

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

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

分担研究報告書（平成 12 年度）

食品中内分泌かく乱物質等の前立腺発がん修飾作用に関する実験的研究

分担研究者: 今井田克己 名古屋市立大学 医学部 第一病理学教室 助教授

研究要旨

我々の開発してきたラット前立腺がんモデルを用いて、内分泌かく乱化学物質の前立腺発がん過程における修飾作用の検討を行っている。即ち、前立腺発がん物質である 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB)を用いる前立腺発がんモデルで、Nonylphenol および Genistein の長期実験を行い、現在、前立腺を中心に、病理組織学的な詳細な検討を行っている。また、2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5-*b*]pyridine (PhIP)を用いるラット前立腺がんモデルを用いて、Atrazine による前立腺発がん過程での修飾作用を検討する長期動物実験が現在進行中である。

A. 研究目的

環境中に存在する内分泌かく乱化学物質の多くは性ホルモン様活性作用、すなわち女性ホルモン様活性を示したり、また男性ホルモン様活性を示すことが疑われている。さらに、その反対にそれぞれのホルモンに対して拮抗的に作用するものも存在することが明らかとなっており、このような物質によるヒトへの影響を検討する上で、ホルモン依存性がんに対する修飾作用を検討することはこれら化学物質のヒトへの安全性を検討する上で極めて重要であると考えられる。そこで、本研究では我々の教室で開発したラット前立腺がんモデルを用いて内分泌かく乱作用の疑われている化学物質を用いて、ラットの前立腺がんの発生過程でのこれら化学物質による修飾作用の有無を検討することをその目的としている。

B. 研究方法

1. Nonylphenol ならびに Genistein の修飾作用

我々の開発したラット前立腺がんモデルを用いて、内分泌かく乱作用が懸念されている Nonylphenol および genistein の前立腺がんの修飾作用を検討している。その実験デザインを図 1 に示す。6 週齢の F344 雄ラットを 7 群に分け、1～5 群には前立腺発がん物質である 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) を最初の 20 週間に体重 kg あたり 50mg の投与量で 2 週間に 1 回づつ合計 10 回皮下投与した。6、7 群は DMAB の溶媒のみを投与した。実験開始 20 週目より 2、3 群には Nonylphenol をそれぞれ 250、25 ppm の濃度で大豆成分の含まれない基礎食に混じて 40 週間投与した。同様に、4、5 群には 250、25 ppm の Genistein を、6、7 群には 250 ppm の Nonylphenol と Genistein をそれぞれ投与した。いずれの群も基礎食には大豆成分の含まれないものを用い、実験期間 60 週で屠殺剖検し、前立腺を中心にその腫瘍発生にこれらの物質が影響するかどうかの検討を行なった。

2. Atrazine の修飾作用

研究 1 の Nonylphenol および Genistein の実験で用いた DMAB の前立腺発がん実験系はラットの前立腺発がんに関しては優れた実験系であるが、前立腺腫瘍以外の神経系の腫瘍などが多発し、それが原因で死亡する動物も多く、十分な実験期間が確保されない問題点もあった。そこで、Atrazine の前立腺がん修飾作用の実験では発がん物質として DMAB ではなく、PhIP を用いることとし、100mg/kg 体重の PhIP を週 1 回づつ i.g. 投与し、20 週間の PhIP の投与後から、atrazine を 500、50、5 ppm の濃度で大豆成分の含まれない基礎食に混じて経口投与する実験系を用いて、動物実験は現在 進行中である (図 2)。

(倫理面への配慮)

本研究の開始にあたってはあらかじめその実験手技、倫理面での対応などを名古屋市立大学 医学部 動物実験委員会の承認を得ており、動物の飼育ならびに屠殺にあたっては動物への苦痛を極力避けるよう配慮に努めている。

C. 研究結果

1. Nonylphenol および Genistein の実験では、Nonylphenol 25 ppm 群で最終的に生存率が約 40%と低く、250 ppm 群での約 70%と生存率に関しては投与濃度に相反する結果となった。Genistein の群では生存率に特定の群に異常な値は見られなかった。屠殺時の最終体重、屠殺時の精巣及び肛門挙筋の相対臓器重量を表 1 に示した。精巣重量と肛門挙筋に統計学的に有意な差はみられず、また、血中の testosterone 値も各群で有意な差を認めなかったことから、今回の実験結果からは Nonylphenol と Genistein によるラットへの内分泌かく乱の影響は明らかではなかった。

表 3 には実験 40 週から 50 週の間死亡、あるいは瀕死の状態で屠殺したラット 6 匹の前立腺腫瘍性病変の結果を示した。腹葉前立腺に前がん病変と考えられる prostate intraductal neoplasia (PIN) が 6 例中 2 例に認められたものの、前立腺がんはみられなかった。また、精嚢には 6 例中 5 例に異形成 (dysplasia) を認めたが、がんの発生は認めなかった。現在、最終屠殺の前立腺病変の切り出し、ならびに臓器重量の測定と病理組織標本の作製を行っており、Nonylphenol および Genistein のラット前立腺がんの発生過程におよぼす影響については病理組織学的な詳細な検討を行ってから、最終的な判定を行なう予定である。

2. Atrazine の実験は現在 PhIP の投与中であり、PhIP 投与群が溶媒投与群より約 10%の体重減少が見られているが、これは予想範囲内の変化であり、実験は現在まで順調に経過している。Atrazine の投与は実験開始 20 週後より開始する予定である。

D. 考察

実験 1 において、内分泌かく乱作用が懸念されている Nonylphenol および Genistein 投与群では高濃度投与群、低濃度投与群のいずれも、精巣重量と肛門挙筋の体重当りの相対重量に影響は見られなかった。特に、肛門挙筋の重量は体内の estrogen レベルを反映するといわれているが、いずれの化学物質の投与による影響はなかった。さらに、血中の testosterone レベルも投与による影響は認めず (表 1)、Nonylphenol と Genistein 投与によるラットの内分泌かく乱作用は明らかではなかった。

今回の実験で、Nonylphenol の低濃度投与群である 25 ppm での生存率が実験終了時には約 40%と低く、その高濃度投与群である 250 ppm 投与群より生存率が低い結

果となった。死亡動物の多くは皮下の神経性腫瘍や Zymbal 腺腫瘍などの腫瘍による死亡が多く見られたが、なぜ、低用量群の方が生存率が低い結果となったのか現在までのところ明らかではない。この問題点を含め、最終的には病理組織学的検索結果を待って、考察したい。

E. 結論

現在、実験 1 では病理標本作成中であり、また、実験 2 では動物実験が進行中であるので、最終的な結論は現在までのところ得られていない。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Imaida, K., Ogawa, K., Takahashi, S., Ito, T., Yamaguchi, T., Totsuka, Y., Wakabayashi, K., Tanaka, K., Ito, N., Shirai, T.: Delay of DNA-adduct repair and severe toxicity in xeroderma pigmentosum group A gene (XPA) deficient mice treated with 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP). *Cancer Lett.*, 150: 63-69, 2000.

2. Yaono, M., Tamano, S., Mori, T., Kato, K., Imaida, K., Asamoto, M., Shirai, T.: Lobe specific effects of testosterone and estrogen on 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-induced rat prostate carcinogenesis. *Cancer Lett.*, 150: 33-40, 2000.

3. Shirai, T., Imaida, K., Ito, N.: Prostate. In: M. Nagao, T. Sugimura (eds.), *Food Born Carcinogenesis*, pp. 270-274. Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: John Wiley & Sons, Ltd, 2000.

4. Imaida, K., Shirai, T., Ito, N.: Degenerative Changes. In: M. Nagao, T. Sugimura (eds.), Food Born Carcinogenesis, pp. 275-284. Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: John Wiley & Sons, Ltd, 2000.

5. Ito, N., Imaida, K., Asamoto, M., Shirai, T.: Early detection of carcinogenic substances and modifiers in rats. Mutation Res., 462: 209-217, 2000.

6. Shirai, T., Takahashi, S., Cui, L., Futakuchi, M., Kato, K., Tamano, S., Imaida, K.: Experimental prostate carcinogenesis rodent models. Mutation Res., 462: 219-226, 2000.

7. Imaida, K., Hagiwara, A., Yoshino, H., Tamano, S., Sano, M., Futakuchi, M., Ogawa, K., Asamoto, M., Shirai, T.: Inhibitory effects of low doses of melatonin on induction of preneoplastic liver lesions in a medium-term liver bioassay in F344 rats: relation to the influence of electromagnetic near field exposure. Cancer Lett., 155: 105-114, 2000.

8. Takahashi, S., Ikeda, Y., Orita, S.-i., Sakakibara, M., Kimoto, N., Suzuki, S., Imaida, K., Shirai, T.: Enhancing effects of 2-amino-4,5-diphenylthiazole-induced polycystic kidneys on renal carcinogenesis in rats treated with dimethylnitrosamine. Toxicol. Appl. Pharmacol., 167: 12-17, 2000.

H. 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