重相近，平均為 174-175 g。經過 9 週飼養，體重逐漸增加，但各組最終體重並無顯著差異。飼料攝取量在各組間亦無顯著差異。

表 13 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠體重及飼料攝取量之影響

Table 13. Effect of 9-week feeding of fermented milk on body weight and feed intake of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Feed intake ⁴ (g/d)
C	174 ± 36	330 ± 16	15.4 ± 1.2
P	174 ± 36	329 ± 19	15.7 ± 1.3
Y1	174 ± 36	333 ± 18	15.7 ± 1.0
Y2	175 ± 37	332 ± 15	15.7 ± 1.1
Y3	175 ± 37	336 ± 16	15.8 ± 1.1

¹ All values are mean ± SD (n = 14-16).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ C: tube feeding with 3 mL distilled water; P: tube feeding with 2 mg piroxicam in 3 mL distilled water; Y1: tube feeding with 1 mL yogurt; Y2: tube feeding with 2 mL yogurt; Y3: tube feeding with 3 mL yogurt.

⁴ AIN-93G diet.

2. 餵食發酵乳 9 週對大腸癌相關病變之影響

各組大腸癌前期病變 ACF 之發生率、數目、異常腺窩數及腺窩多發性如表 14 所示。所有動物於注射 DMH 8 週後均產生 ACF，各組 ACF 發生率均為 100%。2 mL 發酵乳組、3 mL 發酵乳組及 Piroxicam 組之 ACF 數均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，其中 3 mL 發酵乳組與 Piroxicam 組間無顯著差異。3 mL 發酵乳組與 Piroxicam 組之異常腺窩數顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，但此二組間無顯著差異。1 mL 發酵乳組之腺窩多發性顯著大於 Piroxicam 組 ($P < 0.05$)，而無論 Piroxicam 組或三種劑量發酵乳組之腺窩多發性均與對照組間無顯著差異。

表 14 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 之影響

Table 14. Effect of 9-week feeding of fermented milk on DMH-induced ACF in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	Incidence (% of rats with ACF)	Number of ACF/colon	Number of aberrant crypts/colon	Crypt multiplicity (number of aberrant crypts/focus)
C	100%	129 ± 31 ^a	231 ± 53 ^a	1.8 ± 0.1 ^{a,b}
P	100%	56 ± 19 ^c	98 ± 37 ^b	1.7 ± 0.1 ^b
Y1	100%	111 ± 28 ^{a,b}	208 ± 56 ^a	1.9 ± 0.1 ^a
Y2	100%	107 ± 33 ^b	194 ± 62 ^a	1.8 ± 0.1 ^{a,b}
Y3	100%	70 ± 29 ^c	126 ± 53 ^b	1.8 ± 0.2 ^{a,b}

¹ All values except for incidence are mean ± SD (n = 14-16).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ C: tube feeding with 3 mL distilled water; P: tube feeding with 2 mg piroxicam in 3 mL distilled water; Y1: tube feeding with 1 mL yogurt; Y2: tube feeding with 2 mL yogurt; Y3: tube feeding with 3 mL yogurt.

ACF 生長情形如表 15 所示。餵食發酵乳之三組及 Piroxicam 組其帶有 1 個異常腺窩之 ACF 數均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，其中 3 mL 發酵乳組與 Piroxicam 組間無顯著差異。3 mL 發酵乳組與 Piroxicam 組其帶有 2 個及 3 個異常腺窩之 ACF 數均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，但此二組間無

顯著差異。1 mL 發酵乳組其帶有 4 個以上異常腺窩之 ACF 數顯著大於 Piroxicam 組 ($P < 0.05$)，但無論 Piroxicam 組或餵食發酵乳之三組其帶有 4 個以上異常腺窩之 ACF 數均與對照組間無顯著差異。

表 15 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發各種大小 ACF 之影響
Table 15. Effect of 9-week feeding of fermented milk on the number of DMH-induced ACF according to the various number of crypts in the colon of male F344 rats¹

Experimental group ³	Number of foci containing			
	1 crypt	2 crypts	3 crypts	4 crypts or more
C	52 ± 16 ^a	56 ± 16 ^a	18 ± 7 ^a	3 ± 3 ^{a,b}
P	22 ± 7 ^c	26 ± 12 ^b	6 ± 4 ^b	1 ± 2 ^b
Y1	38 ± 11 ^b	52 ± 16 ^a	17 ± 7 ^a	4 ± 3 ^a
Y2	40 ± 13 ^b	49 ± 17 ^a	14 ± 7 ^a	3 ± 2 ^{a,b}
Y3	27 ± 12 ^c	33 ± 14 ^b	8 ± 5 ^b	2 ± 2 ^{a,b}

¹ All values except for incidence are mean ± SD (n = 14-16).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ C: tube feeding with 3 mL distilled water; P: tube feeding with 2 mg piroxicam in 3 mL distilled water; Y1: tube feeding with 1 mL yogurt; Y2: tube feeding with 2 mL yogurt; Y3: tube feeding with 3 mL yogurt.

