



Title	発癌耐性ラット肝における化学発癌物質代謝活性化能低下の機構
Author(s)	矢野, 雅彦
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36782
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	矢野 雅彦
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8961 号
学位授与の日付	平成 2 年 2 月 2 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	発癌耐性ラット肝における化学発癌物質代謝活性化能低下の機構
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞 (副査) 教授 坂本 幸哉 教授 谷口 直之

論文内容の要旨

(目 的)

化学発癌物質に対する感受性には、種差や性差、個体差のあることはよく知られている。これらの感受性の異なる 2 群間で、発癌物質の代謝その他の比較をすることにより、発癌感受性を決定する因子を解明しようとした研究は多いが、発癌感受性に無関係な因子も含まれるため、何が最も重要な因子であるかを特定することは困難である。最近、著者らの研究室では 3'-methyl-4-dimethyl-aminoazobenzene (3'-MeDAB) を含む複数の発癌物質に対し、親株であるドンリュウラットに比べ著しい発癌耐性を示す新しい系統のラット(発癌耐性ラット)の開発に成功した。本ラットは、親株と発癌感受性のみが異なることが期待されるため、発癌感受性を決定している機構を研究する上でよいモデルと考えられる。

本研究では、耐性ラット肝の発癌物質の代謝活性化能が、親株の発癌感受性ラット肝に比べて低下していることを示し、それがどのような機構によるものであるのかを検討した。

(方法ならびに成績)

予め 3-methylcholanthrene (3-MC) 20mg/kg を腹腔内注射した両群ラット肝より 9,000xg 遠沈上清 (S-9) を調製し、in vitro で NADH/NADPH generating system, PAPS generating system 存在下に [¹⁴C] でラベルした 3'-MeDAB または 2-acetylaminofluorene (2-AAF), および calf thymus DNA と 37℃ で 30 分間インキュベートし、Marmur の変法にしたがい DNA を抽出した。DNA に取り込まれた放射活性を測定することにより代謝活性化された発癌物質の DNA への共有結合量を計算し、代謝活性化能の指標とした。耐性ラットの肝 S-9 の発癌物質代謝活性化能は、感学性ラット肝 S-9 の約 1/2 であった。次に、S-9 をさらにミクロゾームとサイトゾールに分け、種々の組合せ

で反応を行なうことにより、いずれの画分がS-9でみられる差に寄与しているかを調べた結果、耐性ラットのミクロゾーム画分の活性化能が低いことが明かになった。そこで、ミクロゾームのいずれの酵素活性に差があるかを調べるため、各種薬物代謝酵素の阻害剤を反応液中加入し、その影響をみた。発癌物質のDNAへの共有結合は、一酸化炭素と3-MC誘導型 cytochrome P-450の阻害剤である7,8-benzoflavoneで非常に強く阻害をうけたが、phenobarbital誘導型 cytochrome P-450の阻害剤であるmetyraponeやflavin含有 monooxygenaseの阻害剤である α -naphthylthioureaでは、ほとんど阻害されなかった。以上より、耐性ラット肝の発癌物質代謝活性化能の低下は、ミクロゾームの3-MC誘導型 cytochrome P-450の誘導性の低下によるものと思われた。3-MC誘導型 cytochrome P-450のひとつである cytochrome P-450d の cDNA probeを用いて、3-MC処理した両群ラットの肝よりRNAを調製し、Northern blotを行なった。耐性ラットでは、cytochrome P-450dの発現が mRNA レベルで低下していることがわかった。3-MC誘導型 cytochrome P-450の誘導は、肝サイトゾールに存在する Ah レセプターがインデューサーと結合した後、核に移行結合し、遺伝子の転写が促進されておこると考えられている。そこで、両群ラット肝サイトゾール中の Ah レセプターを hydroxyapatite binding assay 法により測定したところ、耐性ラットでは、感受性ラットと比較し、Ah レセプター量は約 $\frac{1}{2}$ であった。

(総括)

- 1) 発癌耐性ラット肝の発癌物質代謝活性化能を、in vitro DNA covalent binding assay を用いて検討した。
- 2) 耐性ラット肝S-9の3'-MeDAB, 2-AAF代謝活性化能は、感受性ラット肝S-9の約 $\frac{1}{2}$ であった。
- 3) 耐性ラット肝の発癌物質代謝活性化能低下の原因は、ミクロゾームの3-MC誘導型 cytochrome P-450の mRNA レベルでの誘導性の低下によると思われた。
- 4) 耐性ラットでは、肝サイトゾール中の Ah レセプター量が、感受性ラットの半分以上に減少しており、これが3-MC誘導型 cytochrome P-450誘導性低下の原因ではないかと考えられた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、化学発癌物質に対する発癌感受性が遺伝的に著しく低下したラットを開発し、本ラットにおける発癌耐性のメカニズムを主として肝での化学発癌物質の代謝の面より検討したものである。

本ラットの肝においては発癌物質の代謝活性化能が低下しており、その原因として代謝活性化に関与する酵素の1つであるメチルコラントレン誘導型シトクロムP-450の誘導性の低下、及び本酵素の誘導を媒介する Ah レセプター量の減少が明らかにされた。

これらの知見は、将来ヒトの発癌感受性の個体差のメカニズムの研究や、発癌の予防、治療にも応用できる可能性があり、医学博士の学位を授与するに値するものと思われる。