

が報告されている。PhIP 誘発大腸腫瘍などの HCA 誘発大腸腫瘍においては、*p53* 遺伝子の変異は報告されていないが、がんの初期発生の段階において、大腸発がん性 HCA が非遺伝性変化を介して *p53* シグナル経路に影響を与えている可能性が示唆された。腸管腺管の 3D 培養等の *in vitro* モデル系を用いて、これらの miRNA の大腸発がんへの関与を検証する予定である。

動物正常組織の 3D 培養系を用いた新規 *in vitro* 発がんモデル系の構築においては、まず、3D 培養による長期間培養が報告されているマウス腸管腺管を用いて検討した。マウス小腸腺管の 3D 培養系では、がん抑制遺伝子(*Apc* と *Pten* 等)の shRNA 導入により遺伝子再構成した場合に造腫瘍性が確認されており、遺伝性変化による発がんモデルが確立されている。化学物質による発がんモデルでは、今回、PhIP の 6 時間処理のみで、小腸・大腸とも、ヌードマウス皮下での造腫瘍能を持つ細胞を誘導する可能性が示唆された。増殖性病変の周囲に炎症細胞の浸潤が認められる場合もあり、PhIP が炎症細胞の誘導に影響する可能性も示唆された。PhIP が非遺伝性・遺伝性変化を誘発し、発がんに影響する可能性がある。複数回投与や、低濃度長期暴露など、暴露条件を検討することにより、更に悪性化した病変を誘発可能か検討する。

また、遺伝子再構成との組み合わせにより、既に、遺伝性変化がある場合での発がん物質の影響の解析も試みた。がん抑制遺伝子 *Pten* の shRNA を導入した大腸 3D 培養系には、発がん物質未処理でも、ヌードマウス皮下での造腫瘍能を持つ細胞が出現する可能性が示された。PhIP 暴露により、

より多くの造腫瘍能を持つ細胞が誘導され、また、構造異型が誘発される可能性が示された。他のがん抑制遺伝子(*Apc*, *p53* 等)の shRNA を導入した場合の、発がん物質の影響も解析する予定である。また、予備的実験の段階であるが、遺伝性変化がある場合には、発がん物質との相互作用により、より発がん段階が進展する可能性が示された。

腸管以外にも、肺や肝臓等の 3D 培養の条件検討及び遺伝子再構成による造腫瘍性の獲得に関して検討中であり、腸管以外の臓器に関しても、*in vitro* 発がんモデル系を構築する予定である。

in vitro 発がんモデル系は、動物個体による *in vivo* 発がんモデル系と比較して、下記の特徴がある。1) 簡便かつ短期間で解析可能である。2) shRNA 導入による遺伝子再構成と組み合わせて、複数の遺伝的要因を任意の順番で解析可能であり、複数の環境要因や修飾要因とも組み合わせることができる(発がん物質と炎症など)。3) 腫瘍化に伴う非遺伝性・遺伝性変化の解析により、発がんの経時的変化の解析も可能である。これらの特色を利用して、新規の候補環境要因の発がんへの影響の解析や、候補要因特異的なマーカーの探索へと応用する。

アジア諸国の著しい経済成長は、様々な化学物質によるヒト暴露を誘発する可能性が有り、新規の発がん性予測の実用化は、同定した発がん物質の除去・低減化によるがんの減少が期待される。また、*in vitro* 発がんモデル系は、遺伝子再構成と組み合わせて、遺伝的要因の解析も可能であるので、アジア人の発がん感受性に寄与する遺伝的要因の探索や、遺伝的要因の候補と発がんとの関連性の解析に有用と考える。

E. 結論

加熱魚肉食品中の変異原物質 HCA によるラット大腸発がんモデルを用いて、大腸発がん性 HCA 特有の発現変動を示し、ヒトにも存在する一群の miRNA を見出し、内 3 種の miRNA だけでも発がん性 HCA と非発がん性 HCA を判別可能であった。これら miRNA による発がん性予測の可能性が示された。

次に、動物正常組織の 3D 培養系に化学物質を暴露し、ヌードマウスでの造腫瘍能を確認する新規の *in vitro* 発がんモデル系の構築を試みた。大腸発がん性 HCA の一つである PhIP をマウス腸管腺管の 3D 培養系を用いて短時間暴露することにより、ヌードマウス皮下に造腫瘍能を有する腸管細胞を誘導する可能性を示した。この *in vitro* 発がんモデル系は経時的変化が解析可能な点や、その簡便さから、発がんへの影響の解析に有用な可能性を示した。又、マウス小腸腺管の 3D 培養系では、がん抑制遺伝子の shRNA 導入により遺伝子再構成した場合の造腫瘍能が確認されている。*Pten* の shRNA を導入した大腸 3D 培養系では、PhIP 暴露により誘発される造腫瘍能を有する腸管細胞数が増加し、構造の異型度も高くなる可能性が示唆された。正常組織 3D 培養系を用いる *in vitro* 発がんモデルと遺伝子再構成の組み合わせが、発がんの遺伝的要因の解析に有用であることがわかった。

これらの成果を、新規の候補環境要因の発がんへの影響の解析や、候補要因特異的なマーカーの探索へと応用する。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tsuchiya N, Izumiya M, Ogata-Kawata H, Okamoto K, Fujiwara Y, Nakai M, Okabe A, Schetter AJ, Bowman ED, Midorikawa Y, Sugiyama Y, Aburatani H, Harris CC, Nakagama H. Tumor suppressor miR-22 determines p53-dependent cellular fate through post-transcriptional regulation of p21. *Cancer Res* (2011), 71:4628-4639.
2. Izumiya M, Tsuchiya N, Okamoto K, Nakagama H. Systematic exploration of cancer-associated microRNA through functional screening assays. *Cancer Sci* (2011) 102:1615-1621.
3. Kato S, Kubota K, Shimamura T, Shinohara Y, Kobayashi N, Watanabe S, Yoneda M, Inamori M, Nakamura F, Ishiguro H, Nakaigawa N, Nagashima Y, Taguri M, Kubota Y, Goshima Y, Morita S, Endo I, Maeda S, Nakajima A, Nakagama H. Semaphorin 4D, a lymphocyte semaphorin, enhances tumor cell motility through binding its receptor, plexinB1, in pancreatic cancer. *Cancer Sci*, (2011), 102:2029-2037.
4. Endo H, Hosono K, Uchiyama T, Sakai E, Sugiyama M, Takahashi H, Nakajima N, Wada K, Takeda K, Nakagama H, Nakajima A. Leptin acts as a growth factor for colorectal tumours at stages subsequent to

- tumour initiation in murine colon carcinogenesis. *Gut*, (2011), 60: 1363-1371.
- 2.学会発表
1. 筆宝義隆、中釜 斉、腸管発がんの *in vitro* 再構成、第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年
 2. 小沼邦重、土橋祥子、落合雅子、中釜 斉、筆宝義隆、*in vitro* 発がん再構築系を用いた発がん過程における炎症の役割、第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年
 3. 落合雅子、小沼邦重、土橋祥子、中釜 斉、筆宝義隆、腸管発がんにおける遺伝子間相互作用を再構成するための *in vitro* 培養系の開発、第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年
 4. 小沼邦重、筆宝義隆、土橋祥子、落合雅子、稲瀬安希、中釜 斉、*in vitro* 腸発がん再構成系における炎症の発がん促進作用、平成 23 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ、2011 年
 5. 稲瀬安希、筆宝義隆、小沼邦重、土橋祥子、落合雅子、中釜 斉、*in vitro* 発がん再構成系を用いた MSH2 欠損関連大腸発がん経路の解析、平成 23 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ、2011 年
 6. Onuma K, Hippo Y, Nakagama H, *In vitro* reconstitution of inflammation-related colon carcinogenesis. The 16th Korea-Japan Cancer Research Workshop, Sapporo, Japan, 2011
 7. 中釜 斉、発がん動物モデルの *in vitro* での再構築、第 4 回疾患モデルシンポジウ

ム、2011 年

8. Nakagama H, Future trends of cancer research: How research can help treatment and prevention. Lessons from NCC in Japan. International Networking to Accelerate standardization in Cancer Management “Highlight on Cancer Management”, Jakarta, Indonesia, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業））
分担研究報告書

新規変異原・がん原物質の検索

研究分担者 若林 敬二 静岡県立大学環境科学研究所 教授

研究要旨

グルコースとトリプトファンとのメイラード反応で生成する新規変異原物質 ABAQ の *in vivo* 遺伝毒性及び糖尿病モデル動物における *in vivo* 生成の有無につき解析した。*gpt delta* マウスに ABAQ を 25 及び 50 mg/kg の用量で週 5 回、3 週間連続、経口投与すると、肝臓における変異頻度が約 4 倍まで上昇し、G→A 及び G→T 等の点突然変異が誘発されることが分かった。又、ABAQ はラットの尿中から検出され、その値は野生型で 27.16pg/24h 尿、I 型糖尿病モデルで 551.5pg/24 h 尿、II 型糖尿病モデルで 188.4pg/24h 尿であり、野生型よりも糖尿病モデル動物に於いて高値を示すことが分かった。特に、I 型糖尿病モデルラットの尿中の ABAQ 量は高く、野生型ラットの尿中の ABAQ 量に比べ約 20 倍高かった。以上の事から、糖尿病患者の生体内でも ABAQ が生成され、肝臓等の組織に変異を誘発する可能性が推測された。

A. 研究目的

我が国においては、糖尿病及びがんの患者数は増加している。更に、多くの疫学調査の結果、糖尿病が肝臓、膵臓等のがんの発症に深く関与していることが明らかとされている。しかしながら、その作用メカニズムは良くわかっていない。そこで、本研究では、グルコースとトリプトファンとのメイラード反応で生成する新規変異原物質 5-amino-6-hydroxy-8H-benzo[6,7]azepino[5,4,3-de]quinolin-7-one (ABAQ) の *in vivo* 遺伝毒性及び糖尿病モデル動物における *in vivo* 生成の有無につき解析し、ABAQ のヒト発がんへの関与の可能性について検討す

る。本研究で得られる成果は、糖尿病とヒト発がんとの関連性を解明する上に有用なものとなる。

B. 研究方法

1. *in vivo* 変異原性試験

gpt delta 雄マウス(7 週齢) 5 匹に、化学合成した ABAQ をコーンオイルに懸濁し、25 及び 50mg/kg 体重の用量で週 5 回、3 週間連続、ゾンデで胃内に投与した。対照群の 5 匹のマウスには、コーンオイル (0.3 ml) を投与した。最終投与から 5 週目にマウスを屠殺解剖し、肝臓及び腎臓における突然変異の解析を行った。

2. 生体内生成による上昇は認められなかった。

7週齢の野生型 (Wistar) 雄ラット、10週齢の I 型糖尿病モデル (Wistar) 雄ラット及び II 型糖尿病モデル (GK/Slc) 雄ラット、各々、5、3、2 匹を代謝ケージで飼育し、24 時間分の尿を数回採集した。I 型糖尿病モデルラットは、Wistar 雄ラットにストレプトゾトシンを尾静脈投与して作成した。これらラットの尿サンプルを固層抽出した後に LC-MS/MS により尿中に排泄される ABAQ の量を測定した。尚、空腹時血糖値は常法により測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験の実施に際しては、施設の動物実験倫理委員会の承認を得た後に行い、実験動物に対する動物愛護に関して十分配慮して行った。

C. 研究結果

ABAQ をマウスに経口投与し、肝臓及び腎臓を採取した。得られた臓器から DNA を抽出し、*gpt* 遺伝子に生じた変異頻度及び変異パターンを解析した。肝臓における変異頻度は、対照群で $5.47 \pm 3.31 \times 10^{-6}$ 、ABAQ 25mg/kg 投与群で $14.1 \pm 7.92 \times 10^{-6}$ 、ABAQ 50mg/kg 投与群で $22.5 \pm 12.7 \times 10^{-6}$ であった。ABAQ 投与により肝臓における変異頻度は明らかに増加し、50mg/kg 投与群では対照群に比べ約 4 倍上昇した。変異パターンを解析したところ、G→A 及び G→T 等の点突然変異がコントロールと比べ有意に高く誘発されることが分かった。

一方、腎臓における変異頻度は、対照群で $9.98 \pm 3.25 \times 10^{-6}$ 、ABAQ 25mg/kg 投与群で $9.82 \pm 4.72 \times 10^{-6}$ 、ABAQ 50mg/kg 投与群で $13.5 \pm 7.01 \times 10^{-6}$ で、ABAQ 投与に