ACF 分布情形如表 16 所示。ACF 主要出現於遠端及中段結腸，較少

出現於近端結腸。餵食發酵乳之三組及 Piroxicam 組之遠端結腸 ACF 數均顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，其中 3 mL 發酵乳組與 Piroxicam 組間無顯著差異。3 mL 發酵乳組與 Piroxicam 組之中段結腸 ACF 數顯著小於對照組 ($P < 0.05$)，但此二組間無顯著差異。近端結腸 ACF 數在各組間無顯著差異。各組之 ACF 分布百分比相似。

表 16 餵食發酵乳 9 週對雄性 F344 鼠大腸受 DMH 所誘發 ACF 分布之影響

Table 16. Effect of 9-week feeding of fermented milk on the distribution of DMH-induced ACF in the colon of male F344 rats^{1,2}

Experimental group ³	ACF distribution		
	Proximal colon	Middle colon	Distal colon
C	2 ± 3 (2%)	61 ± 20 ^a (47%)	66 ± 20 ^a (51%)
P	1 ± 2 (2%)	28 ± 11 ^b (50%)	27 ± 9 ^c (48%)
Y1	3 ± 6 (3%)	55 ± 16 ^a (50%)	52 ± 18 ^b (47%)
Y2	2 ± 2 (2%)	52 ± 18 ^a (49%)	52 ± 19 ^b (49%)
Y3	3 ± 5 (4%)	32 ± 19 ^b (46%)	34 ± 14 ^c (49%)

¹ All values are mean ± SD (n = 14-16).

² Values with the same letter in a column are not significantly different from one another as determined by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

³ C: tube feeding with 3 mL distilled water; P: tube feeding with 2 mg piroxicam in 3 mL distilled water; Y1: tube feeding with 1 mL yogurt; Y2: tube feeding with 2 mL yogurt; Y3: tube feeding with 3 mL yogurt.

四、討論

(一) 大腸癌之化學誘發動物模式

本研究蒐集與整理國內外大腸癌研究之科學文獻，詳細比較化學誘發動物模式中須考慮之各項因子，包括：實驗動物、飲食、致癌方法、實驗終點，文獻整理結果如表 1 所示。以下分別探討各項因子。

1. 實驗動物

由於大鼠 (Rat) 的大腸在顯微鏡下無論形態或組織化學特性皆與人類大腸相似，且比小鼠 (Mouse) 容易罹患大腸癌，所以大鼠較適合作為實驗動物 (Bird, 1998; Reddy, 1998)。最常用於研究大腸癌的大鼠為 F344 鼠，此乃基於：F344 鼠體型小、壽命長、對傳染病的抗性強、各部位自發性腫瘤的發生率低 (Stinson, 1990)。雄鼠因暴露於致癌物後產生的大腸癌前期病變 ACF 較多且較不會產生腎腫瘤，所以較雌鼠更適合作為實驗動物 (Hughes *et al.*, 1997; Parnaud *et al.*, 1999)。

2. 飲食

多數研究採用 American Institute of Nutrition (AIN) 所推薦的標準齧齒類動物飲食，包括：AIN-76 diet (American Institute of Nutrition, 1977 and 1980) 與 AIN-93 diet (Reeves *et al.*, 1993)，近年來 AIN-93 diet 有逐漸取代 AIN-76

diet 之趨勢。受試物通常於誘發大腸癌相關病變形成前給予，以探討其對大腸癌發展過程之預防作用。受試物可混於飼料、混於飲水或以管餵方式給予。

3. 致癌方法

最常使用的大腸致癌物為 Azoxymethane (AOM) 及 1,2-Dimethylhydrazine (DMH)，給予方式為腹腔注射或皮下注射，採多重劑量方式 (Bird, 1998)。因 AOM 不易購得，近年來之研究較常使用 DMH。多數研究每次注射之 DMH 劑量為介於 20 至 40 mg/kg 之間，注射次數介於 2 至 6 次之間 (Corpet and Tache, 2002)。由注射第 1 劑致癌物開始算起，誘發大腸癌前期病變 ACF 需 4-11 週，誘發大腸腫瘤需 18-39 週。為使病變數足以顯現統計差異，建議以 8 週時間誘發 ACF，以 30 週時間誘發腫瘤。

4. 實驗終點

常用的實驗終點為腫瘤特質，包括：發生率 (Incidence)、多發性 (Multiplicity) 及大小 (Size) 等 (Hamilton, 1989)。近年來，許多學者採用替代終點生物標記 (Surrogate endpoint biomarker, SEB)，包括：ACF、MDF 及 BCAC 等三種大腸癌前期病變 (Bird and Good, 2000; Femia *et al.*, 2004; Mori *et al.*, 2005)。分析 ACF 之方法是以 Methylene blue solution 將

大腸組織染色，觀察異常腺窩病灶；分析 MDF 之方法是先以 High iron diamine solution 將大腸組織染色，再以 Alcian blue solution 染色，觀察未染色之腺窩病灶；分析 BCAC 之方法是先將大腸組織切片，再以抗體染色，觀察 β -Catenin 蓄積之腺窩病灶，較為費時費力。考量實驗的便利性與代表性，建議以 ACF 作為短期實驗的終點分析指標，以腫瘤作為長期實驗的終點分析指標。

綜觀以上文獻分析結果，本研究選擇以雄性 F344 鼠作為實驗動物，以 AIN-93 diet 作為基礎飼料，以 DMH 作為誘發大腸癌之致癌物，以 ACF 及腫瘤作為終點分析指標，分別探討糙米及發酵乳對大腸癌之預防作用。

