

LA, GA, I3C 及び DSF 群の被験物質の平均摂取量はそれぞれ 67.9, 69.0, 63.2 及び 46.6 mg/kg 体重/day であった (Table 2)。臓器重量については対照群と比べて GA 群における甲状腺の実重量が有意に ($p < 0.05$) 減少したが, 相対重量では有意な差はみられなかった。また DSF 群の肝臓及び腎臓の実重量が有意に ($p < 0.01$) 減少し, 肝臓及び甲状腺の相対重量が有意に ($p < 0.01$) 増加した (Table 1)。

触診による乳腺腫瘍の経時的観察において, 発生頻度及び発生数が対照群に比べ LA 群, GA 群及び I3C 群で 14 あるいは 15 週目から低値傾向を示し始め, LA 群では 18 週目以降の発生数, GA 群では 15, 20 及び 21 週目の発生頻度及び 19 週目以降の発生数, I3C 群では 20 週目以降の発生数が有意な ($p < 0.05$) 低値を示した。DSF 群では発生頻度は 12 週目以降, 発生数は 14 週目以降から低値傾向を示し始め, 発生頻度は 14 週目以降, 発生数は 15 週目以降から有意な ($p < 0.05 \sim 0.001$) 低値を示した。体積の推移については群間の有意な差はみられなかった (Fig. 3)。病理組織学的検索により, 乳腺腫瘍は全て腺癌と診断された。腺癌の発生頻度は対照群の 20 例中 18 例 (90%) に比べ, LA, GA 及び I3C 群ではそれぞれ 18 例 (90%), 13 例 (65%) 及び 15 例 (75%) で明らかな差はみられなかったが, DSF 群では 8 例 (40%) であり有意な ($p < 0.01$) 低値を示した。腺癌の発生数は対照群の 3.5 ± 3.0 個/ラットに対し, GA 群では 1.8 ± 1.9 , I3C 群では 1.7 ± 1.5 及び DSF 群では 0.8 ± 1.3 個/ラットで有意な ($p < 0.05, 0.01$) 減少がみられた。体積については群間の明らかな差はみられなかった (Table 3)。

その他の臓器・組織の増殖性/腫瘍性病変として DSF 群で肺の肺胞上皮過形成及び前胃の扁平上皮過形成の発生率が対照群に比べ有意に ($p < 0.01, 0.001$) 増加した (Table 4)。その他の臓器・組織に関しても各群で種々の増殖性/

腫瘍性病変はみられたが, 群間の明らかな差はみられなかった。

D. 考察

今回, SD 系雌ラットに MNU でイニシエーション処置した後, AA を飲水投与する乳腺早期発がんモデルを用いて, AA の発がん作用に対する抑制物質の検索を試みた。抗酸化作用を有する LA 群, 抗酸化作用及び CYP2E1 阻害作用を有する GA 群及び抗酸化作用及び第 II 相酵素誘導作用を有する I3C 群において, 触診による乳腺腫瘍の経時的な観察で, その発生頻度及び発生数が 14 あるいは 15 週目以降で低値傾向あるいは有意な低値を示した。病理組織学的検査では GA 及び I3C 群で腺癌の発生数の有意な減少がみられた。以上の結果から, LA, GA, I3C は本モデルにおいて AA による乳腺発がんに対し抑制作用を有することが示された。DSF 群では発生頻度は 12 週目以降, 発生数は 14 週目以降で低値傾向あるいは有意な低値を示し, 病理組織学的には発生頻度及び発生数が有意に減少した。しかし, 同群では摂餌量の低下を伴う著明な体重増加抑制がみられた。乳腺発がんに対して, 摂餌量あるいは体重増加量は大きな影響を与えることが報告されており (Thompson et al., 2004), DSF による摂餌量の低下及び体重増加抑制が腫瘍の発生頻度及び発生数の減少に関与している可能性が否定できないと考えられた。

