

大腸を標的とする中・短期発がんモデルの開発に関する研究

研究分担者 吉見 直己 琉球大学大学院医学研究科・腫瘍病理学講座 教授

研究要旨

本研究の目的の一つは、多施設で実施される動物実験の共有化であり、専門にしていない施設での臓器特有病変の検索のためのマニュアルを昨年度に作成した。そのマニュアルを用いて、他施設で得られた大腸粘膜の検討を実施し、従来、大腸発がんの報告がなされていない化学物質の一部に、当施設で提唱するラット大腸前がん病変を少数確認した。また、マウス二段階大腸発がんモデルでの大腸前がん病変に関して検討したところ、ラット大腸発がんモデルのような粘液枯渇病巣(mucin-depleted foci ; MDF)の特定が困難であったが、隆起性変化を呈する大腸変異巣(aberrant crypt foci ; ACF)は特定できた。

A . 研究目的

ヒト大腸発がん過程において、腺腫・癌連鎖仮説で説明がつかない平坦型大腸癌が最近注目されている。動物モデルでみられる mucin-depleted foci (MDF)は平坦型の前がん病変の可能性がある。そのため、従前から動物モデルでの前がん病変として認識され、発がん予測バイオマーカーとして利用されている aberrant crypt foci (ACF)との病理組織学的な経時的な変化に関して検討し、本研究目的である中・短期での発がん試験への利用の可能性を検討した。

加えて、多施設での専門領域別エキスパート診断による発がん性予測検査法の開発の可能性の検証を、昨年度に作成した臓器摘出マニュアルを用いて、多施設での動物実験から得られる大腸粘膜で検討した。

B . 研究方法

1. 多施設共有システムでの大腸粘膜の早期病変の確認

香川大, 名市大, 国立衛研からの検体に関して検討した。香川大では肺臓モデルに使用される N,N-bis(2-hydroxypropyl)nitrous amine (DHPN) を飲料水として, また Urethane, N-Nitrosodimethylamine (DMN), Benzopyrene(BP)は i.p. 処理され, 16 週ないし 32 週後の雄 F344 ラット大腸粘膜を観察した。名市大は 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB), N-Nitroso-N-methyl-urea(MNU), N-Nitrosodimethylamine (DMN), 1,2-dimethylhydrazine (DMH)を 4 週間 i.g. 投与された雄 F344 ラット大腸粘膜, 国立衛研からは 2-Acetamidofluorene (2-AAF), p-Cresidine, dimethylarsenic acid (DMA), Glycidol, N-Nitrosodiethylamine (DEN), acrylamide をそれぞれ種々の投与方法で処理された雄 F344 ラットないし雄 B6C3F1 マウス大腸粘膜を観察した。

2. マウス二段階大腸発がんモデルでの ACF と MDF の確認

5 週齢の雄性 ICR マウス 21 匹に azoxymethane(10 mg/kg BW)を 1 回腹腔内投与し、その 1 週間後から 1.5% dextran sulfate sodium を 7 日間飲水投与した。実験開始から 12 週目に大腸を摘出し、ACF および MDF の測定および 3 mm 以上の隆起性病変について病理組織学的解析を行った。

(倫理面への配慮)

倫理面の配慮については、琉球大学動物実験施設の実験動物委員会から動物実験の許可を得て、動物実験指針を遵守して行い、動物愛護に十分に配慮した。

C . 研究結果

1. 多施設共有システムでの大腸粘膜の早期病変の確認

名市大, 国立衛研からの大腸粘膜では, ACF は観察されなかった。

香川大の検体のうち, 0.1%DHPN2 週間飲水投与大腸粘膜に, ACF を 25.7 ± 9.2 (16 週), 29.0 ± 9.7 (32 週)を観察した。4 個以上の腺管を有するものも観察され, 一部その組織像も確認したが, 明らかな異型腺管増生を認め, 微少腺腫と考えられ, 対象物質の主なる標的臓器ではないために, 顕在化しないまでも, 物質の発がん性を有する可能性が示唆された。また, BP においても, 32 週で 1.75 ± 0.96 と少数ながら観察された。尚, 検討された他物質では ACF および MDF の検出はなかった。

2. マウス二段階大腸発がんモデルでの ACF と MDF の確認

今回の 12 週時でのマウスの系ではラットにおける MDF は確認できず, ACF のみ確認できた。ACF は 23.8 ± 14.3 で, ラットに比べて比較的発生数は少なかった。3mm 以上の隆起性病変のうち, 9 個に異型腺管増生を認め, うち 8 個は高異型腺腫

ないし高分化型管状腺癌を認めた。

D. 考察

昨年度までに、懸案であった多施設間共有システム構築のための共有臓器摘出マニュアルを作成したが、実際に、多施設における動物実験で得られた大腸粘膜での検討において、肺がんモデルで利用される DHPN や BP において、従来、大腸は標的臓器としての文献的な報告はみられないものの、今回、大腸粘膜で ACF および微小腺腫と考えられる小巣が多数認められた。従来の発がん試験では、顕在化した腫瘍性病変のみでの検索であったことを考えると、臓器特異的な専門家による病理組織学的検索の重要性を示唆したものと思われる。本研究班での目的でもある病理組織学的な早期病変の同定の重要性が示されるとともに、発がん性未知の化学物質を検討する上で、こうした多施設での共同試験システムにより、精度を高く維持しながら、相対的に動物数の軽減につながれると考えられた。

尚、マウス二段階大腸発がんモデルでは期待していた MDF の発現は特定できず、ACF での予測にのみが可能と思われ、動物種の違いを改めて確認した。

E. 結論

マウスモデルでの大腸に関する発がん性予測は ACF により可能と考えられた。また、新規化学物質リスク予測に、多施設共同システムの構築とそのエキスパートによる病理組織診断により、発がん予測を模索できると思われた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morioka T, Yoshimi N et al. Ionizing radiation, inflammation, and their interactions in colon carcinogenesis in Mh1-deficient mice. Cancer Sci, 106: 217-226, 2015.

2. 学会発表

- 1) 渡慶次愛、高松玲佳、新垣和也、仲地里織、吉見直己：沖縄産天然物質 A のマウス大腸発癌モデルにおける抑制効果。第 32 回日本毒性病理学会総会及び学術総会, 2016 年 1 月、高松

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし