

食品中内分泌かく乱物質等の発がん修飾作用に関する実験的研究

分担研究者 津田 洋幸 国立がんセンター研究所化学療法部部长

研究要旨 食品中の内分泌かく乱物質等の発がん・発がんプロモーションあるいは発がん抑制作用を評価する*in vivo*実験系を確立するために、我々が作成した乳腺発がん高感受性トランスジェニックラットを用いて、陽性対照としての 17β -estradiol (E2)と、食品中のエストロゲン作用物質である genistein を投与して乳腺腫瘍発生に対する影響を調べた。その結果、E2は用量に応じた腫瘍発生の抑制作用を示し、ゲニスタインもそれより弱いと同様の抑制作用を示した。以上から、この動物においてE2とゲニスタインは発がん抑制要因として作用し、このモデルがエストロゲン作用物質の評価系としてと有用である可能性が示された。

A. 研究目的

内分泌環境のかく乱は発がんの重要なリスク因子であるが内分泌かく乱物質の発がん性あるいは発がん修飾作用の証明されている物質は少数にすぎない。その理由は被検物質の発がん性を低容量でも確実に検出し得る*in vivo*実験系がなかったことによる。本研究では、我々が作成した発がん高感受性トランスジェニックラットを用いて食品中の内分泌かく乱物質等の発がん・発がんプロモーションあるいは発がん抑制作用を評価し得る実験系を確立し、可能な限り多くの物質について評価することにある。

B. 研究方法

50日齢の雌雄のTgラットに7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)を25mg/kg胃内投与し、翌日および60日目に陽性対照として 17β -estradiol (E2)を一匹あたり0、0.01、0.1および1mgの用量で背部皮下に挿入し12週にて終了した。雄は18週でペレットの追加挿入を行い20週にて終了した。genisteinの実験についても50日齢の雌雄のTgラットにDMBAを25mg/kg胃内投与し、翌日よりgenisteinを0、25および250ppmの用量にて基礎食に加えて雌は12週まで、雄は20週まで投与した。現在、雌は屠殺時の肉眼所見が得られ、雄は実験経過中である。

C. 研究結果

E2投与では、乳腺腫瘍の個数/ラットは、雌Tgで0mgで7.3、0.01mgで6.8、0.1mgで1.9、1mgで0.5であり、用量に相関した減少がみられた（傾向検定で有意）。野生型でも弱い抑制傾向がみられた。また雄Tgでも0mgで2.7、0.01mgで4.6、0.1mgで1.0、1mgで0.9であり抑制された（傾向検定で有意）。以上から、E2は本Tgラットの乳腺発がんを抑制することが明らかとなり、このラットはエストロゲン作用物質の*in vivo*アッセイ系として応用出来る可能性が見いだされた。genisteinでは、雌Tgで0ppmで7.1、25ppmで5.2、250ppmで4.5であり、用量に相関した有意の抑制がみられた（傾向検定で有意）。野生型では0ppmで1.4、25ppmで1.1、250ppmで0であり、同様の抑制傾向がみられた。したがってgenisteinはこの実験の用量では乳腺発がんを抑制する事が明らかとなった。

D. 考察

我々の作成したヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子トランスジェニックラットは生後50日齢雌にMNUやDMBAの1回投与後、僅か8～12週間で全例に乳がんが多発し発がん高感受性が極めて高いことが分かってきた。このラットを用いれば低用量であっても、短期間に内分泌かく乱物質の乳腺発がん促進修飾作用についてもを検索できると考えた。本研究に

よってエストロゲン作用物質の陽性対照として選んだE2は、本Tgラットの乳腺発がんを抑制することが明らかとなり、このラットはエストロゲン作用物質の発がん修飾作用の*in vivo*アッセイ系として応用出来ることが明らかとなった。被検物質のgenisteinはE2より弱いと同様に抑制作用を示した。genisteinはほかの実験系にて発がん抑制作用が見いだされているが、この結果がエストロゲン作用に起因するかについては、今後他のいくつかの環境内分泌かく乱物質について検証することにより明らかにする予定である。

E. 結論

本Tgラットの乳腺発がんはE2によって抑制することが明らかとなり、このラットはエストロゲン作用物質の発がん修飾作用の*in vivo*アッセイ系として応用出来ることが明らかとなった。被検物質のgenisteinはE2より弱い、同様に抑制作用を示した。この結果がエストロゲン作用に起因するかについては、今後他のいくつかの環境内分泌かく乱物質について検証する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Moore, M. A., Kunimoto, T. and Tsuda, H. Cancer associations at the country level and shared risk factors - a fuzzy concept? *Eur. J. Cancer Prev.*, 8: 63-65 (1999).
2. Moore, M. A., Tsuda, H. Cancer screening: an educational challenge ? *Eur. J. Cancer Prev.*, 8: 7-16 (1999).
3. Moore, M. A., Kunimoto, T., Park, C. B., Takasuka, N. and Tsuda, H. Cross-country comparisons of colon and rectal cancer mortality suggest the existence of differences in risk factors in eastern and western Europe. *Eur. J. Cancer Prev.*, 8: 67-71 (1999).
4. Ushida, Y., Sekine, K., Kuhara, T., Takasuka, N., Iigo, M., Maeda, M. and Tsuda, H. Possible chemopreventive effects of bovine lactoferrin on esophagus and lung

carcinogenesis in the rat. *Jpn. J. Cancer Res.*, 90: 262-267 (1999).