次に、野生型、I 型及び II 型糖尿病モデルラットの尿中の ABAQ 量を測定した。各ラットの空腹時血糖値は、野生型で 84~105mg/dl、I 型糖尿病ラットで 328~473mg/dl、II 型糖尿病ラットで 172~229mg/dl であった。ABAQ はいずれのラットの尿中からも検出され、その値は野生型で 27.16 ± 9.00 pg/24h 尿、I 型糖尿病モデルで 551.5 ± 360.8 pg/24h 尿、II 型糖尿病モデルで 188.4 ± 103.7 pg/24h 尿であり、野生型よりも糖尿病モデル動物に於いて高値を示すことが分かった。特に、I 型糖尿病モデルラットの尿中の ABAQ 量は高く、野生型ラットの尿中の ABAQ 量に比べ約 20 倍高かった。

D. 考察

ABAQ は、*S. typhimurium* に対して、S9 mix 存在下にフレームシフト型突然変異を強く誘発するとともに、CHL/IU 細胞に対して、S9 mix 存在下に小核を誘発することが明らかにされている。又、ICR マウスを用いたコメットアッセイにおいて、腹腔内投与 (25mg/kg 体重) で、肝臓、骨髄等において DNA 損傷作用を示すことも報告されている。更に、本研究において、25、50mg/kg 体重の ABAQ を週 5 回、3 週間連続、*gpt delta* マウスに経口投与すると、肝臓において変異頻度が上昇し、G→A 及び G→T 等の点突然変異が誘発されることが分かった。これらの、*in vitro*, *in vivo* における ABAQ の遺伝毒性活性の強さは、変異・がん原性を示すヘテロサイクリックアミンのそれらとほぼ同程度であることから、ABAQ もマウス、ラットの肝臓などに発が

ん性を示すことが予想される。今後、ABAQの動物を用いた長期発がん実験を行うことが重要と考えられる。

ABAQの生体内生成の有無について解析するために、野生型、I型及びII型糖尿病ラット尿中のABAQ量を測定した。その結果、ABAQは、野生型で27.16pg/24h尿、I型糖尿病モデルで551.5pg/24h尿、II型糖尿病モデルで188.4pg/24h尿含まれていることが明らかになった。それらの量は、野生型よりも糖尿病モデル動物に於いて高値を示すことが分かった。特に、I型糖尿病モデルラットの尿中のABAQ量は高かった。これら尿中のABAQ量は、各ラットの血糖値と比例することも分かった。ABAQはグルコースとトリプトファンとの*in vitro*メイラード反応で生成することより、ABAQの生体内生成においてもグルコースが深く関与している可能性が考えられる。今後、ABAQの生体内生成において、トリプトファンがどのように関与するかを含め、ABAQの動物体内の実際の生成量について検討する必要がある。又、ABAQのヒト発がんへの関与について解析するために、健康人及び糖尿病患者の尿中ABAQ量を詳細に解析することが重要と思われる。

E. 結論

gpt delta マウスにABAQを25及び50mg/kgの用量で週5回、3週間連続、経口投与すると、肝臓における変異頻度が約4倍まで上昇し、G→A及びG→T等の点突然変異が誘発されることが分かった。又、ABAQはラットの尿中から検出され、その値は野生型で27.16pg/24h尿、I型糖尿病モデルで551.5pg/24h尿、II型糖尿病モデル

で188.4pg/24h尿であり、野生型よりも糖尿病モデル動物に於いて高値を示すことが分かった。特に、I型糖尿病モデルラットの尿中のABAQ量は高く、野生型ラットの尿中のABAQ量に比べ約20倍高かった。これらの事から、糖尿病患者の生体内でもABAQが生成され、肝臓等の組織に変異を誘発する可能性が推測された。

糖尿病や肥満は、近年、アジア諸国においても急増しており、これら疾病の予防対策は重要な課題となっている。ABAQに関する本研究成果は、糖尿病とヒト発がんとの関連性を解明する上に有用になると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Horii M, Kitahashi T, Imai T, Ishigamori R, Takasu S, Mutoh M, Sugimura T, Wakabayashi K, Takahashi M. Enhancement of carcinogenesis and fatty infiltration in the pancreas in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters by high-fat diet. *Pancreas*, 40: 1234-1240, 2011.
2. Takahashi M, Horii M, Mutoh M, Wakabayashi K, Nakagama H. Experimental animal models of pancreatic carcinogenesis for prevention studies and their relevance to human disease. *Cancers*, 3: 582-602, 2011.

3. Teraoka N, Mutoh M, Takasu S, Ueno T, Yamamoto M, Sugimura T, Wakabayashi K. Inhibition of intestinal polyp formation by pitavastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor. *Cancer Prev Res*, 4: 445-453, 2011.
 4. Matsubara S, Takasu S, Tsukamoto T, Mutoh M, Masuda S, Sugimura T, Wakabayashi K, Totsuka Y. Induction of glandular stomach cancers in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils by 1-nitrosoindole-3-acetonitrile. *Int J Cancer*, 130: 259-266, 2011.
 5. Mutoh M, Teraoka N, Takasu S, Takahashi M, Onuma K, Yamamoto M, Kubota N, Iseki T, Kadowaki T, Sugimura T, Wakabayashi K. Loss of adiponectin promotes intestinal carcinogenesis in Min and wild-type mice. *Gastroenterology*, 140: 2000-2008, 2011.
 6. Ikeda K, Mutoh M, Teraoka N, Nakanishi H, Wakabayashi K, Taguchi R. Increase of oxidant-related triglycerides and phosphatidylcholines in serum and small intestinal mucosa during development of intestinal polyp formation in Min mice. *Cancer Sci*, 102: 79-87, 2011.
 7. Teraoka N, Mutoh M, Takasu S, Ueno T, Nakano K, Takahashi M, Imai T, Masuda S, Sugimura T, Wakabayashi K. High susceptibility to azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis in obese KK-Ay mice. *Int J Cancer*, 129: 528-535, 2011.
- 2.学会発表
1. 加藤竜也、石野孔祐、豊岡達士、伊吹裕子、渡邊昌俊、若林敬二、増田修一、戸塚ゆ加里、中釜 斉、原産地の異なるカオリンの DNA 損傷性および哺乳類細胞内への移行率の違い、日本環境変異原学会第 40 回大会、2011 年
 2. 大塚久美、戸塚ゆ加里、若林敬二、布柴達男、渡辺徹志、中釜 斉、トリプトファンとグルコースのメイラード反応生成物 ABAQ の in vivo 変異原性、日本環境変異原学会第 40 回大会、2011 年
 3. 池本実穂、川西優喜、戸塚ゆ加里、若林敬二、八木孝司、ナノ材料による小核誘導における相同組換え修復の関与、日本環境変異原学会第 40 回大会、2011 年
 4. 山田昌徳、島村裕子、戸塚ゆ加里、稲葉直之、クゥリバリ・スレイマン、田村友佳、長谷井友尋、若林敬二、渡辺徹志、増田修一、メイラード反応由来新規変異原性物質 ABAQ の生体内生成に関する研究、日本環境変異原学会第 40 回大会、2011 年
 5. 若林敬二、大腸がんの予防戦略と食事・食生活、第 9 回日本予防医学会学術総会、2011 年
 6. 戸塚ゆ加里、若林敬二、渡辺徹志、中釜 斉、トリプトファンとグルコースのメイラード反応で生成されるアミノベンゾアゼピノキノリノンの遺伝毒性、第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年
 7. 武藤倫弘、高橋真美、山本真史、堀 美香、若林敬二、中釜 斉、アディポネクチン

