

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第5分野

健康保持増進・予防医薬品の開発に関する研究

目 次

課題番号

51001	バイオテクノロジーを応用した食品中の微量遺伝子探査技術の開発	武田 直和	……	1
51002	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦 善治	……	6
51022	慢性肝炎から肝癌発生に到る遺伝子変異に関する臨床研究	宮田 正彦	……	9
51036	細胞のプログラム死に立脚した炎症性骨吸収の予防	小関 健由	……	20
51042	粘膜ワクチンの開発に関する研究	田村 慎一	……	24
51083	ワクチン創製の新テクノロジーとこれに基づく新世代フラビウイルスワクチンの開発	小島 朝人	……	33
51122	核内受容体PPAR反応性遺伝子の同定と糖尿病・高脂血症治療薬の開発	片山 茂裕	……	39
51132	上皮がん発生と抑制の分子機構の解析	桃井 隆	……	43
51138	粘膜ワクチン開発に関する研究、特に粘膜免疫応答を誘導する安全なアジュバントの研究	後藤 紀久	……	56
51161	免疫因子の迅速及び低侵襲診断技術の開発と母子移行免疫因子の解析への応用	廣田 晃一	……	63
51172	リポソームを用いた、アレルギー反応を惹起しにくいワクチンの開発に関する研究	内田 哲也	……	70
51176	エネルギー代謝を介した代謝性疾患治療薬創出に関する研究	大坂 寿雅	……	78
51198	免疫増強性オリゴDNA配列を組み込んだ抗結核DNAワクチンの開発と評価技術の確立	山本 三郎	……	82
51213	動物血清レクチンによるウイルス感染防止薬の開発	若宮 伸隆	……	87
51221	口腔病原微生物叢から健全な口腔細菌叢への移行手段の開発	花田 信弘	……	97
51246	新規制御因子を標的とした高脂血症・動脈硬化症予防・治療薬の開発に関する基礎的研究	最上 知子	……	104
51255	薬用植物の開発研究	佐竹 元吉	……	113
51270	高齢化社会に向けた歯周疾患対策：特に成人性歯周炎に関する基礎研究と薬物開発への応用	配島 由二	……	126
51276	薬用植物の種に特異的な機能の分子生物学的解析	柴田 敏郎	……	136
51277	植物バイオテクノロジーによる次世代薬用資源の開発に関する研究	下村講一郎	……	142
52260	発ガン抑制・転移抑制薬の開発のための研究	西川 秋佳	……	155

添付NO

20000993A

発ガン抑制・転移抑制薬の開発のための研究

所 属 国立医薬品食品衛生研究所 病理部
研究者 西川 秋佳

分担研究者

金沢医科大学第一病理 田中卓二

要旨： 蜜柑ジュース製造工程で得られるnobiletin、ニガシヨウガ成分のzerumbone、インド産熱帯果樹果皮中に存在するgarcinolはラット大腸発がんを抑制し、その機構として細胞増殖活性の制御、解毒酵素の誘導ないしCOX-2やiNOS発現抑制が考えられた。また、アロエ凍結乾燥粉末はイニシエーション期において、COX-2阻害剤はポストイニシエーション期においてハムスター膀胱発がんを抑制した。

1. 研究目的

新たな発がん抑制物質、転移抑制物質を見出す目的で、温州蜜柑ジュース製造工程で得られるワールドプレスオイルから主成分の*d*-limoneneを除去した精油中から得られたpolymethoxyflavonoidで抗炎症生作用を有するnobiletin、東南アジアで抗炎症薬として利用されているニガシヨウガ (*Zinger zerumbone* Smith)の根茎の活性本体であるzerumbone、インド産熱帯果樹 *Garcinia indica*の乾燥果皮中に存在し抗酸化作用を有するポリイソプレニル化ベンゾフェノンの1種garcinolについて、azoxymethane (AOM)誘発大腸がん前駆病変 (ACF) 発生への影響を検討し、大腸発がん修飾効果を予測した。また、天然アロエ粉末摂取の膀胱発がんに及ぼす影響を検討するとともに、がん予防機構を追究するためcyclooxygenase-2 (COX-2)阻害効果を膀胱および胃発がんモデルにおいて検討した。

