

Table 5. Total Number and Multiplicity of Hyperplastic or Neoplastic Lesions in the Colon

Dammar resin (%)	No. of rats	Adenocarcinoma		Mucinous carcinoma		Total carcinoma	
		Total No.	Multiplicity	Total No.	Multiplicity	Total No.	Multiplicity
0	14	2	0.1±0.4	2	0.1±0.4	4	0.3±0.5
0.03	15	1	0.1±0.3	1	0.1±0.3	2	0.1±0.4
2	15	0	0.0±0.0	1	0.1±0.3	1	0.1±0.3

^a : Average number of lesions ± S.D.

Table 6. Total Number and Multiplicity of Hyperplastic or Neoplastic Lesions in the Kidney

Dammar resin (%)	No. of rats	Atypical hyperplasia, tubule cell		Adenoma, tubule cell		Carcinoma, tubule cell	
		Total No.	Multiplicity ^a	Total No.	Multiplicity	Total No.	Multiplicity
0.00	14	34	2.4 ± 1.7	9	0.6 ± 0.6	2	0.1 ± 0.4
0.03	15	62	4.1 ± 2.9	8	0.5 ± 0.6	3	0.2 ± 0.4
2.00	15	15	1.0 ± 0.8*	4	0.3 ± 0.5	1	0.1 ± 0.3

Dammar resin (%)	No. of rats	Nephroblastoma		Hyperplasia, transitional cell		Carcinoma, transitional cell	
		Total No.	Multiplicity	Total No.	Multiplicity	Total No.	Multiplicity
0.00	14	5	0.4 ± 0.5	0	0.0 ± 0.0	1	0.1 ± 0.3
0.03	15	6	0.4 ± 0.6	0	0.0 ± 0.0	1	0.1 ± 0.3
2.00	15	0	0.0 ± 0.0	1	0.1 ± 0.3	1	0.1 ± 0.3

^a : Average number of lesions ± S.D.

* : Significantly different from control group at P<0.05.

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
食品添加物等における遺伝毒性・発がん性の短期包括的試験法の開発に関する研究
平成 23 年度分担研究報告書

遺伝子のメチル化異常に関する研究

分担研究者：辻内 俊文 近畿大学理工学部生命科学科 教授

研究要旨

本研究は、既存添加物の一つであるダンマル樹脂による肝細胞癌発生の分子機構を細胞レベルで明らかにする目的で、ラット肝上皮細胞の細胞運動・浸潤能に対するダンマル樹脂の影響を検索した。その結果、低濃度のダンマル樹脂で処理した細胞では、未処理の細胞に比して有意な細胞運動能の亢進が見られた。また、gelatin zymography を用いた細胞外基質分解酵素(matrix metalloproteinases; MMPs)の発現と活性への影響を検索したところ、ダンマル樹脂で処理した細胞において有意な MMP 発現・活性上昇が見られた。本研究結果より、ダンマル樹脂による細胞運動・浸潤能の促進作用もラット肝細胞癌発生機構に重要な役割を演じることが示された。

A. 研究目的

既存添加物の一つであるダンマル樹脂によるラット肝細胞癌発生の分子機構を明らかにする目的で、genetic な異常が重要であることがこれまでの研究により判明している。本研究は、ダンマル樹脂による肝細胞癌発生の分子機構をさらに細胞レベルで明らかにする目的で、ラット肝上皮細胞の細胞運動・浸潤能に対するダンマル樹脂の影響を検索した。

B. 研究方法

ラット肝上皮細胞 WB-F344 にダンマル樹脂を低濃度で 48 時間処理した後、Cell Culture Insert (8mm)を用いて細胞運動能の解析を行った。さらに、ダンマル樹脂で処理した細胞における細胞外基質分解酵素(matrix metalloproteinases (MMPs)の発現と活性に及ぼす影響をリアルタイム RT-PCR 法と gelatin zymography を用いて検索した。

(倫理面への配慮)

該当せず

C. 研究結果

低濃度のダンマル樹脂で処理した細胞では、未処理の細胞に比して有意な細胞運動能の亢進が見られた。また、ダンマル樹脂で処理した WB-F344 細胞では未処理の細胞に比して *Mmp-2* と *Mmp-9* の発現上昇と *Mmp-2* の活性化が検出された。

D. 考察

ダンマル樹脂によるラット肝細胞癌発生の分子機構を明らかにする目的で、genetic な異常が重要であることがこれまでの研究により判明している。本研究は、ダンマル樹脂による肝細胞癌発生の分子機構をさらに細胞レベルで明らかにする目的で、ラット肝上皮細胞の細胞運動・浸潤能に対するダンマル樹脂の影響を検索した。その結果、低濃度のダンマル樹脂で処理した細胞では、未処理の細胞に比して有意な細胞運動能の亢進が見られた。また、gelatin zymography を用いた細胞外基質分解酵素(matrix metalloproteinases; MMPs)の発現と活性への影響を検索したところ、ダンマル樹脂で処理した細胞において有意な MMP 発現・活性上昇が見られた。本研究結果より、ダンマル樹脂による細胞運動・浸潤能の促進作用もラット肝細胞癌発生機構に重要な役割を演じることが示された。

ダンマル樹脂によるラット肝細胞癌発生の分子機構を明らかにする目的で、genetic な異常が重要であることがこれまでの研究により判明している。本研究は、ダンマル樹脂による肝細胞癌発生の分子機構をさらに細胞レベルで明らかにする目的で、ラット肝上皮細胞の細胞運動・浸潤能に対するダンマル樹脂の影響を検索した。その結果、低濃度のダンマル樹脂で処理した細胞では、未処理の細胞に比して有意な細胞運動能の亢進が見られた。また、gelatin zymography を用いた細胞外基質分解酵素(matrix metalloproteinases; MMPs)の発現と活性への影響を検索したところ、ダンマル樹脂で処理した細胞において有意な MMP 発現・活性上昇が見られた。本研究結果より、ダンマル樹脂による細胞運動・浸潤能の促進作用もラット肝細胞癌発生機構に重要な役割を演じることが示された。

E. 結論

ダンマル樹脂によるラット肝細胞癌発生の分子機構を明らかにする目的で、genetic な異常が重要であることがこれまでの研究により判明している。本研究は、ダンマル樹脂による肝細胞癌発生の分子機構をさらに細胞レベルで明らかにする目的で、ラット肝上皮細胞の細胞運動・浸潤能に対するダンマル樹脂の影響を検索した。その結果、低濃度のダンマル樹脂で処理した細胞では、未処理の細胞に比して有意な細胞運動能の亢進が見られた。また、gelatin zymography を用いた細胞外基質分解酵素(matrix metalloproteinases; MMPs)の発現と活性への影響を検索したところ、ダンマル樹脂で処理した細胞において有意な MMP 発現・活性上昇が見られた。本研究結果より、ダンマル樹脂による細胞運動・浸潤能の促進作用もラット肝細胞癌発生機構に重要な役割を演じることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

K.Kato, R.Fukui, K.Okabe, E.Tanabe, M.Kitayoshi, N.Fukushima, T.Tsujiuchi. Constitutively active lysophosphatidic acid receptor-1 enhances the induction of matrix metalloproteinase-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 417 (2012) 790-793.

Okabe K, Hayashi M, Kato K, Okumura M, Fukui R, Honoki K, Fukushima N, Tsujiuchi T. Lysophosphatidic acid receptor-3 increases tumorigenicity and aggressiveness of rat hepatoma

RH7777 cells. Mol. Carcinog. (2012) DOI: 10.1002/mc.21851.

Hayashi M, Okabe K, Kato K, Okumura M, Fukui R, Fukushima N, Tsujuchi T. Different function of lysophosphatidic acid receptors in cell proliferation and migration of neuroblastoma cells. Cancer Lett. 2012(316)91-96.

2. 学会発表

加藤紘平、奥村真衣、朴木寛弥、辻内俊文.ハムスター膀胱癌培養細胞の悪性能獲得におけるLPA受容体の関与第70回日本癌学会総会, 10月3日-5日, 名古屋, 2011(日本癌学会誌プログラムP-3128, p.271)

H.知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

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

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
<u>Wei M, Wanibuchi H, Nakae D, Tsuda H, Takahashi H, Hirose M, Totsuka M, Tatematsu M, Fukushima S.</u>	Low-dose carcinogenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in rats: Evidence for the existence of no-effect levels and a mechanism involving p21Cip/WAF1.	Cancer Sci.	102	88-94	2011
Kakehashi A, Ishii N, Shibata T, <u>Wei M</u> , Okazaki E, Tachibana T, Fukushima S, <u>Wanibuchi H.</u>	Mitochondrial prohibitins and septin 9 are implicated in the onset of rat hepatocarcinogenesis.	Toxicol Sci.	119	61-72	2011
Chusiri Y, Wongpoomchai R, Kakehashi A, <u>Wei M, Wanibuchi H</u> , Vinitketkumnuan U, Fukushima S.	Non-genotoxic mode of action and possible threshold for hepatocarcinogenicity of Kojic acid in F344 rats.	Food Chem Toxicol.	49	471-476	2011
Hoshi H, Sawada T, Uchida M, Saito H, Iijima H, Toda-Agetsuma M, Wada T, Yamazoe S, Tanaka H, Kimura K, Kakehashi A, <u>Wei M</u> , Hirakawa K, <u>Wanibuchi H.</u>	Tumor-associated MUC5AC stimulates in vivo tumorigenicity of human pancreatic cancer.	International journal of oncology.	38	619-627	2011