が欠損した Min 及び C57BL マウスにおける腸発がん促進、第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年

8. 加藤竜也、戸塚ゆ加里、石野孔祐、渡邊昌俊、若林敬二、中釜 斉、原産地の異なるカオリンによって引き起こされる DNA 損傷性の違い、第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年
9. 武藤倫弘、寺岡直哉、小沼邦重、高橋真美、堀美香、中野勝也、一二三佳恵、窪田直人、門脇孝、若林敬二、中釜 斉、Adiponectin 遺伝子欠損によるマウスの腸発がん促進作用、第 18 回日本がん予防学会、2011 年
10. 寺岡直哉、武藤倫弘、高須伸二、中野勝也、若林敬二、中釜 斉、HMG-CoA 還元酵素阻害薬 pitavastatin の Min マウス腸ポリープ生成抑制機構、第 18 回日本がん予防学会、2011 年

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業））

分担研究報告書

黄砂を含む長距離輸送性大気汚染及びその健康影響に関する研究

研究分担者 渡辺 徹志 京都薬科大学 教授

研究要旨

黄砂を含む長距離輸送性物質による日本の大気汚染及びそれらの健康影響について明らかにするため、西日本を中心とする7地点において2010年11月から2012年3月まで大気粉塵を捕集し、化学成分、生物活性等を調査した。大気粉塵の捕集を行ったいずれの地点においても5月1日～3日及び13日～16日に $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える高い粉塵濃度の日がみられ、各地点における最高粉塵濃度は $256\sim 585 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と非常に高かった。それらの大気粉塵は、土壌粒子由来の金属であり黄砂飛来の指標になると報告されているCa、Fe、Mgと燃焼に伴う大気汚染の指標になると報告されているK、V、Pbの濃度が非常に高かった。後方流跡線解析の結果、それらの大気粉塵を含む気塊は中国東北部から朝鮮半島を經由して流入したことが示唆された。以上のことから、2011年5月に複数日にわたって西日本を中心とした広い地域に黄砂及び長距離輸送性の大気汚染物質が飛来したと考えられた。

A. 研究目的

中国では急速な経済成長に伴う大気汚染が深刻な問題となっており、それら大気汚染物質が日本に飛来していることを示唆する調査結果が得られつつある。また、黄砂飛来時に喘息等の呼吸器疾患の増悪がみられるとの報告がある。本研究では、黄砂を含む長距離輸送大気汚染物質による影響を受けやすいと予想される西日本の日本海側を中心とした広い地域における大気汚染状況及びを明らかにするとともにそれらの健康影響について検討する。

B. 研究方法

黄砂が多く飛来する西日本を中心とした国内7カ所（長崎県佐世保市、福岡県太宰

府市、鳥取県湯梨浜町、大阪府大阪市、京都府京都市、富山県射水市、愛知県名古屋市）において、2010年11月から2012年3月まで大気粉塵を捕集し、各地点における大気粉塵量を明らかにした。また、捕集した粉塵中の成分を化学分析し有害物質等の飛来状況調査を行った。さらに大気粉塵抽出物のネズミチフス菌 YG1024 株と YG1029 株 に対する変異原性をラット肝代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で試験し、大気粉塵の遺伝毒性について検討した。気塊の流入経路について後方流跡線解析により検討した。

（倫理面への配慮）

動物実験及び組み換え生物を用いる実験については、京都薬科大学の倫理委員会の

承認を得た後、実施した。また、動物実験では動物愛護に関して十分配慮して行った。

C. 研究結果

大気粉塵の捕集を行ったいずれの地点においても5月1日～3日及び13日～16日に $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える高い粉塵濃度の日がみられた。佐世保市における粉塵濃度は、 $9.2 \sim 585.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、5月2日が最も高かった。太宰府市では、粉塵濃度は $5.3 \sim 579.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、5月2日の粉塵濃度が最も高かった。湯梨浜町における粉塵濃度は、 $0.4 \sim 275.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、5月1日が最も高く、5月2日は $258.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり5月1日に次いで高かった。大阪市では、粉塵濃度は $8.2 \sim 398.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、5月2日の粉塵濃度が最も高かった。京都市における粉塵濃度は、 $5.5 \sim 347.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、5月2日が最も高かった。射水市では、粉塵濃度は $3.4 \sim 256.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、5月13日の粉塵濃度が最も高く、5月2日は $224.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり5月13日に次いで高かった。名古屋市における粉塵濃度は、 $8.1 \sim 376.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、5月2日が最も高かった。 $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える高濃度の大気粉塵は、大阪市、京都市、名古屋市において、3月及び4月にもみられた。大宰府市と京都市では2010年11月にも $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える高濃度の大気粉塵がみられた。

湯梨浜町では、5月1日、2日以外に5月13日も粉塵濃度が高く、 $202.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。それら3日間のCa、Fe、K、Mg、V及びPbの濃度は、それぞれ $1753 \sim 2074$ 、 $6028 \sim 7940$ 、 $4024 \sim 4914$ 、 $2444 \sim 3616$ 、 $13.2 \sim 18.3$ 及び $10.5 \sim 20.7 \text{ng}/\text{m}^3$ と非常に高かった。後方流跡線解析の結果、それらの日の