他臓器・組織の病理組織学的検索において DSF 群で肺の肺胞上皮過形成及び前胃の扁平上皮過形成の発生頻度が対照群に比べ有意に増加した。DSF は *N*-nitrosodibutylamine との同時投与により肺に腺癌及び扁平上皮癌を (Schweinsberg et al., 1982), 亜硝酸ナトリウムとの同時投与により前胃に基底細胞癌及び乳頭腫を (Lijinsky et al., 1980) 誘発することが報告されている。今回の実験でイニシエ

ーターとして用いた MNU は肺及び前胃を含む諸臓器に発がん標的性を示すことが報告されており、プロモーション期に DSF を投与したことにより増殖性／腫瘍性病変の発生が促進されたものと考えられた。DSF 群では肝臓及び甲状腺の相対重量が有意に増加し、肝臓における種々の代謝酵素の誘導の関連している可能性が考えられた。しかし、肝臓及び甲状腺において重量の変化に関連する病理組織学的変化はみられなかった。

E. 結論

MNU をイニシエーターとして AA を 0.004% の濃度で飲水投与するラット乳腺発がんモデルを用いた検索において、抗酸化、CYP2E1 阻害あるいは第 II 相酵素誘導作用を有するものが AA の乳腺発がん作用に対する抑制物質として有用である可能性が示された。

F. 健康危険情報 該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Ueda M, Imai T, Takizawa T, Onodera H, Mitsumori K, Matsui T, Hirose M. Possible enhancing effects of atrazine on growth of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Cancer Sci*, 96, 19-25 (2005)
- (2) Imai T, Hasumura M, Onose J, Ueda M, Takizawa T, Cho YM, Hirose M. Development of invasive follicular cell carcinomas in a rat thyroid carcinogenesis model: biological impact of capsular inflammation and reduced cyclooxygenase-2. *Cancer Sci*, 96, 31-37 (2005)
- (3) Cho YM, Imai T, Hasumura M, Onose J, Ueda M, Hirose M. Lack of prepubertal administration of ethinyl estradiol on susceptibility to multiple organ carcinogenesis in rats exposed to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine during adolescence. *Cancer Lett*, 223, 37-46 (2005)
- (4) Hasumura M, Imai T, Takizawa T, Ueda M, Hirose M. Promoting effect of *para*-aminobenzoic acid on development of thyroid tumors in rats initiated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Toxicol Sci*, 86, 61-67 (2005)
- (5) Imai T, Cho YM, Hasumura M, Hirose M. Enhancement by acrylamide of N-methyl-N-nitrosourea-induced rat mammary tumor development - possible application for a model to detect co-modifiers of carcinogenesis. *Cancer Lett*, 230, 25-32 (2005)
- (6) Ota Y, Hasumura M, Okamura M, Takahashi A, Ueda M, Onodera H, Imai T, Mitsumori K, Hirose M. Chronic toxicity and carcinogenicity of dietary administered ammonium sulfate in F344 rats. *Food Chem Toxicol*, 44, 17-27 (2006)
- (7) Takizawa T, Imai T, Ueda M, Onodera H, Hirose M. Comparison of enhancing effects of different goitrogen treatments in combination with β -estradiol-3-benzoate for establishing a rat two-stage thyroid carcinogenesis model to detect modifying effects of estrogenic compounds. *Cancer Sci*, 97, 25-31 (2006)
- (8) Onose J, Imai T, Hasumura M, Cho YM,

