

厚生科学研究費補助金（生活安全研究事業）

分担研究報告書

食品中内分泌かく乱物質等の卵巣発がん修飾作用に関する研究

分担研究者 田中 卓二 金沢医科大学教授

研究要旨

本分担研究では、環境中に存在する内分泌かく乱作用物質のうち nonylphenol (NP)とエストロゲン様作用を持つ植物性化合物 genistein (GS)の 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)誘発卵巣発がんに対する修飾効果を知る目的で実験を行った。動物実験は総計 145 匹の雌性 SD ラットを使用し、実験期間は 51 週とした。卵巣がんは DMBA (0.5%の濃度でオリーブ油に懸濁し、左卵巣内に 0.01 ml 注入)して誘発し、被験物質の NP、GS は DMBA 投与の 1 週間後から 50 週間、混餌投与し、その発がんおよび影響をみた。その結果、実験終了時の左卵巣腫瘍(腺癌)の発生頻度は、DMBA 250 ppm NP 群: 1/20 (5%)、DMBA 25 ppm NP 群: 1/20 (5%)、DMBA 250 ppm GS 群: 0/20 (0%)、DMBA 25 ppm GS 群: 1/20 (5%)、DMBA 群: 7/20 (35%)、250 ppm NP 群: 0/20 (0%)、250 ppm GS 群: 0/20 (0%)、無処置対照群: 0/20 (0%)と、DMBA 250 ppm NP 群、DMBA 25 ppm NP 群、DMBA 250 ppm GS 群、DMBA 25 ppm GS 群で DMBA 群に比べ有意に減少していた ($P<0.05$)。これらの結果から、NP、GS は DMBA 誘発ラット卵巣発がんに対して抑制的に働くことが判明した。

A.研究目的

本分担研究では、環境中に存在する内分泌かく乱作用物質のうち nonylphenol(NP)とエストロゲン様作用を持つ植物性化合物 genistein (GS)について

7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)誘発ラット卵巣発がんモデルで発がん修飾作用を検討した。

B.研究方法

動物実験は総計 145 匹の雌性 SD ラットを使用し、8 群に分けた。

実験群は第 1 群(20 匹): DMBA 250 ppm NP、第 2 群(20 匹): DMBA 25 ppm NP、第 3 群(20 匹): DMBA 250 ppm GS、第 4 群(20 匹): DMBA 25 ppm GS、第 5 群(20 匹): DMBA、第 6 群(15 匹): 250 ppm NP、第 7 群(15 匹): 250 ppm GS、第 8 群(15 匹): 無処置対照群の計 8 群である。卵巣がんは DMBA (0.5%の濃度でオリーブ油に懸濁し、左卵巣内に 0.01 ml 注入)して誘発し、被験物質の NP、GS は DMBA 投与の 1 週間後から 50 週間、混餌投与し、その発がんおよび影響をみた。(倫理面への配慮) 動

物実験に関しては当大学動物実験委員会に許可を得、実験にあたっては実験動物取り扱い規則を遵守した。

C. 研究成果

実験終了時の平均体重(±SD)は、DMBA 250 ppm NP 群 : 340 ± 35 g、DMBA 25 ppm NP 群 : 355 ± 50 g、DMBA 250 ppm GS 群 : 327 ± 44 g、DMBA 25 ppm GS 群 : 318 ± 33 g、DMBA 群 : 339 ± 42 g、250 ppm NP 群 : 340 ± 50 g、250 ppm GS 群 : 317 ± 29 g、無処置対照群 : 335 ± 17 g であり、250 ppm GS 群で無処置対照群に比べ有意な体重減少をみた (P<0.05)。平均肝重量(±SD)は、DMBA 250 ppm NP 群 : 12.0 ± 1.8 g、DMBA 25 ppm NP 群 : 12.4 ± 2.2 g、DMBA 250 ppm GS 群 : 12.2 ± 2.1 g、DMBA 25 ppm GS 群 : 11.1 ± 1.3 g、DMBA 群 : 12.2 ± 1.8 g、250 ppm NP 群 : 11.8 ± 2.6 g、250 ppm GS 群 : 11.4 ± 1.5 g、無処置対照群 : 10.9 ± 1.8 g で、各群間に有意な差はなかった。一方、卵巣重量(±SD)は、DMBA 250 ppm NP 群 : 154 ± 20 mg、DMBA 25 ppm NP 群 : 156 ± 28 mg、DMBA 250 ppm GS 群 : 149 ± 16 mg、DMBA 25 ppm GS 群 : 148 ± 16 mg、DMBA 群 : 145 ± 13 mg、250 ppm NP 群 : 163 ± 19 mg、250 ppm GS 群 : 157 ± 12 mg、無処置対照群 : 168 ± 15 mg で、250 ppm GS 群で無処置対照群に比べ有意な減少をみた (P<0.05)。子宮重量(±SD)は、DMBA 250 ppm NP 群 : 748 ± 88 mg、DMBA 25 ppm NP 群 : 774 ± 61 mg、DMBA 250 ppm GS 群 : 713 ± 51 mg、DMBA 25 ppm GS 群 : 633 ± 87 mg、