5. Tanaka, K., Ikeda, M., Nozaki, A., Kato, N., Tsuda, H., Saito, S. and Sekihara, H. Lactoferrin inhibits hepatitis C virus viremia in patients with chronic hepatitis C: a pilot study. *Jpn. J. Cancer Res.*, 90: 367-371 (1999).
6. Kim, D. J., Park, C. B., Lee, J. S., Tsuda, H. and Furihata, C. Enhanced quinone reductase (QR) activity correlates with promotion potential of diethyl maleate (DEM) in rat forestomach and glandular stomach carcinogenesis initiated with *N*-methyl-*N'*-nitrosoguanidine (MNNG). *Cancer Lett.*, 137: 193-200 (1999).
7. Park, C. B., Kim, D. J., Uehara, N., Takasuka, N., Toriyama-Baba, H. and Tsuda, H. Heterozygous *p53*-deficient mice are not susceptible to 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) carcinogenicity. *Cancer Lett.*, 139: 177-182 (1999).
8. Ogawa, K., Tsuda, H., Shirai, T., Ogiso, T., Wakabayashi, K., Dalgard, D. W., Thorgeirsson, U. P., Thorgeirsson, S. S., Adamson, R. H. and Sugimura, T. Lack of carcinogenicity of 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) in cynomolgus monkeys. *Jpn. J. Cancer Res.*, 90: 622-628 (1999).
9. Iigo, M., Kuhara, T., Ushida, Y., Sekine, K., Moore, M. A. and Tsuda, H. Inhibitory effects of bovine lactoferrin on colon carcinoma 26 lung metastasis in mice. *Clinical and Experimental Metastasis*, 17: 35-40 (1999).
10. Moore, M. A., Kunimoto, T., Park, C. B. and Tsuda, H. Cross-country comparisons suggest shared risk factors for carcinomas, including male lung adenocarcinoma and colon cancer development. *Lung Cancer*, 24: 149-155 (1999).

11. Tanaka, T., Kawabata, K., Kakumoto, M., Makita, H., Ushida, J., Honjo, S., Hara, A., Tsuda, H. and Mori, H. Modifying effects of a flavonoid morin on azoxymethane-induced large bowel tumorigenesis in rats. *Carcinogenesis*, 20(8): 1477-1484 (1999).
 12. Tsuda, H., Sekine, K., Uehara, N., Takasuka, N., Moore, M. A., Konno, Y., Nakashita, K. and Degawa, M. Heterocyclic amine mixture carcinogenesis and its enhancement by caffeine in F344 rats. *Cancer Lett.*, 143: 229-234 (1999).
 13. Kawabata, K., Tanaka, T., Honjo, S., Kakumoto, M., Hara, A., Makita, H., Tatematsu, N., Ushida, J., Tsuda, H. and Mori, H. Chemopreventive effect of dietary flavonoid morin on chemically induced rat tongue carcinogenesis. *Int. J. Cancer*, 83: 381-386 (1999).
 14. Tsuda, H., Park, C. B., Takasuka, N., Toriyama-Baba, H., Sekine, K., Moore, M. A., Nomura, E. and Taniguchi, H. Influence of ethyl 3-(4'-geranyloxy-3'-methoxyphenyl)-2-propenoate(EGMP) on early stage colon carcinogenesis in rats treated with azoxymethane(AOM). *Anticancer Res.*, 19: 3779-3782 (1999).
 15. Kensler, T. W., Tsuda, H. and Wogan, G.N. United States-Japan workshop on new rodent models for the analysis and prevention of carcinogenesis. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 8: 1033-1037 (1999).
 16. Moore, M. A., Park, C. B. and Tsuda, H. European registry comparisons provide evidence of shared risk factors for renal, colon and gallbladder cancer development. *Eur. J. Cancer Prev.*, 8: 137-146 (1999).
 17. Moore, M. A., Kunitomo, T. and Tsuda, H. Country comparisons provide evidence of links between specific circulatory disease and gastric, rectal, prostate and breast cancers. *Eur. J. Cancer Prev.*, 8: 151-157 (1999).
 18. Asamoto, M., Ochiya, T., Toriyama-Baba, H., Ota, T., Sekiya, T., Terada, M. and Tsuda, H. Transgenic rats carrying human c-Ha-ras proto-oncogenes are highly susceptible to *N*-Methyl-*N*-nitrosourea mammary carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21(2): 243-249 (2000).
 19. Ota, T., Asamoto, M., Toriyama-Baba, H., Ochiya, T., Akaza, H., Sekiya, T., Terada, M. and Tsuda, H. Transgenic rats carrying copies of human c-Ha-ras proto-oncogene exhibit enhanced susceptibility to *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine bladder carcinogenesis. *Carcinogenesis*, in press. (2000).
2. 学会発表
 - 津田洋幸、ヒト正常型c-Ha-rasトランスジェニックラットの発がん感受性の特徴と遺伝子変異、第14回発癌病理研究会、軽井沢、(1999年)
 - 鳥山弘靖、山本扶美、内藤暁宏、落谷孝広、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の乳腺発がんにおける初期変化、第58回日本癌学会総会、広島、(1999年)
 - 内藤暁宏、鳥山一馬場弘靖、竹下文隆、朝元誠人、落谷孝広、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における自然発生腫瘍の頻度とras遺伝子の突然変異、第58回日本癌学会総会、広島、(1999年)
 - G. 知的所有権の取得状況
 1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし