

医研第351号


(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Effects of synthetic and natural *in vivo* inhibitors of  
 $\beta$ -glucuronidase on azoxymethane-induced  
colon carcinogenesis in rats

(アゾキシメタン誘発ラット大腸発癌モデルにおける合成および天然由来  
 $\beta$ -glucuronidase 阻害剤の効果 )

氏名 林田奈苗 

## 論 文 要 旨

【背景・目的】発癌性物質などの有害物質は主に肝臓でのグルクロン酸抱合により無毒化され、腸管を経て体外へ排泄される。しかし、種々の臓器や腸内細菌内の $\beta$ -glucuronidase ( $\beta$ -G) はグルクロン酸抱合を脱抱合することにより、発癌性物質の再活性化を誘導する可能性がある。このため、 $\beta$ -G阻害剤はグルコニド結合の加水分解を阻害することにより、癌の発生を予防しうる可能性がある。今回 $\beta$ -G阻害剤 D-glucaro-1,4-lactone の合成前駆物質である aceglatone (ACE) と天然性前駆物質である D-glucurono- $\gamma$ -lactone (GL) の修飾効果を、AOM誘発ラット大腸癌モデルを用いて検討した。

【方法】(1)短期実験：4週齢雄 F344 ラットを3つのグループに分けた。G1のラットに基本食、G2とG3はそれぞれ、0.5%と2%のACEをその後5週間投与した。実験開始1, 2, 3週目にすべてのラットに azoxymethane(AOM, 15mg/kg) の皮下注射を行い大腸癌の前癌病変である aberrant crypt foci (ACF) を誘発させた。5週目に屠殺

し、摘出した大腸を10%ホルマリンで固定し0.5% methylene blue 染色後、ACFのカウントを行った。(2)長期実験：4週齢の雄F344ラットを8つのグループに分け、G1～7のラットは実験開始1,2,3週目にAOM(15mg/kg)を皮下注射した。G2、G3は2%と0.5%のACEを最後のAOMの注射の1週間後から実験終了まで継続した(後期投与群)。G4、G5は2%と0.5%のGLを実験開始1週目から5週目まで投与した(初期投与群)。G6、G7は2%と0.5%のGLをAOMの注射の1週間後から実験終了まで継続した(後期投与群)。G8は非治療群とした。36週目にすべてのラットを屠殺し、大腸発癌の病理学的検討およびPCNA染色による細胞増殖能の検索を行った。

【結果】短期実験の結果、ACE投与群はAOM単独投与群と比較しACFの形成を有意に減少させ、ACE 0.5%投与群では48.6%、ACE 2%投与群では55.3%の抑制率であった。長期実験では、GL初期投与群は大腸腫瘍発生に有意な差は認めなかった。一方、ACE投与群は腫瘍




発生を 0.5 % 後期投与群で 70 %、2 % 後期投与群では 80 % 抑制した。GL では、2 % 後期投与群のみが 70 % の抑制率を示した。PCNA 陽性率は 0.5%GL 後期投与群以外のすべての群において有意な減少を示した。

【考察】大腸癌前癌病変のバイオマーカーとされる ACF は大腸腫瘍発生に密接に関係していると考えられており、多くの化学予防剤の評価に利用されている。本実験系においても ACE は ACF 形成の抑制を来たし、 $\beta$ -G 阻害剤が化学予防剤の候補として示唆された。また、我々が以前に行った実験では 0.5 % および 2 % ACE の初期投与群は、腫瘍発生率の減少傾向を示したものの有意な差は認めなかった。しかし今回の長期実験で ACE 後期投与は有意に腫瘍を抑制し、さらに GL 投与群においても同様に、後期投与群で有意に抑制した。以上より、ACE と GL は発癌剤投与時同時投与より発癌剤投与後の投与で抑制効果を示しており、 $\beta$ -G 阻害剤が細胞増殖活性を抑制し腫瘍発生を抑制したと考えられた。また  $\beta$ -G 阻

害剤の前駆物質である D-glucaro-1,4-lactone、ACE、GLは $\beta$ -G阻害以外に細胞増殖の抑制やアポトーシス誘導が報告されており、多様なメカニズムで化学予防の効果を示していると考えられる。

【結語】 $\beta$ -G阻害剤は、ラット化学発癌モデルでの前癌病変と大腸腫瘍抑制を示し、がん化学予防剤の新たな候補として考えられた。

## 論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * <del>論文博</del> 第351号	氏名	森田 奈苗
論文審査委員	審査日	平成22年1月6日	
	主査教授	青木 浩一 	
	副査教授	荻谷 研一 	
	副査教授	松崎 昌洋 	
(論文題目)			
<p>Effects of synthetic and natural <i>in vivo</i> inhibitors of  <math>\beta</math>-glucuronidase on azoxymethane-induced  colon carcinogenesis in rats</p>			
(論文審査結果の要旨)			
<p>上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p>			
<p>1. 研究の背景と目的</p> <p>発癌性物質などの有害物質は、解毒第二相として主に肝臓でのグルクロン酸抱合により無毒化され、腸管を経て体外へ排泄される。しかし、種々の臓器や腸内細菌内の<math>\beta</math>-glucuronidase (<math>\beta</math>-G)はグルクロン酸抱合を脱抱合することにより、発癌性物質の再活性化を誘導する可能性がある。このため、<math>\beta</math>-G阻害剤はグルコロニド結合の加水分解を阻害することにより、癌の発生を予防しうると考えられ、実際に膀胱腫瘍の再発予防薬として市販されている。今回<math>\beta</math>-G阻害剤 D-glucaro-1,4-lactone の合成前駆物質である aceglatone (ACE)と天然性前駆物質である D-glucurono-<math>\gamma</math>-lactone (GL)の修飾効果を、AOM誘発ラット大腸癌モデルを用いて検討した。</p>			
<p>2. 研究内容</p> <p>短期実験として0.5%および2% ACEをAOM誘発ラット大腸癌モデルに投与し、大腸前癌病変であるACFに対する抑制効果を検討した。さらに長期実験として、短期実験と同濃度のACEとGLを初期投与群と後期投与群に分けて投与し大腸発癌に対する抑制効果と、大腸粘膜における細胞増殖活性PCNA labeling index (PLI)に対する影響を検討した。</p> <p>その結果、ACE投与群はAOM単独投与群と比較しACFの形成を有意に</p>			

減少させ、ACE 0.5%投与群では48.6%、ACE 2%投与群では55.3%の抑制率であった。長期実験では、GL 初期投与群は大腸腫瘍発生に有意な差は認めなかった。一方、ACE 投与群は腫瘍発生を0.5%後期投与群で70%、2%後期投与群では80%抑制し、GL 投与群では、2%後期投与群のみが70%の抑制率を示した。PCNA 陽性率は0.5%GL 後期投与群を除くすべての群において有意な減少を示した。以上より、ACE および GL は、大腸癌に対するがん化学予防剤の新たな候補として考えられ、その作用機序として細胞増殖活性の抑制が示唆された。

### 3. 研究結果の意義と学術水準

ACE および GL を用いた動物大腸発癌モデルに対する初期投与と後期投与での抑制効果を検討した研究は過去になく、本研究が初めての報告である。本研究で示唆された細胞増殖活性の抑制についての詳しいプロセスについては解明には至っていないものの、がん予防の観点から、大腸癌発生に対する予防物質の候補としての新たな知見を示し、またその抑制メカニズムの一端として、細胞増殖抑制の関与を明らかにしたことは国際的にも評価されるものであると判断した。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。

- 備 考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。