



Title	遺伝的発癌抵抗性ラットにおける3'-methy 1-4-dimethy laminoazobenzene の肝発癌作用に対する抵抗性の成立機構
Author(s)	増田, 茂樹
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37123">https://hdl.handle.net/11094/37123</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> 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)	ます 増	た 田	しげ 茂	き 樹
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 0 7 8		号
学位授与の日付	平 成 2 年 3 月 2 4 日			
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻			
	学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	遺伝的発癌抵抗性ラットにおける 3'-methy 1-4-dimethylamino-azobenzene の肝発癌作用に対する抵抗性の成立機構			
論文審査委員	(主査) 教 授	坂本 幸哉		
	(副査) 教 授	田川 邦夫	教 授	谷口 直之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

我々の研究室では、Donryu系ラット（発癌感受性ラット）から、3'-CH<sub>3</sub>-DAB の肝発癌作用に対し著しい抵抗性を示すラット（発癌抵抗性ラット）を樹立した。発癌感受性ラットと発癌抵抗性ラットを発癌剤の代謝の面から比較する事により、発癌抵抗性の成立機構を解明することを試みた。

### 〔方法ならびに成績〕

3'-CH<sub>3</sub>-DAB, 3'-hydroxymethyl-4-dimethylaminoazobenzene (3'-CH<sub>2</sub>OH-DAB), 4-dimethylaminoazobenzene (DAB), 2-acetylaminofluorene (2-AAF) を各々, 0.06%, 0.064%, 0.057%, 0.06%含有する食餌を, 両群雄ラットに4週令より各々, 20, 15, 60, 16週間投与し, 肝癌の発生の有無を肉眼的に検索した。また, 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) を, 両群雌ラットに7週令と8週令時に, それぞれ 66.7 mg 胃内に注入し, 基本食で18週間飼育した後, 乳癌の発生の有無を同様にして調べた。何れの発癌剤投与でも, 発癌抵抗性ラットでは癌の発生が著しく抑制されており, このラットは3'-CH<sub>3</sub>-DAB以外の肝発癌剤, 肝以外の臓器を標的とする発癌剤に対しても, 抵抗性を示すことが認められた。サルモネラ菌を用いた変異原性試験により, 発癌感受性, 発癌抵抗性ラット肝での発癌剤代謝活性化に差がある事が推測されたので, 肝 9,000xg 遠沈上清 (S-9) を用いたin vitro の反応系で生成される, 3'-CH<sub>3</sub>-DAB の代謝産物の定量分析を行った。3'-CH<sub>3</sub>-DAB を両群の S-9 画分を用い, NAD(P)H-generating system存在下で代謝させ, 代謝産物をn-butanol, diethyl