気塊は中国東北部から朝鮮半島を経由して流入したことが示唆された。

湯梨浜町と射水市において1月24日～27日、2月1日～3日、3月18日～21日、4月7日～10日、5月6日～9日に捕集した大気粉塵について変異原性試験を行った。その結果、殆どの大気粉塵抽出物がYG1024株に対して変異原性を示したが、その活性は $50 \text{ revertants}/\text{m}^3$ 以下であった。

D. 考察

大気粉塵の捕集を行った7地点のいずれにおいても5月1日～3日及び13日～16日に $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える高い粉塵濃度がみられ、各地点における最高粉塵濃度は $256 \sim 585 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と非常に高かった。それらの大気粉塵中には、土壌粒子由来の金属であり、黄砂飛来の指標になると報告されているCa、Fe及びMgの濃度が高かった。また、燃焼に伴う大気汚染の指標になると報告されているK、V及びPbの濃度も高かった。後方流跡線解析の結果、それら大気粉塵を含む気塊は中国東北部から朝鮮半島を経由して流入したことが示唆された。以上のことから、2011年5月には西日本を中心とした広い地域に黄砂が飛来し、その中には燃焼由来の大気汚染物質が多く含まれていたと考えられた。

E. 結論

2011年5月に複数回にわたって、西日本を中心とする広い地域に燃焼由来の大気汚染物質を高濃度に含む黄砂が飛来したことが明らかとなった。現在、高濃度の長距離輸送性大気汚染物質の飛来がみられた地域の医師の協力を得て、飛来時の住民の健康

状態や通院状況等を調査しており、今後、大気汚染物質の飛来の健康影響について解析する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hasei T, Ohno A, Tsukuda R, Inoue T, Watanabe T, Determination of 3,6-dinitrobenzo[e]pyrene in tea leaves as a possible exposure source and in human hair as a biomarker with a two-dimensional HPLC system. J Health Science, 57(1): 53-59, 2011.

2.学会発表

1. 高橋亮平、穀内修、西村幸風、藤田浩祐、秋山雅行、嵐谷圭一、池盛文数、稲葉洋平、片岡洋行、岸川直哉、世良暢之、出口雄也、鳥羽陽、船坂邦弘、洞崎和徳、山口孝子、長谷井友尋、渡辺徹志、全国14地点における大気粉塵の変異原性及び化学成分の年内変動並びにそれらに対する長距離輸送の影響、第61回日本薬学会近畿支部大会、2011年
2. 長谷井友尋、穀内修、クウリバリスレイマン、秋山雅行、浅川大地、嵐谷圭一、池盛文数、稲葉洋平、片岡洋行、岸川直哉、世良暢之、出口雄也、鳥羽陽、船坂邦弘、洞崎和徳、山口孝子、渡辺徹志、全国14地点における大気粉塵の変異原性及び化学成分の年内変動並びにそれらに対する長距離輸送の影響、日本環境変異原学会第40回大会、2011年

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3.その他

なし

慢性炎症に関連した疾患のバイオマーカー探索と予防

研究分担者 大島 寛史 静岡県立大学食品栄養科学部/大学院生活健康科学研究科 教授

研究要旨

慢性炎症は、がんを含む多くの国際的に重要な疾病に関与している。慢性炎症部位においては、活性酸素種と脂質、糖質やアミノ酸との反応で様々な過酸化物が生成し、生体成分(核酸、タンパク質)と反応してその機能を損傷することにより疾病の発症・進展に関与している。事実、ヒト組織から抽出した DNA やタンパク質には、脂質過酸化物由来のアルデヒド類の付加体が、数多くかつ高濃度に存在していることが、明らかになってきている。しかし、多くの付加体の構造は未決定であり、付加体を生成する可能性があるアルデヒド類についてもほとんど知られていない。そこで、本年度は、脂質、糖質やアミノ酸から生じる過酸化物由来のアルデヒド類・ケトン類の網羅的分析法の開発を行った。アルデヒド基及びケトン基を含む様々な化合物をダンシルヒドラジンと反応させ、その誘導体を LC-MS/MS 分析したところ、ダンシルヒドラジンで誘導体化された化合物は特徴的なマススペクトルの開裂を示すことが明らかになった。この特徴的な開裂を利用して、アルデヒド類・ケトン類の網羅的分析法を開発した。この方法をマウスの組織や血漿中の過酸化物の網羅的分析に応用したところ、生体内には、未知の化合物を含め約 400 種類ほどのアルデヒド類・ケトン類の存在することが明らかになった。また、4-Hydroxynonenal や 4-oxo-2-nonenal などを含む多くのアルデヒド類の濃度は、炎症惹起により、著しく増加することが明らかになった。

A. 研究目的

内臓脂肪型肥満は、がん、心血管疾患などの生活習慣病の危険因子であり、その基盤病態として、全身の軽度の炎症反応が重要であると指摘されている。炎症下においては、様々な活性酸素種・窒素種が産生されており、内臓脂質と反応して過酸化物を生成する可能性がある。事実、ヒト組織から抽出した DNA やタンパク質には、脂質過酸化物由来のアルデヒド類の付加体が、数多くかつ高濃度に存在していることが、

LC-MS を用いる DNA 付加体の網羅的解析法や特異的抗体を用いる免疫法を用いた研究から、明らかになってきている。しかし、多くの DNA やタンパク質付加体の構造は未決定であり、付加体を生成する可能性があるアルデヒド類についてもほとんど知られていない。そこで、本年度は、脂質、糖質やアミノ酸から生じる過酸化物由来のアルデヒド類・ケトン類の網羅的分析法の開発を試みた。さらに慢性炎症に関連した疾患の予防のための食品成分の探索を行った。

B. 研究方法

市販の約30種類の様々なアルデヒド基及びケトン基を含む化合物をダンシルヒドラジン (DH) など様々なヒドラジン誘導体と反応させ、その誘導体をLC-MS/MS分析した。この結果に基づいて、アルデヒド類・ケトン類の網羅的分析法を開発した。この開発した方法をLPSで炎症を惹起したマウスの組織や血漿あるいはヒトの血漿などの生体試料の分析に応用した。

また、azoxymethane (AOM)とDextran sulfate sodium (DSS)による大腸発がんモデルマウスを用いて、ヤマイモ類やそれに含まれる植物ステロールの発がん予防効果を検討し、その発がん予防機構についても解析した。(倫理面への配慮)

動物実験は、静岡県立大学の動物委員会の承認を得て、その指針に沿って実施した。また、ヒト生体試料を分析する研究は、同倫理委員会の承認を経て、指針に従って行った。

C. 研究結果

約30種類の様々なアルデヒド基及びケトン基を含む化合物をダンシルヒドラジン (DH) と反応させ、その誘導体をLC-MS/MS分析したところ、DHで誘導体化された化合物は特徴的なマススペクトルの開裂を示すことが明らかになった。この特徴的な開裂を利用して、未知の化合物を含むアルデヒド類・ケトン類の網羅的分析法を開発した。この方法をマウスの組織や血漿中の過酸化物の網羅的分析に応用したところ、生体内には、未知のものを含め約400種類ほどのアルデヒド類・ケトン類の存在すること

が明らかになった。また、4-Hydroxynonenal や 4-oxo-2-nonenal などを含む多くのアルデヒド類の濃度は、LPS投与による炎症惹起により、著しく増加することが明らかになった(Tomono et al., 投稿準備中)。これらのアルデヒド類は、慢性炎症によって発症する、がん、動脈硬化、2型糖尿病、アルツハイマー症を含む多くの国際的に重要な疾病に関与している可能性があり、今後、開発した方法を用いて、特定のアルデヒド類がこれらの疾患のバイオマーカーとなり得るかどうか詳細に検討していく。また、これらのアルデヒド類の生成機構の解明や生成予防法の開発により、日本だけでなくアジアを含む多くの国において、上記疾患の早期発見、診断、治療、予防に寄与できるものと考えられる。

一方、ヤマイモ類(ヤマイモ、自然薯、長芋など)の大腸がん予防効果について検討したところ、特に、山薬(漢方薬サンヤクとして市販されているヤマイモの乾燥品)および山薬の主成分であるDiosgeninに強い発がん予防効果を認めた。そこで、その発がん予防機構について解析したところ、山薬及びDiosgeninは、大腸上皮組織や肝臓などの組織において、抗炎症作用や脂質代謝改善効果を発揮することによって大腸発がんを予防するという分子機構が明らかになった。大腸がんは、日本のみならず世界の多くの国において、罹患者数、死亡者数の多いがんであり、その予防には多大な関心もたれている(Miyoshi et al., Cancer Prev. Res., 4, 924-2011)。

D. 考察

本年度の研究においては、LC-MS/MSを用

いて未知の化合物を含むアルデヒド類・ケトン類の網羅的分析法の開発を行った。この方法をマウスの組織や血漿中の過酸化物の網羅的分析に応用したところ、生体内には、未知のものを含め約400種類ものアルデヒド類・ケトン類の存在することが明らかになった。また、LPSで炎症を惹起したマウスの組織や血漿では、4-Hydroxynonenalや4-oxo-2-nonenalなどを含む多くのアルデヒド類の濃度が著しく増加していることが明らかになった。多くのアルデヒド類・ケトン類は、生体成分(核酸、タンパク質)と反応し、付加体を形成することにより、突然変異を誘導し、また、タンパク質の機能を損傷する。その結果、がんや炎症に関連した動脈硬化症、アルツハイマー症などの疾病の発症・進展に関与している。今後、未知のアルデヒド類・ケトン類の構造決定、核酸・タンパク質との反応性、付加体生成の可能性、特定のアルデヒド類の存在が疾患のバイオマーカーとなり得るかどうかなどについて詳細に検討していく。また、今回新たに見出したヤマモ類やその成分のDiosgeninのような抗炎症作用を示す食品成分の探索を行い、動物モデルを用いて、アルデヒド類の生成予防法の開発ならびに発がんや炎症関連疾患の発症予防に有効かどうかなどの検討を行う。

E. 結論

LC-MS/MSを用いて未知の化合物を含むアルデヒド類・ケトン類の網羅的分析法の開発を行い、その方法をマウスの組織や血漿中の過酸化物の網羅的分析に応用したところ、生体内には、未知のものを含め約40

0種類ほどのアルデヒド類・ケトン類の存在することが明らかになった。また、多くのアルデヒド類の濃度は、炎症惹起により、著しく増加することが明らかになった。今後、開発した方法を、がん、動脈硬化症、アルツハイマー症など酸化ストレスが亢進している患者からの生体試料や血液の分析に応用し、特定のアルデヒド類・ケトン類が生活習慣病の早期発見、診断のバイオマーカーとして有効かどうかなどについて検討していく。また、抗炎症作用を示す食品成分の探索にも応用し、日本だけでなくアジアを含む多くの国において、増加しているがん、動脈硬化、2型糖尿病、アルツハイマー症の予防法を開発していく。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tomono S, Miyoshi N, Shiokawa H, Iwabuchi T, Aratani Y, Higashi T, Nukaya H, **Ohshima H.** Formation of cholesterol ozonolysis products *in vitro* and *in vivo* through a myeloperoxidase-dependent pathway. *J. Lipid Res.*, (2011) **52**, 87-97.
2. Miyoshi N, Nagasawa T, Mabuchi R, Yasui Y, Wakabayashi K, Tanaka T, **Ohshima H.** Chemoprevention of azoxymethane/dextran sodium sulfate-induced mouse colon carcinogenesis by freeze-dried yam *sanyaku* and its constituent diosgenin. *Cancer Prev. Res.*, (2011) **4**, 924-34.

3. Tomono S, Miyoshi N, Ito M, Higashi T, **Ohshima H.** A highly sensitive LC-ESI-MS/MS method for the quantification of cholesterol ozonolysis products secosterol-A and secosterol-B after derivatization with 2-hydrazino-1-methylpyridine. *J.Chromatogr. B*, (2011) **879**, 2802-8.
 4. Miyoshi N, Wakao Y, Tomono S, Tatemichi M, Yano T, **Ohshima H.** The enhancement of the oral bioavailability of γ -tocotrienol in mice by γ -cyclodextrin inclusion. *J. Nutr. Biochem.*, (2011) **22**, 1121-6.
 5. Lai YL, Tomono S, Miyoshi N, **Ohshima H.** Inhibition of endothelial- and neuronal-type, but not inducible-type, nitric oxide synthase by the oxidized cholesterol metabolite secosterol aldehyde: Implications for vascular and neurodegenerative diseases. *J.Clin.Biochem.Nutr.*, (2012) **50**, 84-9.
 6. Mabuchi R, Kurita A, Miyoshi N, Yokoyama A, Furuta T, Goda T, Suwa Y, Kan T, Amagai T, **Ohshima H.** Analysis of N^{ϵ} -ethyllysine in human plasma proteins by gas chromatography-negative ion chemical ionization/mass spectrometry as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol. *Alcohol.Clin. Exp. Res.*, (2012) *in press*
 7. Lai YL, Aoyama S, Ohata M, Otsuka N, Shiokawa H, Tomono S, Fujiwara Y, Kanazawa H, Miyoshi N, **Ohshima H.** Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase/asymmetric dimethylarginine pathway in rat type II diabetic nephropathy. *J.Clin.Biochem.Nutr.*, (2012) *in press*
 8. **大島寛史**、三好規之、伴野 勸、抗ストレス食品の生化学的評価、横越英彦 編 「抗ストレス食品の開発と展望II」、シーエムシー出版、東京、(2011) pp 41-47.
- 2.学会発表
1. 三好規之、大畑美幸、浅井奈津子、頼盈伶、金澤寛明、**大島寛史**「糖尿病モデルマウス腎臓での糖化反応と血管拡張因子NOの産生阻害」第11回日本NO学会学術集会(東京)2011年5月
 2. 伴野勸、岩崎希、三好規之、**大島寛史**「エステル型 secosterol 類のヒトLDLコレステロールからの検出と細胞毒性」第75回日本生化学会中部支部例会(静岡)2011年5月
 3. 長澤友樹、三好規之、田中卓二、武藤倫弘、若林敬二、**大島寛史**「肥満マウスKK-A^yにおける山薬およびジオスゲニンの aberrant crypt foci 形成抑制」第18回日本がん予防学会(京都)2011年6月
 4. 三好規之、伴野勸、頼盈伶、東達也、荒谷康昭、**大島寛史**「Secosterol 型コレステロール酸化物の生体内生成機構と生理活性」第64回日本酸化ストレス学会(北海道)2011年7月

5. 米持巧、中村宜督、加藤陽二、大島寛史、三好規之「イソチオシアネート結合タンパク質の網羅的探索法の開発」第20回フードサイエンスフォーラム（宮崎）2011年9月
 6. 山田雄司、栗田亜也、馬淵良太、伴野勸、三好規之、大島寛史「ヒト肝がん細胞HepG2におけるHep27タンパク質のアセトアルデヒド修飾」第84回日本生化学会（京都）2011年9月
 7. 永井竜児、島崎智子、三好規之、大島寛史、永井美芽「新規糖化反応後期生成物： N^{ω} -(carboxyethyl)arginine (CEA)の免疫化学的な血中濃度の測定」第84回日本生化学会（京都）2011年9月
 8. Miyoshi N, Nagasawa T, Tanaka T, Wakabayashi K, Noguchi H, Ohshima H: Chemopreventive effects of freeze-dried yams and its constituent diosgenin on mouse colon carcinogenesis. 4th International Conference of Health and Longevity Sciences, Shizuoka, Japan Oct. 21 (2011)
 9. 三好規之、長澤友樹、浅井奈津子、田中卓二、若林敬二、野口博司、大島寛史「ヤムイモ（山薬）およびその有効成分ジオスゲニンによる大腸発がんの化学予防」第4回食品薬学シンポジウム（東京）2011年10月
 10. Miyoshi N, Yonemochi T, Nakamura Y, Ohshima H: Development of a comprehensive analytical method for identification of isothiocyanates-binding proteins. International conference on Food Factors, Taipei, Taiwan Nov. 20-23 (2011)
 11. Yonemochi T, Nakamura Y, Ohshima H, Miyoshi N: Identification of target proteins responsible for chemopreventive activities of isothiocyanates in human colon cancer HCT116 cells. International conference on Food Factors, Taipei, Taiwan Nov. 20-23 (2011)
 12. Asai N, Ohata M, Miyoshi N, Kanazawa H, Ohshima H: Anti-obesity effects of Chinese yam sanyaku and its constituent diosgenin in type II diabetic KK-A^y mice fed a high-fat diet. 2011 International conference on Food Factors, Taipei, Taiwan Nov. 20-23 (2011)
 13. 馬淵良太、三好規之、横山顕、諏訪芳秀、栗木清典、合田敏尚、雨谷敬史、大島寛史: Analysis of N^{ϵ} -ethyllysine in human plasma proteins as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol. 日本環境変異原学会第40回大会（東京）2011年11月
 14. 三好規之、米持巧、中村宜督、大島寛史「がん予防食品因子イソチオシアネート結合タンパク質の探索」日本農芸化学会2012年度大会（京都）2012年3月
 15. 富岡三貴、伴野勸、三好規之、大島寛史「LC-MS/MSを用いたSIRT1活性測定法の開発」日本農芸化学会2012年度大会（京都）2012年3月
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし

遺伝子改変マウスを用いた発がんの抑制に関する分子遺伝学的研究

研究分担者 續 輝久 九州大学 大学院医学研究院 教授

研究要旨

電離放射線や環境中の化学物質および生体内での通常の代謝活動によって生じる活性酸素によって DNA やその基質であるヌクレオチドは常に酸化されている。このような酸化ストレスによって生じる酸化 DNA 損傷は生体において自然突然変異を引き起こし、自然発がんの主要な原因と考えられている。私達は酸化剤 KBrO_3 をマウスに飲水投与することにより消化管における酸化ストレス誘発発がん実験系を開発し、酸化ストレス誘発発がんを制御する（遺伝）因子の検索・同定を行っている。突然変異や自然発がんの抑制に関与している *Mutyh*, *Ogg1*, *Trp53* 遺伝子をそれぞれ欠損したマウスを用いて、酸化ストレス誘発発がん実験を行った結果、*Mutyh* 遺伝子欠損および *Trp53* 遺伝子欠損マウスでの小腸上皮性腫瘍の発生頻度は著しく上昇していたのに対し、*Ogg1* 遺伝子欠損マウスではそのような顕著な上昇は認められなかった。以前、私達は KBrO_3 誘発突然変異実験を行い、*Mutyh* および *Ogg1* 遺伝子欠損マウスではそれぞれ同程度に G:C → T:A トランスバージョン型変異が顕著に増加することを見いだしている。P53 は DNA 損傷による細胞死誘導に関与し、また MUTYH が酸化 DNA 損傷により引き起こされる細胞死に関わっていることが報告されている。これらの知見と今回の実験結果とを合わせて考えると、酸化ストレス誘発消化管発がんの抑制には、酸化 DNA 損傷に起因する突然変異の抑制よりも細胞死の制御が大きく関与していることが推測される。