2. 研究方法

(実験1) 雄性 F344 ラット (4週齢) 36匹を使用し、5群に分けた。第1群 (8匹) はAOM (15 mg/kg 体重) を週1回、計3回、皮下注射、第2群 (8匹) はAOM+0.01% nobiletin (AOM投与の1週間前より、5週間混餌投与)、第3群 (8匹) はAOM+0.05% nobiletin、第4群 (6匹) は0.05% nobiletinを5週間混餌投与、第5群 (6匹) は無処置対照群とした。ACFは実験開始後5週でラットを犠牲死させ測定した。同時に、ACFと周囲大腸粘膜の細胞増殖活性をMIB-5の標識率で免疫組織化学的に測定し、また大腸粘膜PGE₂量の測定 (各群3匹) を行った。

(実験2) 雄性 F344 ラット (4週齢) を用い、AOM (15 mg/kg 体重) を週1回、計3回皮下注射してACFを誘発した。Zerumboneは0.01%、0.05%の濃度でAOM投与の1週間前より5週間混餌投与し、大腸ACFの頻度は実験開始後5週で測定した。同時に、大腸粘膜細胞増殖活性をAgNORs数で測定し、さらに肝、大腸粘膜のGST、QR活性の測定、PGE₂、PGD₂量の測定も行った。また、大腸粘膜のCOX-2発現をみた。

(実験3) 雄性 F344 ラット (4週齢) を使用し、5群に分けて以下の処置を行った。第1群 (8匹) はAOMを週1回、計3回、皮下注射、第2群 (8匹) はAOM+0.01% garcinol、第3群 (9匹) はAOM+0.05% garcinol、第4群 (4匹) は0.05% garcinolを5週間混餌投与、第5群 (4匹) は無処置対照群とした。GarcinolはAOM投与の1週間前より、5週間混餌投与し、ACFは実験開始後5週でラットを犠牲死させ測定した。同時に、ACFと周囲大腸粘膜の細胞増殖活性をPCNAの標識率で免疫組織化学的に測定し、また肝のGST、QR活性の測定も行った。加えて、RAW264.7細胞でLPSとIFN- γ で誘導したCOX-2やiNOSの発現に対するgarcinolの影響をみた。

(実験4) 5週齢の雌性シリアンハムスターを3群に分け、*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) を10 mg/kgの用量にて一週間隔で4回反復皮下投与した。それと同時に凍結乾燥したキダチアロエの粉末を0% (第1群)、1.0% (第2群) およびの5.0% (第3群) の用量で5週間混餌投与し、以後基礎食 (MF粉末、オリエンタル酵母) にて54週間飼育した (Fig. 1)。剖検により、膀胱を中心に腫瘍性病変の発生状況を病理組織学的に検索した。また、BOPによるDNA障害の指標として、膀胱上

皮における O⁶-methyl deoxyguanosine (O⁶-metdG)の生成を免疫組織化学的に検出し、アロエ投与の影響を検討した。

(実験5) 5週齢の雄性シリアンハムスターを5群に分け、第1~3群にはBOPを10 mg/kgの用量にて一週間隔で4回反復皮下投与した後、COX-2阻害剤 nimesulide を0% (第1群)、0.01% (第2群) および0.04% (第3群) の用量で35週間混餌投与した。剖検により、膵臓を中心に腫瘍性病変の発生状況を病理組織学的に検索した。

(実験6) 5週齢の雄性 Wistar 系ラットを5群に分け、第1~3群に胃発がんのイニシエーション処置として *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG)を0.01%の濃度で飲水投与すると同時に5%食塩を8週間混餌投与した。その後、nimesulide を0% (第1群)、0.01% (第2群) および0.04% (第3群) の用量で、57週間混餌投与した。第4群にはMNNG処置をせずに0.04%のnimesulideのみを与え、第5群は無処置対照群とした。

3. 研究成果

(実験1) ACFの発生は、AOM群: 139±35、AOM+0.01% nobiletin群: 70±15 ($P<0.001$)、AOM+0.05% nobiletin群: 63±10 ($P<0.001$) と nobiletinの混餌投与でACFの発生を有意に抑制した (Table 1)。一方、ACFにおけるMIB-5標識率も nobiletinの混餌投与で有意に減少した (Table 2)。PGE₂は低用量 nobiletin投与で有意に低下していた。

(実験2) 大腸ACFの頻度は、AOM群が84±13であったのに対して、AOM+0.01% zerumbone群で72±17、AOM+0.05% zerumbone群で45±18とAOM+0.05% zerumbone群で有意に減少していた ($P<0.001$) (Table 3)。大腸腺窩上皮細胞核のAgNORs数と大腸粘膜のPGE₂量は両用量群で有意に低下していたが、PGD₂量はzerumboneの高用量群でのみ有意な低下をみた (Table 4)。肝GST、QR活性はzerumboneの高用量投与により有意に上昇していたが、大腸粘膜GST、QR値はzerumboneのいずれの用量でも有意に上昇していた (Table 5)。また、COX-2発現も両用量とも有意に低かった。

