

## 2) 非遺伝毒性発がん物質の発がん性

phenobarbital (PB)は変異原性陰性の肝発がん物質、あるいは発がんプロモーターである。6週齢の雄性ラットを用いて、ラット肝中期発がん性検索法(伊東法)にて低用量発がん性を検討した。PBは60~500ppmではGST-P陽性細胞巢の発生を用量に相関して増加させたが、1~7.5ppmの低用量域では対照群のそれより減少し(U字型曲線)、PBの発がんには無作用量が存在することが明らかになった。さらに、NDEA→PBのラット長期二段階発がん実験において、2ppm PB群では肝がんの発生がNDEA単独群に比し有意に抑制された。PBの低用量域では肝におけるCYP3A2の発現低下、8-OHdGの減少、ならびにOGG1の増加が認められた。このようなGST-P陽性細胞巢発生に対する反応曲線は他の非遺伝毒性発がん物質であるDDTや $\alpha$ -BHCにおいても認められた。しかし、dieldrinやsafroleの発がん曲線はこれと異なり、無作用量を有する通常のS字状曲線であった。以上、非遺伝毒性発がん物質には無作用量が存在することが証明された。

低用量の環境発がん物質に対する生体の反応は高用量とは明らかに異なる。遺伝毒性発がん物質の場合、種々のマーカーの反応曲線から発がん物質には實際上、無作用量が存在することが判明した。また非遺伝毒性発がん物質の低用量では発がんが逆に抑制されるというホルミシス現象の存在が示され、無作用量が明らかに存在することが判明した。今後、どのような非遺伝毒性発がん物質にホルミシス現象が認められるかを体系化する必要がある。ホルミシスは生体の適応現象の一つであると考えられ、発がん物質と生体防御機構とのバランスを検討することが今後の課題である。すなわち、吸収、代謝活性化、解毒、排泄、蓄積などの発がん物質の生体内運命、またDNAとの結合能、DNA損傷・修復と修飾、さらにはアポトーシスとの関連を追究する必要がある。

### 「環境中の前立腺ならびに肝発がん物質の 検出モデルとしてのトランスジェニックラットの確立」 名古屋市立大学医学部 白井 智之

#### 1) 前立腺発がんトランスジェニックラットの作製とその応用

日本でも近年増加傾向が著しい前立腺癌の原因、悪性化要因、治療法、予防法は充分には確立されていない。化学発がん物質を用いたラット実験モデルは一年以上の期間が必要など、モデルとしての有用性はあるものの、短所もある。またすでにトランスジェニックマウスに前立腺癌モデルが存在するが、ラットの方が個体が大きく、充分な組織材料が得られることと、化学発がん物質などによる豊富な蓄積されたデータが存在することから、ラットの前立腺発がんトランスジェニックモデルの作成を試みた。RBおよびp53遺伝子を機能的に不活化し、多くの臓器で発がん作用があることが知られているSV40 T抗原を前立腺組織で特異的に発現させるため

に、probasin の遺伝子をプロモーターとして、SV40 T 抗原遺伝子を Sprague-Dawley ラットの受精卵の雄性前核に微小注入した。その結果、対立遺伝子の一方に遺伝子が導入されたトランスジェニックラットを得た。このラットは 5 週令頃から前立腺（腹葉、側葉、背葉、前葉）に異型上皮からなる増殖病変が広範囲にみられるようになり、15 週令では全例に腺癌の発生を認めた。高濃度のテストステロンを投与すると前立腺癌の発育は高度に促進されることが判明したが、前立腺外への浸潤は認められていない。またテストステロン投与後あるいは非投与ラットを去勢すると、速やかに癌組織の全体にアポトーシスによる腫瘍組織の退縮が発生し、3 週間後には腫瘍は全く消失し、この腫瘍がアンドロゲン依存性であることが判明した。退縮過程では androgen receptor の発現や SV40T 抗原の発現が早期に激減すること、それとは逆に TRPM-2, MMP7, Caspase 3, Caspase 6, BAX, Bcl-x 遺伝子の発現が上昇することを認めた。このトランスジェニックラットに前立腺発がん物質である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB), N-methylnitrosourea (MNU) をそれぞれ短期間に投与したが、前立腺癌の発生進展は認めなかった。現在欧米で多い臨床型前立腺癌に関与していると推察される食事性 PhIP の長期連続投与を行い、ラット前立腺癌発生に対する修飾作用を検討中である。

## 2) 肝発がん修飾物質検出に有用な遺伝子導入ラットの開発

個体レベルでの細胞間連絡能低下は発がん過程で観察される事象であり、また肝発がんプロモーターの投与により細胞間連絡能が低下するとのデータもある。我々は細胞間連絡能と発がん感受性の関連を検索するために、アルブミンプロモーター制御下にドミナントネガティブ変異コネクシン 32 遺伝子を連結したものを導入し、肝の細胞間連絡能が低下しているトランスジェニックラット (Tg) を作製した。8 週令雄 Tg および野生型 SD ラット (W) に肝発がん物質である N-diethylnitrosamine 200 mg/kg を腹腔内投与し 20 週後に屠殺剖検し、肝の前癌病変マーカーである GST-P 陽性細胞巢の単位面積あたりの数及び面積を計測したところ、数と面積のいずれも著明に上昇し、肝発がん感受性が亢進していることが判明した。無処置の Tg と W の肝における遺伝子発現の差異を cDNA アレイ、RT-PCR、Western blotting で検索すると CYP 1A1, 1A2 の発現上昇が Tg で認められた。以上より、細胞間連絡能の低下は従来より言われているプロモーション作用の他に、CYP の活性を変化させイニシエーション作用にも影響を与えて肝発癌感受性を亢進していることが明らかとなった。この変異コネクシン 32 トランスジェニックラットは肝発がん物質高感受性であり、環境中に存在する微量な肝発がん物質の検出に有用な実験系となることが考えられる。