DMBA 群 : 740 ± 69 mg、250 ppm NP 群 : 741 ± 88 mg、250 ppm GS 群 : 691 ± 69 mg、無処置対照群 : 731 ± 97 mg と、DMBA 25 ppm GS 群で DMBA 群に比べ有意な減少をみた (P<0.05)。実験終了時の左卵巣腫瘍(腺がん)の発生頻度は、DMBA 250 ppm NP 群 : 1/20 (5%)、DMBA 25 ppm NP 群 : 1/20 (5%)、DMBA 250 ppm GS 群 : 0/20 (0%)、DMBA 25 ppm GS 群 : 1/20 (5%)、DMBA 群 : 7/20 (35%)、250 ppm NP 群 : 0/20 (0%)、250 ppm GS 群 : 0/20 (0%)、無処置対照群 : 0/20 (0%) と、DMBA 250 ppm NP 群、DMBA 25 ppm NP 群、DMBA 250 ppm GS 群、DMBA 25 ppm GS 群で DMBA 群に比べ有意に減少していた (P<0.05)。

D. 考察

これらの結果から、NP、GS は DMBA 誘発ラット卵巣発がんに対して抑制的に働くことが判明したが、その作用機構に関しては不明である。現在、誘発腫瘍のエストロゲン、プロゲステロン受容体の有無と細胞増殖能の変化を免疫染色で検討しているところである。また、このモデルを用いて農薬として使用されている atrazine とプラスチック可塑剤のフタル酸エステル (n-butyl benzyl phthalate) の発がん修飾効果を検討する動物実験が進行中である。加えて、老化マウスを利用した新しい卵巣発がんモデルでこれら内分泌かく乱作用物質の卵巣発がん修飾効果を検討する予定である。

E. 結論

環境中に存在する内分泌かく乱作用物質 NP、

GS は DMBA 誘発ラット卵巣発がんに対して抑制的に働くことが判明した。F. 健康危険情報 本実験を実施した分担研究者を含む実験者及び動物の飼育管理を行った当大学動物実験施設スタッフの健康面に問題はなかった。

G. 研究発表

1. 発表論文

Tanaka, T., Kawabata, K., et al., Chemopreventive effect of bovine lactoferrin on 4-nitroquinoline 1-oxide-induced tongue carcinogenesis in male F344 rats. *Jpn. J. Cancer Res.*, 91: 25-33, 2000. Tanaka, T., Kohno, H., et al., Prevention of colonic aberrant crypt foci by dietary feeding of garcinol in male F344 rats. *Carcinogenesis*, 21: 1183-1189, 2000. Tanaka, T., Kohno, H., et al., Suppression of azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats by Mandarin juices rich in b-cryptoxanthin and hesperidin. *Int J Cancer*, 88: 146-150, 2000. Kohno, H., Tanaka, T., et al., Modifying effect of tuna orbital oil rich in decosahexaenoic acid and vitamin D3 on azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Oncol. Reports*, 7: 1069-1074, 2000. Tanaka, T., Kohno, H., et al., Citrus limonoids obacunone and limonin inhibit azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *BioFactors*, 13: 213-218, 2000. Tanaka, T., Kohno, H., et al., Suppressing effects of dietary supplementation of the organoselenium 1,4-phenylenebis(methylene)selenocyanate

and the citrus antioxidant auraptene on lung metastasis of melanoma cells in mice. *Cancer Res.*, 60: 3713-3716, 2000. Tanaka, T., Maeda, M., et al., Inhibition of azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats by citrus limonoids, obacunone and limonin. *Carcinogenesis*, 22: 193-198, 2001. Tanaka, T., Shimizu, M., et al., Chemoprevention of azoxymethane-induced rat aberrant crypt foci by dietary zerumbone isolated from *Zingiber zerumbet*. *Life Sci.*, in press, 2001. Kohno, H., Tanaka, T., et al., Dietary administration of citrus nobiletin inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Life Sci.*, in press, 2001. Tanaka, T., Kohno, H., et al., Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor α and γ inhibit chemically-induced colitis and formation of aberrant crypt foci in rats. *Cancer Res.*, 61: in press, 2001. Kohno, H., Tanaka, T., et al., Troglitazone, a ligand for peroxisome proliferator-activated receptor γ inhibits chemically-induced aberrant crypt foci in rats. *Jpn. J. Cancer Res.*, 92: in press, 2001.

2. 学会発表

田中卓二、甲野裕之：ノニルフェノール (NP)、ゲニスタイン (GS) のラット卵巣発がんに対する修飾効果。第 90 回日本病理学会 (東京) 平成 13 年 4 月 5 - 7 日 (発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得 該当なし。

実用新案登録 該当なし。

その他 該当なし。