(二) 糙米對動物攝食及生長之影響

實驗一探討糙米對大腸癌之預防作用，所有實驗動物均接受注射大腸癌特異性致癌物 DMH，劑量為 40 mg/kg \times 4 劑。實驗前期（第 0-9 週）時動物正處於快速生長期，體重增幅大（表 2），但攝食量不大（表 3），所以此階段的餵食效率較高（表 4）。隨著飼養週數增加，體重增幅趨緩，但攝食量漸增，因此實驗後期（第 9-17 週）的餵食效率較低（表 4）。由體重、飼料攝取量及餵食效率的結果顯示：餵食 5%、10% 及 20% 此三種劑量之糙米並未影響動物之攝食及生長。

(三) 糙米對大腸癌前期病變之影響

ACF 存在於以致癌物處理之鼠大腸及大腸癌高危險群之人類大腸中，是具有代表性的大腸癌前期病變 (Bird, 1995)。實驗一結果顯示實驗動物以 4 劑 DMH (每劑 40 mg/kg) 誘發 8 週後均能產生 ACF，對照組平均 ACF 數目為 133，腺窩多發性為 2.3，顯示誘發效果良好 (表 5)。誘發 16 週後對照組 ACF 數目為 183，腺窩多發性為 2.4 (表 8)，顯示隨著誘發時間增加，ACF 有持續生長的情形。三種劑量之糙米無論餵食 9 週或 17 週後對 ACF 數目及腺窩多發性均無顯著影響，顯示糙米並無抑制大腸癌前期病變 ACF 之作用。

分裂機制 (Fission mechanism) 可用於說明 ACF 之生長 (Tsukamoto *et al.*, 1999)。首先單一腺窩 (Single crypt) 因增生而於底部產生 V 型裂縫 (V-shaped cleft)，形成分叉腺窩 (Bifurcating crypt)，進而轉變成 2 個腺窩，這 2 個腺窩會繼續分叉而轉變成帶有更多個腺窩之 ACF。由此可知：ACF 所含的腺窩數越多，代表其生長程度越大。由表 6 及表 9 得知 5% 糙米餵食 9 週後對各種大小之 ACF 數目均無顯著影響，但餵食 17 週後造成帶有 2 個及 3 個異常腺窩之 ACF 數顯著大於對照組，似乎透露糙米中含有促進小型 ACF 生長之物質，此可能是 17 週時 5% 糙米組之異常腺窩數顯著大於對照組之原因 (表 8)。然而 10% 及 20% 糙米餵食 9 週及 17 週後對各種大小之

ACF 數目均無顯著影響，顯示此二種劑量之糙米並未介入已存在 ACF 之生長過程。糙米對 ACF 生長之調控仍有待進一步研究。

動物實驗發現給予致癌物後遠端結腸 ACF 的出現比近端結腸早且迅速，其發展過程如下：在早期，ACF 主要出現在遠端結腸；隨時間進展，ACF 開始出現在近端結腸，且部分 ACF 逐漸顯現病灶擴張（Focal expansion）而含更多異常腺窩（Bird, 1995；Bird, 1998）。由表 7 得知三種劑量之糙米餵食 9 週後雖對近端、中段、遠端三段結腸 ACF 之數目無顯著影響，但由 ACF 之分布百分比可看出：5%及 10%糙米組之 ACF 多數出現於遠端結腸（分別佔 49%及 51%），且近端結腸 ACF 百分比分別僅佔 6%及 5%；而對照組之 ACF 多數出現於中段結腸（佔 50%），且近端結腸 ACF 百分比達 8%。以上結果顯示：5%及 10%糙米餵食 9 週有延緩 ACF 由遠端結腸蔓延至近端結腸的趨勢。由表 10 得知 20%糙米餵食 17 週後造成中段結腸 ACF 數顯著大於對照組，似乎透露糙米中含有促進 ACF 生長之物質。然而近端及遠端結腸 ACF 數不受糙米影響，顯示糙米對 ACF 生長之調控有區域性，其作用機制有待進一步研究。

MDF 存在於以致癌物處理之鼠大腸中，具有典型發育不全（Dysplasia）的特質，是比 ACF 更接近腫瘤的大腸癌前期病變（Caderni *et al.*, 2003）。實驗一結果顯示實驗動物以 4 劑 DMH（每劑 40 mg/kg）誘發 16 週後出現

MDF，對照組 MDF 發生率為 100% (表 11)。三種劑量之糙米餵食 17 週後 MDF 發生率均小於對照組，其中 5%糙米組達統計上顯著差異，顯示糙米介入大腸癌前期病變的發展過程，抑制 MDF 形成。

(四) 糙米對大腸腫瘤之影響

實驗動物注射化學致癌物後出現大腸腫瘤的時間受致癌物劑量及誘發時間長短之影響。以 DMH 為例，文獻記載每次注射劑量約為 20-40 mg/kg，注射 2 至 6 劑，誘發時間通常在 12 週以上 (Corpet and Tache, 2002)。實驗一之 DMH 每次注射劑量為 40 mg/kg，注射 4 劑，誘發時間 8 週時未觀察到腫瘤，誘發 16 週時則有腫瘤出現。

由表 12 得知對照組大腸腫瘤發生率為 43%，5%、10%及 20%糙米組分別為 13%、25%及 38%，其值均低於對照組，但可能受樣本數小 ($n = 8$) 之影響而未達統計上顯著差異。

腫瘤多發性即平均每隻荷瘤動物之腫瘤數目，此數值在 5%糙米組為 2，在對照組、10%糙米組及 20%糙米組均為 1，統計結果顯示 5%糙米組顯著大於其它組 (表 12)。實驗一之 5%糙米組僅有 1 隻出現腫瘤且其腫瘤數為 2，而對照組、10%糙米組及 20%糙米組出現腫瘤的動物隻數為 2 至 3 隻且其腫瘤數均為 1，在出現腫瘤的動物隻數及腫瘤數皆少的情況下無法明確看出糙米對大腸腫瘤多發性的影響。

實驗一動物所出現的腫瘤體積平均介於 8 至 17 mm³ 之間 (表 12)，屬於較小型的腫瘤，仍處於初步發展階段，三種劑量之糙米對腫瘤體積並無顯著影響。由以上腫瘤資料顯示，三種劑量之糙米餵食 17 週後並無顯著抑制大腸腫瘤發展之作用。

(五) 發酵乳對動物攝食及生長之影響

實驗二探討發酵乳對大腸癌之預防作用。考量實驗一可能因大腸癌特异性致癌物 DMH 劑量較高 (40 mg/kg × 4 劑)，導致大腸癌相關病變發展程度高而不易觀察食品的預防作用，實驗二之 DMH 劑量改為 20 mg/kg × 4 劑。由體重及飼料攝取量的結果 (表 13) 顯示：在此實驗條件下，每日餵食 1、2 及 3 mL 發酵乳並未影響動物之攝食及生長。

(六) 發酵乳對大腸癌前期病變之影響

實驗二以 20 mg/kg × 4 劑之 DMH 注射動物，誘發 8 週後所有動物均產生 ACF，對照組平均 ACF 數為 129，腺窩多發性為 1.8，顯示誘發效果良好 (表 14)。與實驗一 (DMH 劑量為 40 mg/kg × 4 劑) 同為誘發 8 週之數值 (表 5) 相比，ACF 數相近 (129 vs. 133)，但腺窩多發性較低 (1.8 vs. 2.3)，顯示改變致癌物劑量並非參與「正常腺窩轉變成異常腺窩之階段」，而是參與「異常腺窩由小到大之生長階段」。

每日餵食 3 mL 發酵乳經 9 週後，大腸 ACF 數、異常腺窩數（表 14）、帶有 1 至 3 個異常腺窩之 ACF 數（表 15）、中間及遠端結腸 ACF 數（表 16）均顯著降低，其降低程度與大腸癌化學預防劑 Piroxicam 相當，顯示每日餵食 3 mL 發酵乳可顯著抑制鼠大腸癌前期病變發展。每日餵食 1 mL 及 2 mL 發酵乳對帶有 1 個異常腺窩之 ACF（表 15）及遠端結腸 ACF（表 16）亦有顯著抑制效果，其中餵食 2 mL 發酵乳尚能顯著降低 ACF 數（表 14）。整體而言，發酵乳劑量越高，對大腸癌前期病變 ACF 發展之抑制效果越佳。

（七）保健食品預防大腸癌功能評估方法之建立

由以上文獻整理結果得知大腸癌之化學誘發動物模式可作為保健食品預防大腸癌功能評估方法之動物模式，本研究分析相關文獻後初擬實驗條件及判定標準，並實際以動物實驗探討此評估方法之可行性及應用性。實驗一以固態食品（例如：糙米）部分取代一般飲食，探討其對大腸癌之預防效果，結果證實此模式可應用於內含型取代實驗。實驗二以液態食品（例如：發酵乳）作為補充劑，探討其對大腸癌之預防效果，結果證實此模式可應用於外添型補充實驗。在可行性及應用性均良好之前提下，本研究擬定保健食品預防大腸癌功能評估方法草案如下：

健康食品之預防大腸癌功能評估方法草案

壹、前言

自民國 71 年至 95 年，癌症已連續 25 年高居我國十大死因之首，對國人的生命及健康構成極大威脅。在所有癌症之中，大腸癌是和膳食關係最密切的癌症，許多膳食因子與大腸癌的形成有關，透過膳食預防大腸癌為合理可行的方向。

化學預防 (Chemoprevention) 是指利用天然物或藥物預防、逆轉或延遲癌症的發展，食品或其成分為相當熱門的化學預防劑 (Chemopreventive agent)，據統計目前已有數百種食品或其成分具有預防大腸癌的潛力，是研發保健食品的良好原料。

目前學界評估大腸癌化學預防劑時多採用化學誘發動物模式 (Chemically induced animal model)，此種模式的致癌過程及所產生腫瘤的性質與人類大腸癌極相近。實驗時先餵食動物受試物一段時間後再給予動物大腸癌特異性致癌物，觀察短期餵食受試物對大腸癌前期病變 Aberrant crypt foci (ACF) 的抑制效果或長期餵食受試物對大腸腫瘤的抑制效果。

貳、健康食品抑制大腸癌前期病變之評估方法

一、實驗動物

使用約 5 週齡之 F344 雄鼠，每組 8 隻以上。

二、實驗分組

分為對照組及 3 個劑量受試物組（實驗組），其中 1 個劑量（g/kg body weight）應介於人體推薦攝取劑量（g/kg body weight）的 5 至 10 倍之間。

三、實驗步驟

動物經 1 週適應期後隨機分組，進入實驗期（第 0 週），開始餵食含受試物之飼料或以餵食管給予受試物。於實驗開始後第 1 週起，每週以腹腔注射方式給予 1 劑大腸癌特異性致癌物 1,2-Dimethylhydrazine (DMH)，劑量為 20-40 mg/kg body weight，共注射 2-6 劑。於注射第 1 劑 DMH 後 8 週（第 9 週）時將動物處以安樂死後取出大腸進行分析。

四、大腸癌前期病變 ACF 分析

沿縱軸將結腸完全剪開並攤平，使其黏膜面向上，將結腸等切成 3 段（近端、中段、遠端），每段均夾在 2 片濾紙間，平坦置於已裝 10% Buffered formalin 之培養皿中，固定 24 小時以上。觀察時先將已固定的結腸組織浸於 0.2% Methylene blue（以 PBS 作為溶劑），染色時間約 5 分鐘，再將已染色的結腸組織置於玻片上（黏膜面向上），以 40-100 倍的光學顯微鏡觀察大腸癌前期病變 ACF。ACF 參數包括：ACF 發生率（Incidence）、ACF 數目、異常腺窩（Aberrant crypt）數、ACF 多發性（Multiplicity）、各種大小之 ACF 數。

五、統計分析

前述 ACF 參數之 ACF 發生率以卡方檢定分析，其餘參數以變異數分析法分析， $P < 0.05$ 視為具統計上顯著差異。

參、健康食品抑制大腸腫瘤之評估方法

一、實驗動物

使用約 5 週齡之 F344 雄鼠，每組 15 隻以上。

二、實驗分組

分為對照組及 3 個劑量受試物組（實驗組），其中 1 個劑量（g/kg body weight）應介於人體推薦攝取劑量（g/kg body weight）的 5 至 10 倍之間。

三、實驗步驟

動物經 1 週適應期後隨機分組，進入實驗期（第 0 週），開始餵食含受試物之飼料或以餵食管給予受試物。於實驗開始後第 1 週起，每週以腹腔注射方式給予 1 劑大腸癌特異性致癌物 DMH，劑量為 20-40 mg/kg body weight，共注射 2-6 劑。於注射第 1 劑 DMH 後 30 週（第 31 週）時將動物處以安樂死後取出大腸進行分析。

四、大腸腫瘤分析

將取出的結腸沿縱軸完全剪開，以 PBS 清洗後，攤平置於濾紙上，使其黏膜面向上。檢查腫瘤，記錄其位置及數目，並以游標尺測量每個腫瘤的

長度 (L)、寬度 (W)、深度 (D)，並由下列公式求得腫瘤體積 (V)： $V = L \times W \times D \times \pi/6$ 。腫瘤參數包括：發生率、多發性 (數目)、大小 (體積)。

五、統計分析

前述腫瘤參數之發生率以卡方檢定分析，其餘參數以變異數分析法分析， $P < 0.05$ 視為具統計上顯著差異。

五、結論與建議

化學誘發動物模式適合作為評估食品預防大腸癌功效之實驗模式，本研究蒐集整理此模式之相關文獻，並實際以此模式進行食品預防大腸癌之實驗，根據文獻分析及動物實驗結果擬定保健食品之預防大腸癌功能評估方法。

癌症為我國死因之首，其中大腸癌是和飲食關係最密切的癌症，已有許多食品或其成分經研究證實可預防大腸癌。開發保健食品預防大腸癌有其必要性，建立保健食品預防大腸癌功能評估方法亦有其迫切性，建議衛生署制定並公告保健食品之預防大腸癌功能評估方法。「保健食品之預防大腸癌功能評估方法」若因涉及疾病名稱而不適用，可改為「保健食品之抑制大腸腫瘤前期病變（Preneoplastic lesion）功能評估方法」或「保健食品之抑制大腸異常腺窩病灶（Aberrant crypt foci, ACF）功能評估方法」。

九十六年度計畫執行成果報告表
(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱	建立保健食品之預防大腸癌功能評估方法		
計畫編號	DOH-96-TD-F-113-024	填寫日期	97.2.26
執行機構	台北醫學大學	計畫主持人	施純光
計畫期程	<input checked="" type="checkbox"/> 一年期計畫； <input type="checkbox"/> 多年期計畫，共_____年，本年度為第_____年		
原計畫書擬達成目標	<ol style="list-style-type: none"> 1. 我國已公告的健康食品保健功能評估方法中，尚無針對預防癌症的保健功能評估方法，而大腸癌是和膳食關係最密切的癌症，因此本研究擬建立保健食品預防大腸癌功能的評估方法。 2. 大腸癌有多種研究模式，本研究將廣泛蒐集科學文獻，詳細比較其實驗條件與實驗結果，擬定保健食品預防大腸癌功能的評估方法及判定標準。 3. 本研究將分別以糙米及發酵乳進行動物實驗，探討前述方法於評估不同種類食品預防大腸癌之可行性及應用性，此二項實驗亦一併探討糙米及發酵乳預防大腸癌形成之能力。 		
已達成目標及其他成果	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本研究已完成保健食品之預防大腸癌功能評估方法草案，可作為衛生署制定保健食品預防大腸癌功能評估方法之參考。 2. 本研究經分析文獻後選定以化學誘發動物模式作為評估保健食品預防大腸癌功能之實驗模式，短期實驗以大腸癌前期病變 ACF 作為實驗終點，長期實驗以大腸腫瘤作為實驗終點。 3. 本研究實際以化學誘發動物模式評估糙米及發酵乳預防大腸癌形成之能力，證實此模式之可行性及應用性均佳，亦發現發酵乳可抑制大腸癌前期病變 ACF，具有開發為防癌保健食品之潛力。 		

(計畫主持人以條列方式逐項填寫，若篇幅不足，可另附頁說明)

九十六年度計畫重要研究成果及對本署之具體建議

(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱：建立保健食品之預防大腸癌功能評估方法

主持人：施純光

計畫編號：DOH96-TD-F-113-024

1.本計畫之新發現或新發明

我國已公告的健康食品保健功能評估方法中，尚無針對預防癌症的保健功能評估方法，本研究建立了保健食品預防大腸癌功能的評估方法。

2.本計畫對民眾具教育宣導之成果

(1)大腸癌是和飲食關係最密切的癌症，民眾可藉由調整飲食以預防大腸癌。

(2)發酵乳具有預防大腸癌的保健功效，民眾可經常飲用。

3.本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

(1)許多食品具有預防大腸癌的保健功效，建議衛生署制定並公告保健食品之預防大腸癌功能評估方法。

(2)「保健食品之預防大腸癌功能評估方法」若因涉及疾病名稱而不適用，可改為「保健食品之抑制大腸腫瘤前期病變 (Preneoplastic lesion) 功能評估方法」或「保健食品之抑制大腸異常腺窩病灶 (Aberrant crypt foci, ACF) 功能評估方法」。

參考文獻

- American Institute of Nutrition 1977. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 107:1340-1348.
- American Institute of Nutrition 1980. Second report of the ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 110:1726.
- Barth, S.W., Fahndrich, C., Bub, A., Dietrich, H., Watzl, B., Will, F. Briviba, K., Rechkemmer, G. 2005. Cloudy apple juice decreases DNA damage, hyperproliferation and aberrant crypt foci development in the distal colon of DMH-initiated rats. *Carcinogenesis* 26:1414-1421.
- Bird, R.P. 1987. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer Lett.* 37:147-151.
- Bird, R.P. 1995. Role of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. *Cancer Lett.* 93:55-71.
- Bird, R.P. 1998. Aberrant crypt foci system to study cancer preventive agents in the colon. In *Tumor Marker Protocols*, M. Hanausek and Z. Walaszek (Ed), p465-474, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Bird, R.P. and Good, C.K. 2000. The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. *Toxicol. Lett.* 112-113:395-402.
- Brown, W.A., Skinner, S.A., Malcontenti-Wilson, C., Vogiagis, D., and O'Brien, P.E. 2001. Non-steroidal anti-inflammatory drugs with activity against either cyclooxygenase 1 or cyclooxygenase 2 inhibit colorectal cancer in a DMH rodent model by inducing apoptosis and inhibiting cell proliferation. *Gut* 48:660-666.
- Burnstein, M.J. 1993. Dietary factors related to colorectal neoplasms. *Surg. Clin. North Am.* 73:13-29.
- Cademi, G., Femia, A.P., Giannini, A., Favuzza, A., Luceri, C., Salvadori, M., and Dolaro, P. 2003. Identification of mucin-depleted foci in the unsectioned colon of azoxymethane-treated rats: correlation with carcinogenesis. *Cancer Res.* 63:2388-2392.

Cheng, J.L., Futakuchi, M., Ogawa, K., Iwata, T., Kasai, M., Tokudome, S., Hirose, M., and Shirai, T., 2003. Dose response study of conjugated fatty acid derived from safflower oil on mammary and colon carcinogenesis pretreated with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine (DMH) in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Lett.* 196:161-168.

Corpet, D.E. and Pierre, F. 2003. Point: from animal models to prevention of colon cancer. Systematic review of chemoprevention in min mice and choice of the model system. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 12:391-400.

Corpet, D.E. and Pierre, F. 2005. How good are rodent models of carcinogenesis in predicting efficacy in humans? A systematic review and meta-analysis of colon chemoprevention in rats, mice and men. *Eur. J. Cancer* 41:1911-1922.

Corpet, D.E. and Tache, S. 2002. Most effective colon cancer chemopreventive agents in rats: a systematic review of aberrant crypt foci and tumor data, ranked by potency. *Nutr. Cancer* 43:1-21.

Davis, C.D. and Uthus, E.O. 2002. Dietary selenite and azadeoxycytidine treatments affect dimethylhydrazine-induced aberrant crypt formation in rat colon and DNA methylation in HT-29 cells. *J. Nutr.* 132:292-297.

Drasar, B.S. and Irving, D. 1973. Environmental factors and cancer of the colon and breast. *Br. J. Cancer* 27:167-172.

Femia, A.P., Caderni, G., Vignali, F., Salvadori, M., Giannini, A., Biggeri, A., Gee, J., Przybylska, K., Cheynier, V., and Dolara, P. 2005. Effect of polyphenolic extracts from red wine and 4-OH-coumaric acid on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats. *Eur. J. Nutr.* 44:79-84.

Femia, A.P., Dolara, P., and Caderni, G. 2004. Mucin-depleted foci (MDF) in the colon of rats treated with azoxymethane (AOM) are useful biomarkers for colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 25:277-281.

Finley, J.W., Ip, C., Lisk, D.J., Davis, C.D., Hintze, K.J. and Whanger, P.D. 2001. Cancer-protective properties of high-selenium broccoli. *J. Agric. Food Chem.* 49:2679-2683.