A. 研究目的

遺伝子欠損マウスを用いて、これまでに *MUTYH* 遺伝子に欠損を持つ MAP 患者では酸化ストレスに起因する自然突然変異が大腸腺腫症を引き起こすことを示した。同時に、酸化剤である KBrO_3 の飲水投与による消化管での酸化ストレス誘発発がん系を確立した。本研究では、この系を展開して、p53 による酸化ストレスに起因する発がんの抑制に果たす役割を解明し、大腸がんの

発がん機序との関係を考察する。

B. 研究方法

本研究では、ゲノムの守護神としてアポトーシス誘導および修復遺伝子の発現調節に関与するがん抑制遺伝子 *Trp53* を欠損したマウスを用いて、1) 酸化剤で食品添加物として使用されている KBrO_3 を飲水投与し、酸化ストレス誘発発がん解析を行い、2) 酸化ストレス負荷条件下における各種

DNA 修復関連遺伝子の発現解析、および、

3) 酸化ストレス誘発消化管腫瘍を用いた癌関連遺伝子の変異解析を行う。

(倫理面への配慮)

動物実験の実施に際しては、九州大学の動物実験委員会の承認を得て、九州大学動物実験規則に従い、実験動物に対する動物愛護に関して十分配慮して行った。

C. 研究結果

私達は、活性酸素による DNA 損傷と自然突然変異及び発がんとの関連を調べ、その過程を分子レベルで解明するために、各種修復系遺伝子欠損マウスの消化管での酸化ストレスで誘発される突然変異・発がんの解析を進めている。今回、野生型、p53 の遺伝子のヘテロ欠損、ホモ欠損マウスそれぞれ 5 匹を用いて消化管での酸化剤 KBrO₃ で誘発される発がんの解析を行った。その結果、それぞれの遺伝子型マウス個体当りの平均腫瘍数は 1.0, 2.2, 9.2 であった。この結果は、p53 遺伝子が酸化ストレスによる消化管がんの発生を抑制している事を示す。p53 ホモ欠損マウスに誘発された腫瘍の *Cttnb1* 遺伝子の解析の結果、これまでに 13 例の腫瘍から G→A 変異を 2 例、G→T 変異を 1 例見いだした。p53 は、酸化 DNA 損傷である 8-oxo-dG を DNA から切出して DNA 酸化による突然変異を抑制する DNA 修復酵素 OGG1 の発現を調節する事が報告されている。現在、野生型と p53 ホモ欠損マウスを用いて、酸化剤投与および非投与のマウス腸管における DNA 修復酵素 OGG1 および MUTYH の遺伝子発現を、Real-time PCR 法を用いた解析を行な

D. 考察

今回の実験結果は、p53 が酸化ストレスによる消化管がんの発生を抑制している事を明確に示している。酸化ストレスによる突然変異生成を抑制している OGG1 を欠損したマウスでは KBrO₃ で誘発される腫瘍数は野生型の約 2 倍で、今回の結果は OGG1 よりも p53 の方が酸化ストレス誘発がんの抑制に、大きな役割を果たしていることを示唆する。KBrO₃ 誘発突然変異実験では、MUTYH および OGG1 欠損マウスでは同程度に 8-oxo-dG に起因する G→T 変異が顕著に増加するが、p53 欠損マウスに生じた腫瘍では、顕著な G→T 変異の上昇は認められていない。p53 は DNA 損傷による細胞死誘導に関与し、また MUTYH は酸化 DNA 損傷により引き起こされる細胞死に関わっていることが報告されている。これらの知見と今回の結果とを合わせて考えると、酸化ストレス誘発消化管がんの抑制には、酸化 DNA 損傷による突然変異の抑制よりも細胞死誘導が大きく関与していることが推測される。

E. 結論

酸化剤 KBrO₃ をマウスに飲水投与することにより消化管における酸化ストレス誘発がん感受性を検討する実験系を用いて、*Trp53* 遺伝子を欠損したマウスにおける酸化ストレス誘発がん実験を行った結果、*Trp53* 遺伝子欠損マウスでの小腸上皮性腫瘍の発生頻度は野生型と比較して約 9 倍上昇していた。従って、ゲノムの守護神としてアポトーシス誘導および修復遺伝子の発

現調節に關与する p53 は酸化ストレスによる消化管発がんの抑制に重要な働きをしていることが明らかになった。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Lim T-H, Fujikane R, Sano S, Sakagami R, Nakatsu Y, Tsuzuki T, Sekiguchi M, Hidaka M, Activation of AMP-activated protein kinase by MAPO1 and FLCN induces apoptosis triggered by alkylated base mismatch in DNA. DNA Repair, 11: 259-266, 2012.

2. 学会発表

1. 大野みずき、中西恵美、續 輝久、マウス小腸における放射線誘発酸化損傷塩基の解析、日本分子生物学会第 34 回年会、2011 年

2. Teruhisa Tsuzuki, Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of Mutyh-deficient mice: the effect of low-level exposure to KBrO₃, The 2nd International Symposium on Genotoxic and Carcinogenic Thresholds (第 2 回遺伝毒性発がん物質の閾値に関する国際シンポジウム)、2011 年

3. 大野みずき、中西恵美、續 輝久、マウス腸管における放射線誘発酸化 DNA 損傷の解析、日本環境変異原学会第 40 回大会、2011 年

4. 大野みずき、中西恵美、續 輝久、マウス小腸における放射線誘発酸化損傷塩基の解析、日本放射線影響学会第 54 大会、2011 年

5. 大野みずき、作見邦彦、古市正人、中西恵美、續 輝久、中別府雄作、8-oxoguanine は DNA 鎖切断を誘発することで減数分裂期の相同染色体組換え頻度を上昇させる、日本遺伝学会第 83 会大会、2011 年

6. Teruhisa Tsuzuki, Jingshu Piao, Noritaka Matsumoto, Yoshimichi Nakatsu, Antitumorigenic effects of p53 and mismatch DNA repair system on oxidative stress-induced intestinal tumors in mice, 14th International Congress of Radiation Research, 2011 年

7. Mizuki Ohno, Megumi Nakanish, Teruhisa Tsuzuki, A study of radiation-induced oxidative DNA damage and its repair in mouse tissues, 14th International Congress of Radiation Research, 2011 年

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし。

2. 実用新案登録
特になし。

3. その他
特になし。