(実験3) 大腸ACFの頻度は、AOM群が97±15であったのに対して、AOM+0.01% garcinol群で72±16、AOM+0.05% garcinol群で58±8とgarcinolのいずれの用量投与でも有意に減少していた ($P<0.01$) (Table 6)。ACFと非病変部大腸腺窩上皮細胞核のPCNA標識率も同様に両用量群で有意に低下していた (Table 7)。肝のQR活性はgarcinolの高用量投与により有意に上昇していた (Table 8)。RAW 264.7細胞にLPSとINF- γ で誘導したCOX-2やiNOSも有意に低下した。

(実験4) 膵腺癌の発生頻度は、第1, 2および3群でそれぞれ86.6%、56.6%および58.6%であり (Fig. 2)、第1群に比較して第2および3群で有意 ($P<0.05$) に減少した。膵腺癌の動物当たりの平均個数 (多発性) は、第1, 2および3群でそれぞれ1.2、0.8および0.7であり (Fig. 3)、第1群に比較して第2および3群で有意 ($P<0.05$ および 0.01) に減少した。膵管異形成の発生頻度は、第1, 2および3群でそれぞれ56.6%、43.3%および27.5%であり (Fig. 2)、第1群に比較して第3群で有意 ($P<0.05$) に減少した。膵管異形成の多発性は、第1, 2および3群でそれぞれ0.8、0.7および0.3であり (Fig. 3)、第1群に比較して第3群で有意 ($P<0.05$) に減少した。BOP投与によって膵管上皮細胞に生成したO⁶-metdGは、アロエの用量に相関して減少し、第1群に比較して第3群で有意 ($P<0.05$) に減少した。

(実験5) 膵腺癌の発生頻度は、第1, 2および3群でそれぞれ70.0%、73.3%および40.0%であり (Fig. 4)、第1群に比較して第3群で有意 ($P<0.05$) に減少した。膵管異形成の発生頻度は、第1, 2および3群でそれぞれ56.6%、36.6%および40.0%であり (Fig. 4)、アロエ投与群で減少傾向を示した。

(実験6) 現在、実験開始より57週間が経過し、実験を継続している。今までのところ、各群間の生存率に顕著な差異は認められていない。計画どおりに、実験開始後65週で実験を終了し、剖検により胃を中心に腫瘍性病変の発生状況を病理組織学的に検索する予定である。

4. 考察

以上の結果より、nobiletin、zerumbone、garcinolはAOM誘発ACFの発生と成長を抑制したが、これは細胞増殖活性の制御、解毒酵素の誘導ないしCOX-2やiNOS発現抑制によると考えられた。ACF抑制効果は3検体のうち、nobiletinに強かった。これらの化合物は安定で、比較的大量に合成ないし入手できることから、今回の実験結果を確認するため大腸がんをバイオマーカーとした長期の実験が望まれ、そのような実験を計画しているところである。これらは、iNOS、COX-2などの発現も抑制

することから、炎症を背景とする大腸発がん、例えば潰瘍性大腸炎患者の大腸発がん制御に有効に利用できる可能性がある。最近、分担研究者らはPPARsリガンドによる大腸ACF抑制や実験的誘発大腸炎の抑制を明らかにした。PPARsはfeedback機構によりCOX-2発現を制御する可能性があり、今後今回検討した化合物の大腸粘膜におけるPPARs発現への影響を検討することは興味深い。

また、アロエ凍結乾燥粉末のイニシエーション期投与およびCOX-2阻害剤のポストイニシエーション期投与は、BOP誘発によるハムスターの膵発がんを抑制することが明らかとなった。アロエは古来より健康に有益な植物として知られており、抗炎症作用、抗酸化作用、抗菌作用、緩下作用などを示す多くの生理活性物質を含有していることが知られている。また、生体異物の代謝活性および不活性に影響することも明らかにされており、今回の実験で標的細胞におけるBOPによるDNA障害を軽減したことと関連深いものと推察される。一方、COX-2の阻害は大腸発がんの重要な抑制機序の1つと考えられているが、膵発がんについても当てはまる可能性が示された。このことは、ヒト大腸がん組織と同様に、膵がんや胃がんを含めた多くのヒトがん組織内にプロスタグランジンやCOX-2の過剰発現がみられることと関連して極めて興味深く、現在進行中のラット胃発がんへの影響とともに他臓器の発がんにも及ぼす影響を検討する必要がある。

5. まとめ

温州蜜柑ジュース製造工程で得られるコールドプレスオイルから主成分の*d*-limoneneを除去した精油中から得られたpolymethoxyflavonoidで抗炎症生作用を有するnobiletin、東南アジアの抗炎症薬であるニガシヨウガの活性本体であるzerumbone、インド産熱帯果樹Garcinia indicaの乾燥果皮中に存在するgarcinolは発がん剤誘発大腸がん前駆病変の発生とその成長を抑制することが判明した。その抑制機構としては、細胞増殖活性の制御、解毒酵素の誘導ないしCOX-2やiNOS発現抑制が考えられた。また、アロエ凍結乾燥粉末はイニシエーション期において、COX-2阻害剤はポストイニシエーション期においてBOP誘発によるハムスターの膵発がんを抑制した。

6. 研究発表

Son, H-Y., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Miyauchi, M., Nakamura, H., Ikeda, T., Hirose, M. Organ-dependent modifying effects of oltipraz on *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)-initiation of tumorigenesis in hamsters. *Cancer Lett.*, **153**, 211-218 (2000).

Miyauchi, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Nakamura, H., Son, H-Y., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., Hirose, M. Inhibitory effects of 1'-acetoxychavicol acetate on *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)-amine-induced initiation of cholangiocarcinogenesis in Syrian hamsters. *Jpn. J. Cancer Res.*, **91**, 477-481 (2000).

Nakamura, H., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Miyauchi, M., Son, H-Y., Hirose, M. Inhibitory effects of protocatechuic acid on the post-initiation phase of hamster pancreatic carcinogenesis induced by *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *Anticancer Res.*, **20**, 3423-3427 (2000).

Lee, I-S., Yang, E-J., Kim, H-S., Chung, S-K., Furukawa, F., Nishikawa, A. Suppressing effects of *Adenophora triphylla* extracts on *in vitro* tumor cell growth and *in vivo* gastric epithelial proliferation. *Anticancer Res.*, **20**, 3227-3231 (2000).

Son, H-Y., Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I-S., Ikeda, T., Miyauchi, M., Nakamura, H., Hirose, M. Modifying effects of 4-phenylbutyl isothiocyanate on *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced tumorigenesis in hamsters. *Cancer Lett.*, **160**, 141-147 (2000).

Furukawa, F., Nishikawa, A., Nakamura, H., Miyauchi, M., Son, H., Hirose, M. Effects of octreotide, a somatostatin analogue, on initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters with *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *Cancer Lett.*, **159**, 43-48, (2000).

Furukawa, F., Nishikawa, A., Lee, I-S., Son, H-Y., Nakamura, H., Miyauchi, M., Takahashi, M., Hirose, M. Inhibition by methionine of pancreatic carcinogenesis in hamsters after initiation with *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *Cancer Lett.*, **152**, 163-167 (2000).

Tanaka, T., Kohno, H., Murakami, M., Shimada, R., Kagami, S., Sumida, T., Azuma, Y., Ogawa,

H. Suppression of azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats by mandarin juices rich in β -cryptoxanthin and hesperidin. *Int. J. Cancer*, 88, 146-150 (2000).

Tanaka, T., Kohno, H., Murakami, M., Kagami, S., El-Bayoumy, K. 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., Kohno, H., Shimada, R., Kagami, S., Yamaguchi, F., Kataoka, S., Ariga, T., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H. Prevention of colonic aberrant crypt foci by dietary feeding of garcinol in male F344 rats. *Carcinogenesis*, 21, 1183-1189 (2000).

Tanaka, T., Maeda, Kohno, H., Murakami, M., Kagami, S., Miyake, M., Wada, K. 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., Kohno, H., Yoshitani, S., Tsukio, Y., Murakami, A., Safitri, R., Takahashi, D., Yamamoto, K., Koshimizu, K., Ohigashi, H., Mori, H.: Chemoprevention of azoxymethane-induced rat aberrant crypt foci by dietary zerumbone isolated from *Zingiber zerumbet*. *Life Sci.*, in press (2001)

Kohno, H., Yoshitani, S., Tsukio, Y., Murakami, A., Koshimizu, K., Yano, M., Tokuda, H., Nishino, H., Ohigashi, H., Tanaka, T.: Dietary administration of citrus nobiletin inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Life Sci.*, in press (2001)

Tanaka, T., Kohno, H., Yoshitani, S., Takashima, S., Okumura, A., Murakami, A., Hosokawa, M.: 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., Yoshitani, S., Takashima, S., Okumura, A., Hosokawa, M., Yamaguchi, N., Tanaka, T.: Troglitazone, a ligand for peroxisome proliferator-activated receptor α inhibits chemically-induced aberrant crypt foci in rats. *Jpn. J. Cancer Res.*, 92, in press (2001).

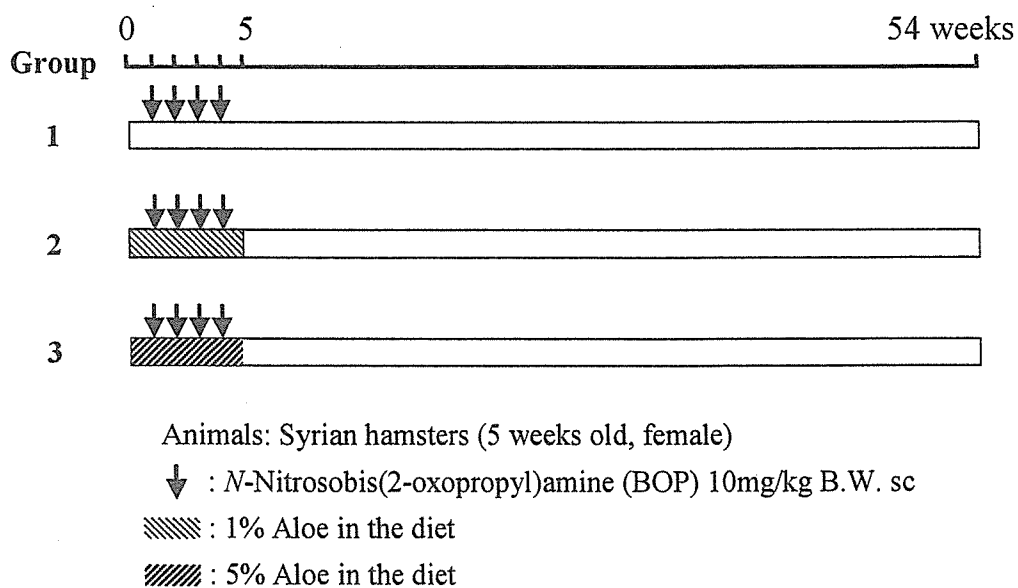


Fig.1 Experimental design

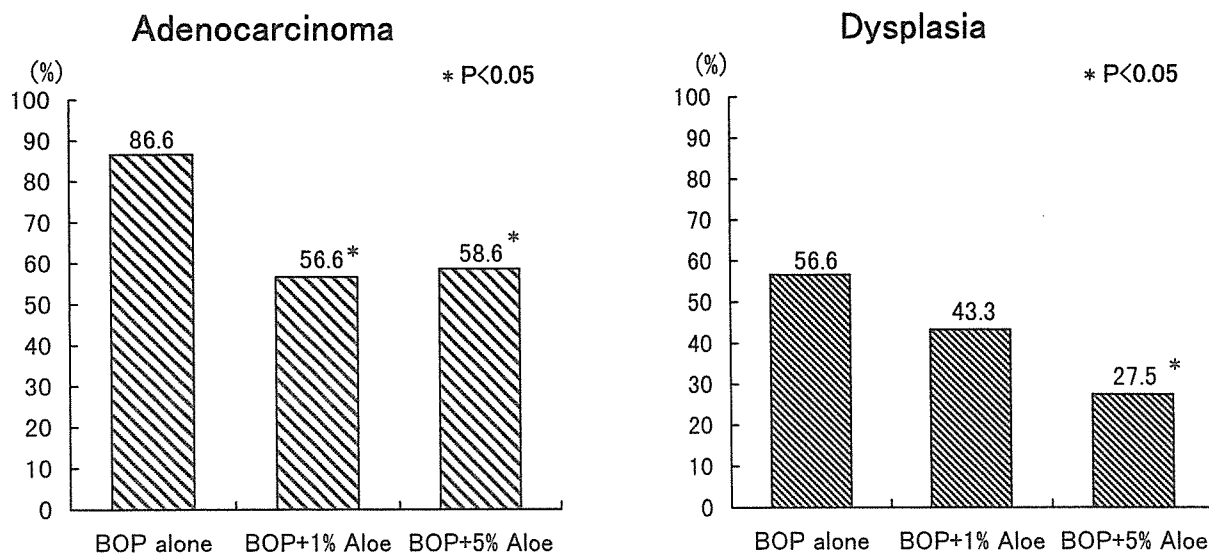


Fig. 2 Incidence of pancreatic proliferative lesions in hamsters treated with BOP and aloe