- Futakuchi, M., Hirose, M., Imaida, K., Takahashi, S., Ogawa, K., Asamoto, M., Miki, T., and Shirai, T. 2002. *Carcinogenesis* 23:283-287.
- Hagiwara, A., Miyashita, K., Nakanishi, T., Sano, M., Tamano, S., Kadota, T., Koda, T., Nakamura, M., Imaida, K., Ito, N., and Shirai, T. 2001. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Lett.* 171:17-25.
- Hamilton, S.R. 1989. Experimental models of colorectal carcinogenesis. In *Colorectal Cancer: From Pathogenesis to Prevention*, H.K. Seitz, U.A. Simanowski, and N.A. Wright (Ed), p202-216, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Berlin.
- Hsu, C.-K., Liao, J.-W., Chung, Y.-C., Hsieh, C.-P., and Chan, Y.-C. 2004. Xylooligosaccharides and fructooligosaccharides affect the intestinal microbiota and precancerous colonic lesion development in rats. *J. Nutr.* 134:1523-1528.
- Hughes, J.S., Ganthavorn, C., and Wilson-Sanders, S. 1997. Dry beans inhibit azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *J. Nutr.* 127:2328-2333.
- Inamine, M., Suzui, M., Morioka, T., Kinjo, T., Kaneshiro, T., Sugishita, T., Okada, T., and Yoshimi, N. 2005. Inhibitory effect of dietary monoglucosylceramide 1-O-beta-glucosyl-N-2'-hydroxyarachidoyl-4,8-sphingadienine on two different categories of colon preneoplastic lesions induced by 1,2-dimethylhydrazine in F344 rats.
- Jenab, M., Chen, J.-M., and Thompson, L.U. 2001. Sialomucin production in aberrant crypt foci relates to degree of dysplasia and rate of cell proliferation. *Cancer Lett.* 165:19-25.
- Kawabata, K., Tanaka, T., Murakami, T., Okada, T., Murai, H., Yamamoto, T., Hara, A., Shimizu, M., Yamada, Y., Matsunaga, K., Kuno, T., Yoshimi, N., Sugie, S., and Mori, H. 1999. Dietary prevention of azoxymethane-induced colon carcinogenesis with rice-germ in F344 rats. *Carcinogenesis* 20:2109-2115.
- Kelloff, G.J., Crowell, J.A., Steele, V.E., Lubet, R.A., Malone, W.A., Boone, C.W., Kopelovich, L., Hawk, E.T., Lieberman, R., Lawrence, J.A., Ali, I., Viner, J.L., and Sigman, C.C. 2000. Progress in cancer chemoprevention: development of diet-derived chemopreventive agents. *J. Nutr.* 130:467S-471S.

Kennedy, A.R., Billings, P.C., Wan, X.S., and Newberne, P.M. 2002. Effects of Bowman-Birk inhibitor on rat colon carcinogenesis. *Nutr. Cancer* 43:174-186.

Khil, J. and Gallaher, D.D. 2004. Beef tallow increases apoptosis and decreases aberrant crypt foci formation relative to soybean oil in rat colon. *Nutr. Cancer* 50:55-62.

Kono, S. 2004. Secular trend of colon cancer incidence and mortality in relation to fat and meat intake in Japan. *Eur. J. Cancer Prev.* 13:127-132.

Kune, G.A. 1996. *Causes and Control of Colorectal Cancer*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA.

Liao, H.-F., Chen, Y.-Y., Tang, T.-H., Wang, C.-S., and Chen, Y.-J. 2006. Rice (*Oryza sativa* L.) inhibits growth and induces differentiation of human leukemic U937 cells through activation of peripheral blood mononuclear cells. *Food Chem. Toxicol.* (in press)

Lipkin, M., Reddy, B., Newmark, H., and Lamprecht, A. 1999. Dietary factors in human colorectal cancer. *Ann. Rev. Nutr.* 19:545-586.

Liu, Z., Ishikawa, W., Huang, X., Tomotake, H., Kayashita, J., Watanabe, H., and Kato, N. 2001. A buckwheat protein product suppresses 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats by reducing cell proliferation. *J. Nutr.* 131:1850-3.

McIntosh, G.H., Royle, P.J., and Playne, M.J. 1999. A probiotic strain of *L. acidophilus* reduces DMH-induced large intestinal tumors in male Sprague-Dawley rats. *Nutr. Cancer* 35:153-159.

McIntosh, G.H., Royle, P.J., and Pointing, G. 2001. Wheat aleurone flour increases cecal β -glucuronidase activity and butyrate concentration and reduces colon adenoma burden in azoxymethane-treated rats. *J. Nutr.* 131:127-131.

Mori, H., Hata, K., Yamada, Y., Kuno, T., and Hara, A. 2005. Significance and role of early-lesions in experimental colorectal carcinogenesis. *Chem. Biol. Interact.* 155:1-9.

Ochiai, M., Watanabe, M., Nakanishi, M., Taguchi, A., Sugimura, T., and Nakagama, H. 2005. Differential staining of dysplastic aberrant crypt foci in the colon facilitates prediction of carcinogenic potentials of chemicals in rats. *Cancer Lett.* 220:67-74.

Onose, J., Imai, T., Hasumura, M., Cho, Y.M., and Hirose, M. 2006. A new medium-term rat colon bioassay applying neoplastic lesions as endpoints for detection of carcinogenesis modifiers-validation with known modifiers. *Cancer Lett.* 232:272-278.