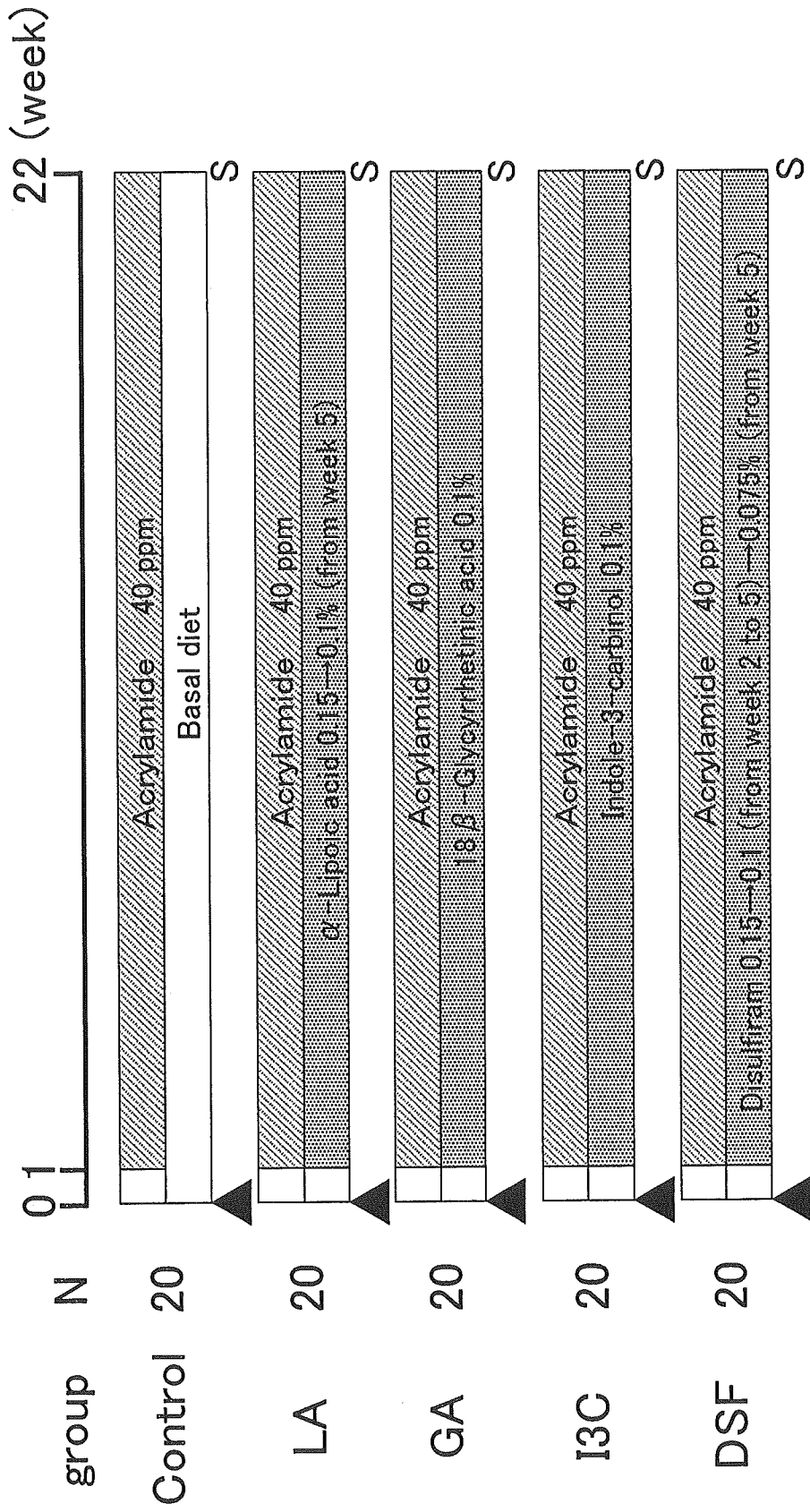
Hirose M. A new medium-term rat colon bioassay applying neoplastic lesions as endpoints from detection of carcinogenesis modifiers - validation with known modifiers. *Cancer Lett*, 232, 272-278 (2006)

- (9) Imai T, Onose J, Hasumura M, Takizawa T, Hirose M. Indomethacin induces small intestinal damage and inhibits amitrole-associated thyroid carcinogenesis in rats initiated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)-nitrosamine. *Toxicol Lett* (in press)
- (10) Cho YM, Onodera H, Ueda M, Imai T, Hirose M. A 13-week subchronic toxicity study of dietary administered morin in F344 rats. *Food Chem Toxicol* (in press)

2. 学会発表

- (1) 蓮村麻衣, 今井俊夫, 曹 永晩, 太田世志雄, 高見成昭, 広瀬雅雄: アクリルアミドのラット乳腺発がん作用に対する抑制物質の検索. 第64回日本癌学会, 2005年9月, 札幌.
- (2) 高見成昭, 今井俊夫, 蓮村麻衣, 曹 永晩, 広瀬雅雄: アクリルアミドのラット乳腺発がん作用に対する抗酸化及び第II相酵素誘導物質の抑制効果. 第22回日本毒性病理学会, 2006年1月, 鹿児島.
- (3) Imai T, Takami S, Cho YM, Hasumura M and Hirose M: Inhibitory effects of antioxidants and phase II-enzyme inducers on acrylamide-induced rat mammary carcinogenesis. The 45th Annual Meeting of Society of Toxicology, Mar. 2006, SanDiego, USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
該当なし。



N: number of animals ▲ : MNU (50 mg/kg, i.p.) S: sacrifice
 ▨ : acrylamide in drinking water ▩ : test chemicals in basal diet

Figure 1 Experimental design

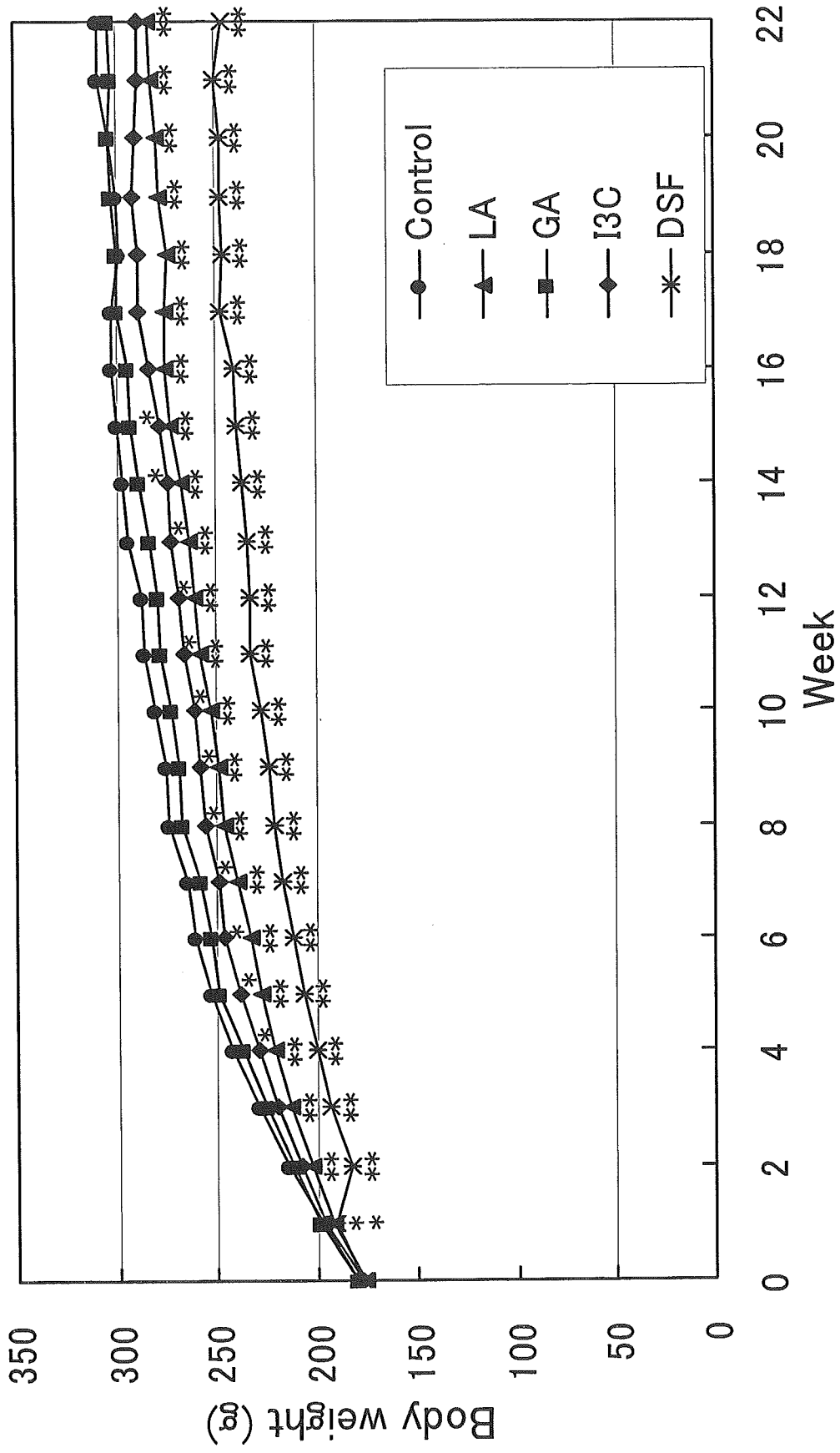


Figure 2 Body weight curves in rats treated with MNU followed by AA administration
 *, **: p<0.05, p<0.01 v.s. control (Student's or Welch's t-test)