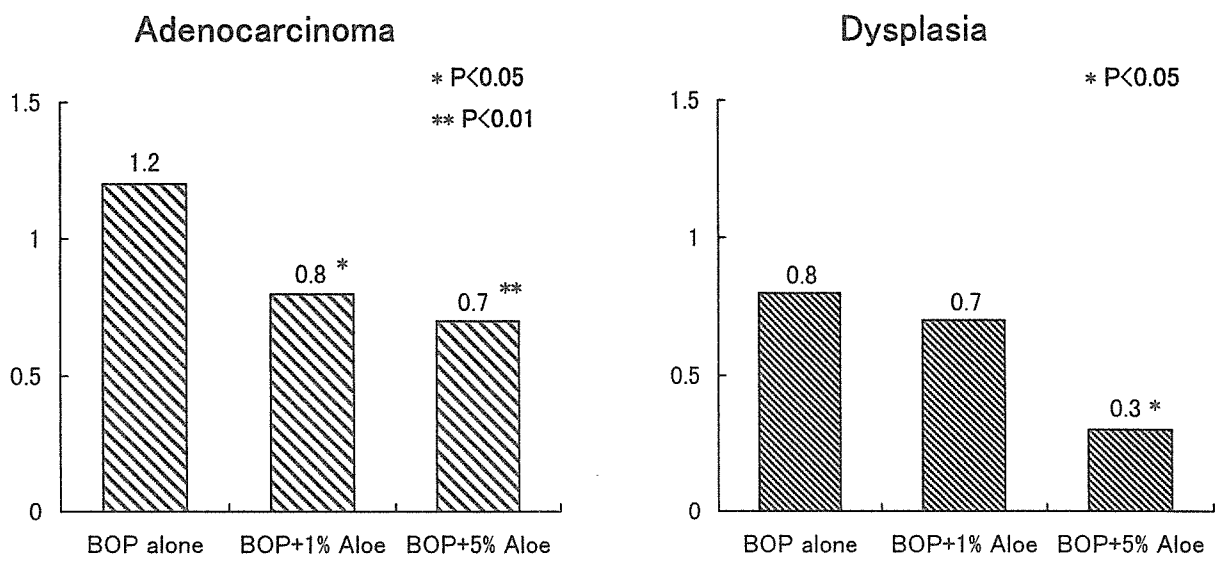


Fig. 3 Multiplicity of pancreatic proliferative lesions in hamsters treated with BOP and aloe

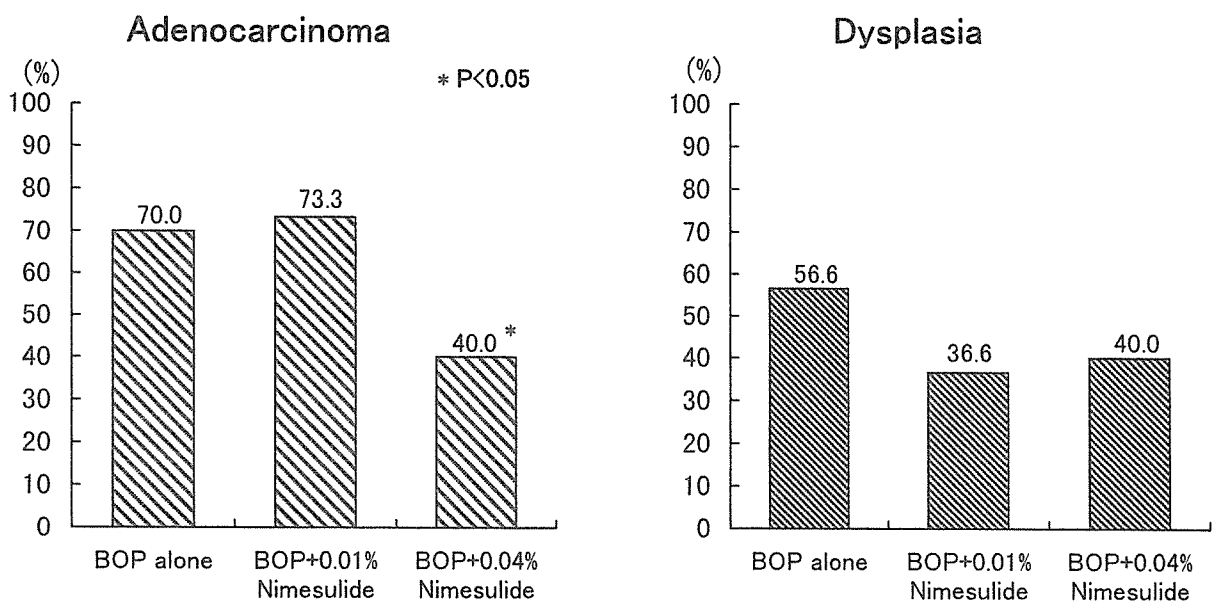


Fig. 4 Incidence of pancreatic proliferative lesions in hamsters treated with BOP and nimesulide