Orita, S., Hirose, M., Takahashi, S., Imaida, K., Tio, N., Shudo, K., Ohigashi, H., Murakami, A., and Shirai, T. 2004. Modifying effects of 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) and the novel synthetic retinoids Re-80, Am-580 and Am-55P in a two-stage carcinogenesis model in female rats. *Toxicol Pathol.* 32:250-257.

Park, E. Jeon, G.-I., Park, J.-S., and Park, H.-D. 2007. A probiotic strain of *Bacillus polyfermenticus* reduces DMH induced precancerous lesions in F344 male rat. *Biol Pharm Bull.* 30:569-574.

Park, H.S., Ryu, J.H., Ha, Y.L., and Park, J.H.Y. 2001. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) induces apoptosis of colonic mucosa in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect by CLA. *Br. J. Nutr.* 86:549-555.

Parnaud, G., Tache, S., Peiffer, G., and Corpet, D.E. 1999. Polyethylene-glycol suppresses colon cancer and causes dose-dependent regression of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in rats. *Cancer Res.* 59:5143-5147.

Popovich, I.G., Zebezhinski, M.A., Egormin, P.A., Tyndyk, M.L., Anikin, I.V., Spasov, A.A., Semenchenko, A.V., Yashin, A.I., and Anisimov, V.N. 2005. Insulin in aging and cancer: antidiabetic drug Diabenol as geroprotector and anticarcinogen. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37:1117-1129.

Rao, C.V., Rivenson, A., Simi, B., and Reddy, B.S. 1995. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. *Cancer Res.* 55:259-266.

Reddy, B.S. 1998. Colon carcinogenesis models for chemoprevention studies. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 12:963-973.

Reddy, B.S. 2000. Novel approaches to the prevention of colon cancer by nutritional manipulation and chemoprevention. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 9:239-247.

- Reddy, B.S. and Rao, C.V. 2003. Role of synthetic and naturally occurring cyclooxygenase inhibitors in colon cancer prevention. In *COX-2 blockade in Cancer Prevention and Therapy*, R.E. Harris (Ed), p71-83, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Reeves, P.G., Nielsen, F.H., and Fahey, G.C. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 123:1939-1951.
- Salim, E.I. and Fukushima, S. 2003. Chemopreventive potential of volatile oil from black cummin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutr. Cancer* 45:195-202.
- Schwartz, B., Birk, Y., Raz, and Madar, Z. 2004. Nutritional-pharmacological combinations-a novel approach to reducing colon cancer incidence. *Eur. J. Nutr.* 43:221-229.
- Shih, C.-K., Chiang, W., and Kuo, M.-L. 2004. Effects of adlay on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Food Chem. Toxicol.* 42:1339-1347.
- Stinson, S.F. 1990. Spontaneous tumor in fischer rats. In *Atlas of Tumor Pathology of the Fischer Rat*, S.F. Stinson, H.M. Schuller, and G.K. Reznik (Ed), p1-18, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Swan, D.K. and Ford, B. 1997. Chemoprevention of cancer: Review of the literature. *Oncol. Nurs. Forum* 24:719-727.
- Taniyama, T., Wanibuchi, H., Salim, E.I., Yano, Y., Otani, S., Nishizawa, Y., Morii, H., and Fukushima, S. Chemopreventive effect of 24R,25-dihydroxyvitamin D(3) in N, N'-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 21:173-178.
- Tavan, E., Cayuela, C., Antoine, J.-M., Trugnan, G., Chaugier, C., and Cassand, P. 2002. Effects of dairy products on aromatic amine-induced rat colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 23:477-483.
- Tsukamoto, T., Kozaki, K.-I., Nishikawa, Y., Yamamoto M., Fukami, H., Inoue, M., Wakabayashi, K., and Tatematsu, M. 1999. Development and distribution of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-*b*]-pyridine (PhIP)-induced aberrant crypt foci in the rat large intestine. *Jpn. J. Cancer Res.* 90:720-725.

Wargovich, M.J., Jimenez, A., McKee, K., Steele, V.E., Velasco, M., Woods, J., Price, R., Gray, K., and Kelloff, G.J. 2000. Efficacy of potential chemopreventive agents on rat colon aberrant crypt formation and progression. *Carcinogenesis* 21:1149-1155.

Wei, M., Morimura, K., Wanibuchi, H., Shen, J., Salim, E.I., Moku, M., Hakoi, K., and Fukushima, S. 2005. JTE-522, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, inhibits induction but not growth and invasion of 1,2-dimethylhydrazine-induced tubular adenocarcinomas of colon in rats. *Int. J. Cancer* 113:354-358.

Yamada, Y., Yoshimi, N., Hirose, Y., Kawabata, K., Matsunaga, K., Shimizu, M., Hara, A., and Mori, H. 2000. Frequent β -catenin gene mutations and accumulations of the protein in the putative preneoplastic lesions lacking macroscopic aberrant crypt foci appearance, in rat colon carcinogenesis. *Cancer Res.* 60:3323-3327.

Yoshimi, N., Morioka, T., Kinjo, T., Inamine, M., Kaneshiro, T., Shimizu, T., Suzui, M., Yamada, Y., and Mori, H. 2004. Histological and immunohistochemical observations of mucin-depleted foci (MDF) stained with Alcian blue, in rat colon carcinogenesis induced with 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride. *Cancer Sci.* 95:792-797.