Ishii N, <u>Wei M</u> , Kakehashi A, Doi K, Yamano S, Inaba M, <u>Wanibuchi H</u> .	Enhanced urinary bladder, liver and colon carcinogenesis in Zucker diabetic fatty rats in a multri-organ carcinogenesis: Evidence for mechanisms involving activation of PI3K signaling and impairment of p53 on urinary bladder carcinogenesis.	J Toxicol Pathol.	24	1-12	2011
Kohata Y, Fujiwara Y, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Tanigawa T, Watanabe K, Watanabe T, Tominaga K, <u>Wei M</u> , <u>Wanibuchi H</u> , Arakawa T.	Role of Th-2 cytokines in the development of Barrett's esophagus in rats.	J Gastroenterol.	46	883-893	2011
Chung K, Nishiyama N, Yamano S, Komatsu H, Hanada S, <u>Wei M</u> , <u>Wanibuchi H</u> , Suehiro S, Kakehashi A.	Serum AGR2 as an early diagnostic and postoperative prognostic biomarker of human lung adenocarcinoma.	Cancer Biomark.	10	101-107	2011
Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Saoo K, Kuno T, <u>Imaida K</u> .	Lack of promoting effects from physical pulmonary collapse in a female A/J mouse lung tumor initiated with 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1- butanone (NNK) with remarkable mesothelial cell reactions in the thoracic cavity by the polymer.	Exp. Toxicol. Pathol.	63	181-185	2011
久野 壽也, 竿尾光祐, 横平 政直, 白井 高利, 岩井純子, 木田 孝志, <u>今井田克己</u>	胆石様胆道閉塞像を示した原発巣不明胆管内発育型肝細胞癌の1例.	診断病理	28	186-189	2011
K. Okabe et al.	Induction of lysophosphatidic acid receptor-3 by 12-O-tertadecanolphorbol-13 -acetate stimulates cell migration of rat liver cells.	Cancer Lett.	309	236-242	2011
K. Okabe et al.	Possible involvement of lysophosphatidic acid receptor-5 gene in the aquisition of growth advantage of rat tumor cells.	Mol. Carcinog.	50	635-642	2011
M Hayashi et al.	Loss of lysophosphatidic acid receptor-3 enhances cell migration in rat lung tumor cells.	BBRC	405	450-454	2011
K. Okabe et al.	Distinct DNA methylation patterns of lysophosphatidic acid receptor genes during rat hepatocarcinogenesis induced by a choline	Arch. Toxicol.	85	1303-1310	2011

	deficient L-amino acid defined diet.				
Nakatani S, <u>Wei M</u> , Ishimura E, Kakehashi A, Mori K, Nishizawa Y, Inaba M, <u>Wanibuchi</u> <u>H.</u>	Proteome analysis of laser microdissected glomeruli from formalin-fixed paraffin-embedded kidneys of autopsies of diabetic patients: nephronectin is associated with the development of diabetic glomerulosclerosis.	Nephrol Dial Transpl.	27	1889-1897	2012
Kakehashi A, Tago Y, Yoshida M, Suokuza Y, <u>Wei M</u> , Fukushima S, <u>Wanibuchi H.</u>	Hormonally active doses of isoflavone aglycones promote mammary and endometrial carcinogenesis and alter the molecular tumor environment in donryu rats.	Toxicol Sci.	126	39-51	2012
K.Kato et al.	Constitutively active lysophosphatidic acid receptor-1 enhances the induction of matrix metalloproteinase-2.	BBRC	417	790-793	2012
K. Okabe et al.	Lysophosphatidic acid receptor-3 increases tumorigenicity and aggressiveness of rat hepatoma RH7777 cells.	Mol. Carcinog.	DOI: 10.1002/mc.21851		2012
M. Hayashi et al.	Different function of lysophosphatidic acid receptors in cell proliferation and migration of neuroblastoma cells.	Cancer Lett.	316	91-96	2012
Nakatani S, Kakehashi A, Ishimura E, Yamano S, Mori K, <u>Wei M</u> , Inaba M, <u>Wanibuchi H.</u>	Targeted proteomics of isolated glomeruli from the kidneys of diabetic rats: Sorbin and SH3 domain containing 2 is a novel protein associated with diabetic nephropathy.	Exp Diabetes Res.	doi:10.1155/2011/979354		2012
Xie XL, <u>Wei M</u> , Kakehashi A, Yamano S, Tajiri M, <u>Wanibuchi H.</u>	2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinoline (IQ) promotes mouse hepatocarcinogenesis by activating transforming growth factor- β and Wnt/ β -catenin signaling pathways.	Toxicol Sci.	125	392-400	2012