Table 1. Effect of nobiletin on AOM-induced ACF formation

Group no.	Treatment (no. of rats examined)	Incidence (%)	Total no. of ACF/colon	% of ACF with 4 or more crypts
1	AOM alone (8)	8/8 (100%)	139 ± 35 ^a	15.2 ± 3.5
2	AOM + 0.01% nobiletin (8)	8/8 (100%)	70 ± 15 ^b	9.6 ± 5.2 ^c
3	AOM + 0.05% nobiletin (8)	8/8 (100%)	63 ± 10 ^b	8.0 ± 2.8 ^b
4	0.05% nobiletin (6)	0/6 (0%)	0	0
5	No treatment (6)	0/6 (0%)	0	0

^a Mean ± SD.

^{b,c} Significantly different from group 1 (^b*P*<0.001 and ^c*P*<0.05).

Table 2. MIB-5-labeling index in rectal section of colonic mucosa of rats treated with AOM and/or nobiletin

Group no.	Treatment (no. of rats)	ACF	"Normal-appearing" crypts	Normal crypts
1	AOM alone (8)	25.6 ± 6.7 ^a (10)	17.8 ± 4.5 (10)	-
2	AOM + 0.01% nobiletin (8)	20.7 ± 1.6 ^b (10)	15.5 ± 1.4 (10)	-
3	AOM + 0.05% nobiletin (8)	18.8 ± 1.0 ^c (10)	15.6 ± 1.6 (10)	-
4	0.05% nobiletin (4)	-	-	13.0 ± 1.4 (10)
5	None (4)	-	-	13.8 ± 1.1 (10)

AOM, azoxymethane; ACF, aberrant crypt foci.

No. in parentheses of the data are no. of ACF or crypts examined.

^a Mean ± SD.

^{b,c} Significantly different from group 1 (^b*P*<0.05 and ^c*P*<0.02).

Table 3. Incidence of aberrant crypt foci (ACF) in rats treated with AOM and/or zerumbone

Group no.	Treatment		Total no. of ACF/colon	No. of large ACF (more than 4 crypts/focus)
	AOM	Zerumbone in diet (w/w)		
1	+	-	84 ± 13 ^a	11.1 ± 2.6
2	+	0.01%	72 ± 17	2.3 ± 1.4 ^b
3	+	0.05%	45 ± 18 ^b	0.7 ± 0.5 ^b

Analysis of ACF was done in 8 rats each of groups 1-3 and 4 rats each of groups 4 and 5. There were no ACF in rats of groups 4 and 5.

^a Mean ± SD.

^b Significantly different vs. group 1 (*p*<0.001).

Table 4. AgNORs count and amounts of PGE₂ and PGD₂ of the colonic epithelium of rats treated with AOM and/or zerumbone

Group no.	Treatment		AgNORs count/nucleus	PGE ₂ (pmol/mg/protein)	PGD ₂ (pmol/mg/protein)
	AOM	Zerumbone in diet (w/w)			
1	+	-	1.56 ± 0.22 ^{a,b}	43.0 ± 7.2 ^b	132.9 ± 13.0 ^c
2	+	0.01%	0.90 ± 0.13 ^d	29.3 ± 4.0 ^d	136.0 ± 10.3
3	+	0.05%	0.82 ± 0.13 ^d	17.7 ± 3.0 ^e	101.2 ± 23.0 ^f
4	-	0.05%	0.67 ± 0.12	15.1 ± 3.6	40.1 ± 6.9
5	-	-	0.62 ± 0.09	19.8 ± 1.0	66.0 ± 23.6

AgNORs count was done in 4 rats each of groups 1-3 and 3 rats each of groups 4 and 5. Assay of PGE₂ and PGD₂ was performed in 5 rats each of groups 1-3 and 4 rats each of groups 4 and 5.

^a Mean ± SD.

^{b,c} Significantly different vs. group 5 (^b*p*<0.01 and ^c*p*<0.001).

^{d,f} Significantly different vs. group 1 (^d*p*<0.01, ^e*p*<0.001, and ^f*p*<0.05).