ether で抽出し、HPLC、TLC により分離分析を行った。主活性化の第一段階であるN-脱メチル化反応 ( $3' - \text{CH}_3 - \text{MAB}$  の生成) には、両群ラットの間で差は認められなかった。発癌抵抗性ラット標品による、 $3' -$ メチル基の酸化 ( $3' - \text{CH}_2\text{OH} - \text{DAB} + 3' - \text{COOH} - \text{DAB}$  の生成) は、基本食飼育時でも、発癌感受性ラットより低く、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  含有食飼育時には、この差が拡大した。また、 $3' -$ メチル基の酸化が7, 8-benzoflavone の反応系への添加により阻害されることから、この反応に3-methylcholanthrene (3-MC) 誘導性 cytochrome P-450 が関与していると考えられる。また、発癌抵抗性ラット肝で、この型の cytochrome P-450 含有量の減少が推測された。一方、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の主解毒化反応であるアゾ基還元活性には、発癌感受性、発癌抵抗性ラット肝の間で差がなかった。活性化の第二段階であるN-水酸化 ( $3' - \text{CH}_3 - \text{MAB}$  からの  $3' - \text{CH}_3 - \text{MAB} - \text{N} - \text{OH}$  の生成) は、flavin-containing monooxygenase (FMO) が行うとされているが、FMO 活性には両群ラット肝に差は認められなかった。 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の活性化の最終段階は、 $3' - \text{CH}_3 - \text{MAB} - \text{N} - \text{OH}$  の硫酸抱合であり、sulfotransferase (ST) が触媒していると報告されている。ST分子種のうち、2-AAF の活性化に関与するaryl ST (AST) IVと、DMBA の活性化に関与するhydroxysteroid ST (HSST) 活性を、発癌感受性、発癌抵抗性ラット肝サイトソル画分を用い測定した。AST 活性には差が見られなかったが、HSST活性は発癌抵抗性ラットで著しく低下していた。両ST活性を肝S-9画分を用い、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  とNAD(P)H-generating system 存在下で測定すると、HSST のみが阻害を受け、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の活性化にはASTではなく、HSST の関与が推測される。発癌剤の解毒にはglutathione-S-transferase (GST) および、UDP-glucuronosyltransferase (UDP-GT) も寄与し、各々には、幾つもの分子種が存在する。そこでGST 活性を9種の基質、6種の阻害剤を用いて測定したが、1, 2-epoxy-3-(p-nitrophenoxy)-propane を特異的な基質とするGST 分子種の増加が、発癌抵抗性ラットにおいて認められた。この分子種はGST5-5と推定される。一方、UDP-GT 活性の測定には、異なった分子種に対し特異的な基質である、4-nitrophenol (4NP) と2-aminophenol (2AP) を用いた。発癌抵抗性ラット肝ミクロソーム画分では2APに対するUDP-GT 活性のみが上昇していた。また、ミクロソーム画分を用いた $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  代謝系に4NP または2AP を添加すると、2AP の場合のみ、 $\beta$ -glucuronidase感受性 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  代謝産物の生成が阻害され、2AP 特異性UDP-GTが、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の解毒代謝に関与していると考えられた。

#### [総 括]

- 1) 発癌抵抗性ラット肝で3-MC誘導性 cytochrome P-450含有量減少による、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の $3' -$ メチル基の酸化能の低下が認められた。
- 2) 発癌抵抗性ラット肝サイトソルでは $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の活性化に関与すると思われるHSST 活性が低下していた。
- 3) 発癌抵抗性ラット肝サイトソルでは1, 2-epoxy-3-(P-nitrophenoxy)-propaneを特異的な基質とする、GST 分子種5-5の増加が示唆された。

4)  $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の解毒代謝への関与が推測される 2AP 特異性 UDP-GT の増加が認められた。これらの複数の要因が、発癌抵抗性ラットの発癌抵抗性の成立に寄与しているのではないかと考えている。

## 論文の審査結果の要旨

近年、我々の研究室では呑龍系ラットより、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  の肝発癌作用に対し遺伝的に抵抗性を示すラット、発癌抵抗性ラットを樹立することに成功した。

このラットは、 $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  だけではなく  $3' - \text{CH}_2\text{OH} - \text{DAB}$ , DAB, 2-AAF 等の肝発癌剤や、乳腺に対する発癌剤 DMBA 等、構造が異なり、又、標的臓器の異なった発癌剤に対しても発癌抵抗性を示した。

本研究では、この動物の発癌抵抗性を解明することにより、発癌機構、及、発癌の抑制を解明する目的で、特に発癌剤代謝の偏倚を中心に検討した。

発癌抵抗性ラット肝では、1) 3-MC-inducible cytochrome P-450 活性低下による発癌剤活性化の低下、2) GST 5-5 活性上昇による解毒化の亢進、3) UDP-GT 活性上昇による  $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  解毒代謝の亢進、4) HSST 活性化低下による  $3' - \text{CH}_3 - \text{DAB}$  活性化の低下が示唆される結果を得た。

これらの結果は、ラットにおける発癌抵抗性の獲得にとって非常に有利な状況であると考えられ、化学物質による発癌を抑制する可能性を明らかにしたものとして博士論文に値するものと認められた。