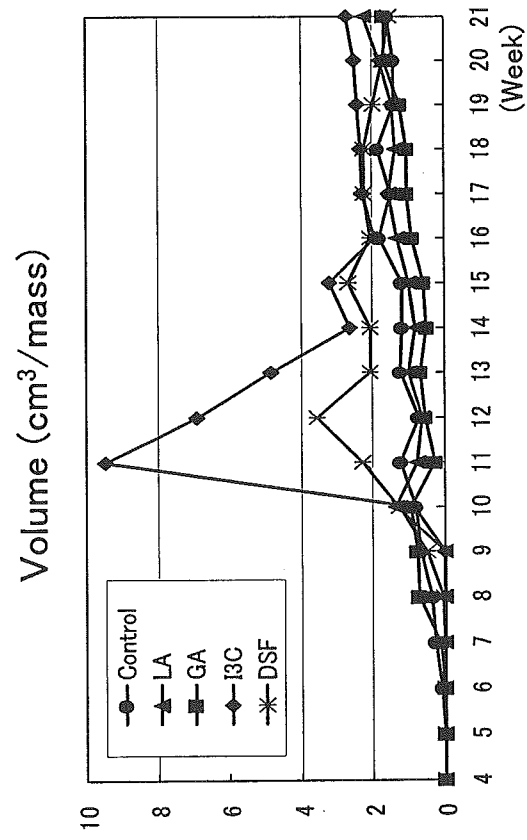
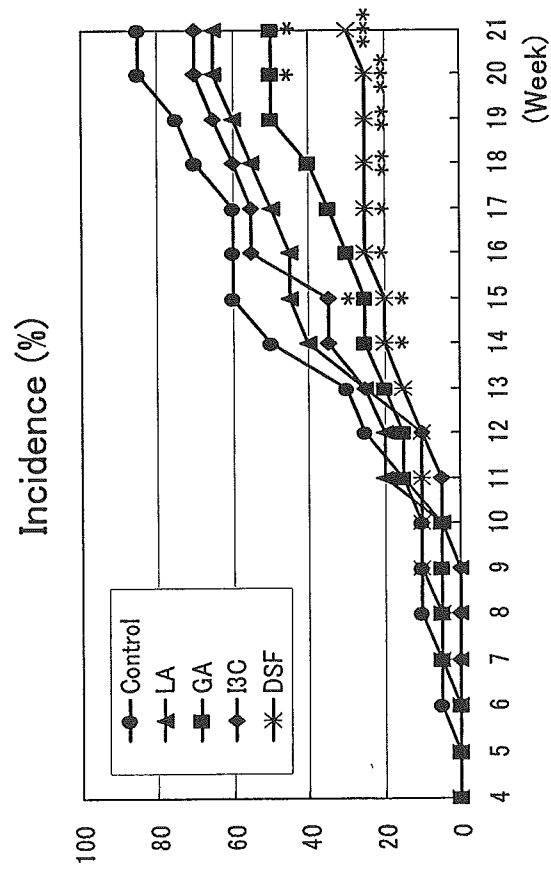
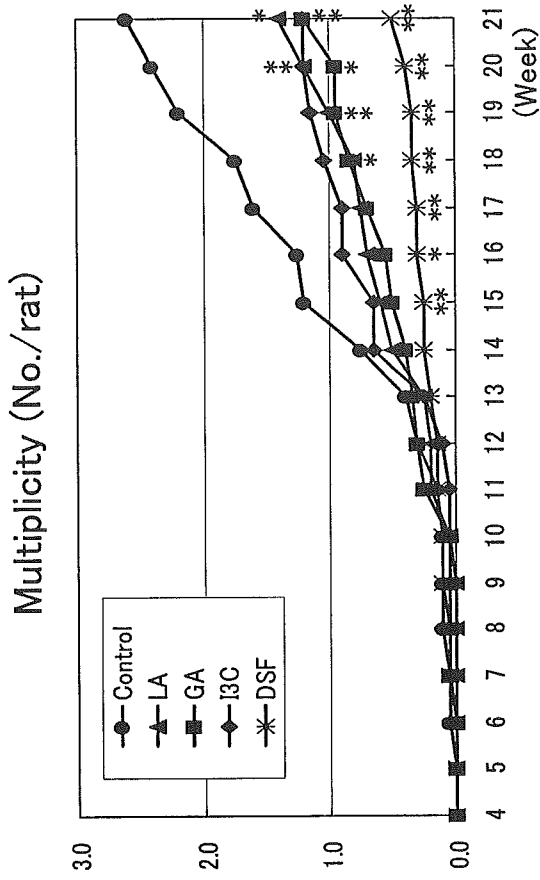


Figure 3 Sequential changes in the incidence, multiplicity and volume of palpable nodules in rats treated with MNU followed by AA administration

*, **, ***: $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ v.s. control (Fisher's exact probability test or Student's or Welch's t -test)

Table 1 Body and organ weights in rats treated with MNU followed by AA administration

Treatment	No. of animals	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Liver (g) (g/100 g b.w.)	Kidneys (g) (g/100 g b.w.)	Thyroids (mg) (mg/100 g b.w.)
Control	20	180.0±9.7	309.4±28.4	10.5±1.5 (3.4±0.4)	2.1±0.2 (0.7±0.1)	25.9±5.2 (8.4±1.6)
LA	20	176.6±5.7	283.3±22.8**	10.0±1.3 (3.5±0.4)	2.1±0.3 (0.7±0.1)	25.9±3.6 (9.2±1.3)
GA	20	179.8±6.5	303.1±32.3	9.9±1.8 (3.3±0.4)	2.1±0.2 (0.7±0.1)	22.3±3.4* (7.4±1.5)
I3C	19	177.4±9.8	289.3±45.0	10.3±1.9 (3.6±0.4)	2.1±0.3 (0.7±0.1)	27.3±4.7 (9.6±1.8)
DSF	20	177.3±8.1	246.3±19.0**	9.1±1.2** (3.7±0.3)**	1.7±0.2** (0.7±0.1)	24.2±3.5 (9.9±1.7)**

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively (Student's t-test)

Table 2 Food and water consumption and chemical intake in rats treated with MNU followed by AA administration