Table 5. GST and QR activities in liver and colonic mucosa of rats treated with AOM and/or zerumbone

Group no.	Enzyme activity (mU/mg protein)					
	Treatment		GST (CDNB)		QR (NADH)	
	AOM	Zerumbone in diet (w/w)	Liver	Colon	Liver	Colon
1	+	-	571 ± 57 ^a	83 ± 6	64 ± 6	345 ± 29
2	+	0.01%	654 ± 85	106 ± 15 ^b	71 ± 8	453 ± 49 ^c
3	+	0.05%	698 ± 98 ^b	129 ± 14 ^d	78 ± 12 ^b	469 ± 34 ^d
4	-	0.05%	721 ± 56 ^e	135 ± 14 ^f	86 ± 31	496 ± 14 ^f
5	-	-	526 ± 18	87 ± 6	52 ± 10	365 ± 22

Enzyme activities were measured in 5 rats each of groups 1-3 and 4 rats each of groups 4 and 5.

^a Mean ± SD.

^{b-d} Significantly different vs. group 1 (^b*p*<0.005, ^c*p*<0.01, and ^d*p*<0.001).

^{e,f} Significantly different vs. group 5 (^e*p*<0.01 and ^f*p*<0.001).

Table 6. Incidence of ACF in rats treated with AOM and/or garcinol

Group no.	Treatment (no. of rats examined)	Total no. of ACF/colon	% of ACF containing 4 or more ACFs
1	AOM alone (8)	97 ± 15 ^a	6.45 ± 2.40
2	AOM + 0.01% garcinol (8)	72 ± 16 ^b	4.43 ± 0.26 ^c
3	AOM + 0.05% garcinol (9)	58 ± 8 ^d	3.85 ± 0.16 ^e
4	0.05% garcinol (4)	0	0
5	None (4)	0	0

ACF, aberrant crypt foci; ACFs, aberrant crypts; AOM, azoxymethane.

^a Mean ± SD.

^{b-c} Significantly different from group 1 (^b*P*<0.01, ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.001, ^e*P*<0.02).

Table 7. PCNA-labeling index in rectal section of colonic mucosa of rats treated with AOM and/or garcinol

Group no.	Treatment (no. of rats)	ACF	"Normal-appearing" crypts	Normal crypts
1	AOM alone (8)	32.0 ± 4.8 ^a (10)	24.3 ± 5.0 (10)	-
2	AOM + 0.01% garcinol (8)	25.3 ± 1.9 ^b (10)	18.7 ± 0.6 ^c (10)	-
3	AOM + 0.05% garcinol (9)	22.6 ± 1.3 ^d (10)	18.1 ± 0.8 ^b (10)	-
4	0.05% garcinol (4)	-	-	13.3 ± 0.3 (10)
5	None (4)	-	-	13.4 ± 1.3 (10)

PCNA, Proliferating cell nuclear antigen; AOM, azoxymethane; ACF, aberrant crypt foci.

No. in parentheses of the data are no. of ACF or crypts examined.

^a Mean ± SD.

^{b-d} Significantly different from group 1 by Welch's *t*-test (^b*P*<0.005, ^c*P*<0.01, and ^d*P*<0.001).

Table 8. Liver GST and QR activities

Group no.	Treatment (no. of rats examined)	GST-CDNB (mU/mg protein)	GST-DCNB (mU/mg protein)	QR (mU/mg protein)
1	AOM alone (8)	628 ± 62 ^{a,b}	42 ± 5	59 ± 5 ^c
2	AOM + 0.01% garcinol (8)	783 ± 115 ^d	35 ± 4	63 ± 7
3	AOM + 0.05% garcinol (9)	769 ± 101 ^d	35 ± 5	66 ± 6 ^c
4	0.05% garcinol (4)	776 ± 55 ^c	35 ± 2	55 ± 3 ^f
5	None (4)	545 ± 26	33 ± 2	42 ± 4

GST, glutathione S-transferase; QR, quinone reductase; CDNB, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene;

DCNB, 1,2-dichloro-4-nitrobenzene; AOM, azoxymethane.

^a Mean ± SD.

^{b,c,f} Significantly different from group 5 by Student's *t*-test (^b*P*<0.05, ^c*P*<0.001, and ^f*P*<0.005).

^{d,e} Significantly different from group 1 by Student's *t*-test (^d*P*<0.005 and ^e*P*<0.05).

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第5分野

健康保持増進・予防医薬品の開発に関する研究

平成13年11月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社