Treatment	Food consumption (g/rat/day)	Chemical intake (mg/kg b.w./day)	Water consumption (g/rat/day)	Acrylamide intake (mg/kg b.w./day)
Control	17.8	-	35.3	5.2
LA	15.5	67.9	30.5	4.9
GA	18.5	69.0	40.5	6.1
I3C	16.3	63.2	36.3	5.6
DSF	12.8	46.6	35.1	6.3

Table 3 Mortality and incidence, multiplicity and volume of mammary tumors in rats treated with MNU followed by AA administration

Treatment	No. of animals	Mortality (%)	Adenocarcinoma		
			Incidence (%)	Multiplicity (No./rat)	Volume (cm ³ /tumor)
Control	20	0 (0)	18 (90)	3.5 ± 3.0 ^a	1.9 ± 3.6
LA	20	0 (0)	18 (90)	2.5 ± 2.0	2.2 ± 4.7
GA	20	0 (0)	13 (65)	1.8 ± 1.9*	1.6 ± 3.2
I3C	20	1 (5)	15 (75)	1.7 ± 1.5*	2.5 ± 4.5
DSF	20	0 (0)	8 (40)**	0.8 ± 1.3**	1.2 ± 1.6

^a: mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the control at p < 0.05 and p < 0.01, respectively (Fisher's exact probability test or Student's or Welch's t-test)

Table 4 Proliferative and neoplastic lesions in other organs in rats treated with MNU followed by AA administration

Organ	Findings	Control				DSF
		No. of animals	LA	GA	I3C	
		20	20	20	20	20
Liver	Altered hepatocellular foci, eosinophilic	0	3	3	3	1
Kidneys	Renal mesenchymal tumor	1	0	0	0	0
Lung	Alveolar epithelial hyperplasia, focal	6	5	12	9	15**
	Adenoma	2	0	0	0	1
	Adenocarcinoma	0	0	0	1	0
Forestomach	Squamous cell hyperplasia, focal or diffuse	3	7	6	5	15***
	Squamous cell papilloma	0	0	0	0	1
Thymus	NOS	0	0	0	0	1
Brain	Malignant meningioma	0	1	0	0	0
Others (macroscopic abnormalities)						
Uterus	Endometrial hyperplasia	0	0	0	0	1
	Deciduoma	0	1	0	0	1
Mandibule	Odontoma	0	0	0	1	1
Thoracic cavity	Malignant lymphoma	0	0	0	0	1
Zymbal's gland	Carcinoma	1	0	0	0	0

** , ***: Significantly different from the control at $p < 0.01$, $p < 0.001$ (Fisher's exact probability test)

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
古賀秀徳	アクリルアミドの分析法, 実体, 低減法	伊藤, 川本, 杉山, 西島, 米谷	食品検査とリスク回避のための防御技術	シーエムシー出版	東京	2006	241-249

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishihara, K., Koga, H., et al.	Formation of acrylamide in a processed food model system, and examination of inhibitory conditions.	J. Food Hyg. Soc. Japan	46	33-39	2005
Ishihara, K., Koga, H., et al.	Examination of conditions inhibiting the formation of acrylamide in the model system of fried potato.	Biosci. Biotechnol. Biochem.	In press		2006
Koyama, N., Honma, M., et al.	Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human lymphoblastoid TK6 cells.	Mutat. Res.	603	151-158	2006
Lee, K-Y, Shibutani, M., Hirose, M., et al.	Chemoprevention of acrylamide toxicity by antioxidative agents in rats - Effective suppression of testicular toxicity by phenylethyl isothiocyanate	Arch. Toxicol.	79	531-541	2005
Imai, T., Hirose M., et al.	Enhancement by acrylamide of <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -nitrosourea-induced rat mammary tumor development -possible application for a model to detect co-modifiers of carcinogenesis.	Cancer Lett.	230	25-32	2005