

氏名（本籍）	智 慧 蘭（中華人民共和国）
学位の種類	博 士（医学）
学位授与番号	甲第 742 号
学位授与日付	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Effect of 2-(Carboxyphenyl) Retinamide and Genistein on the Formation of Early Lesions in 1,2-Dimethylhydrazine-induced Colon Carcinogenesis in Rats
審 査 委 員	（主査）教授 森 秀 樹 （副査）教授 吉 田 和 弘 教授 森 脇 久 隆

### 論文内容の要旨

#### 【背景】

Aberrant crypt foci(ACF)は、発がん物質の投与を受けた齧歯類大腸表面において、顕微鏡的に認識される病変として、1987 年 Bird 等により報告された。ACF は、広く一般に大腸前癌病変として認識されており、発がん性のバイオマーカーとして頻繁に用いられてきた。しかし、2-(carboxyphenyl)retinamide(2-CPR)や genistein は、ラットを用いた化学発がんモデル実験において、ACF の発現を低下させるにもかかわらず、腫瘍発生を促進させることが知られ、ACF の前癌病変としての意義はいまだ不明な点が多い。最近我々は同様の動物モデルにおいて、新規の早期粘膜病変  $\beta$ -catenin-accumulated crypts(BCAC)を同定し、分子生物学的或いは形態学的検索により ACF よりも BCAC が直接の前がん病変である可能性が高いことを示した。本実験では、2-CPR および genistein による、二種の早期病変 ACF と BCAC に対する影響を比較検討し、BCAC の短期バイオマーカーとしての可能性を検討した。同時に、増殖能の評価として大腸粘膜の proliferating cell nuclear antigen(PCNA)陽性細胞率を各群間で比較検討した。

#### 【方法】

5 週齢雄 F344 ラットに 1,2-dimethylhydrazine (DMH)(30mg/kg bw)を週一回、計 3 回皮下注射にて投与した。2-CPR および genistein はそれぞれ 315 ppm、250 ppm の濃度にて、5 週齢より屠殺まで 9 週間混餌投与した。ラットは 14 週齢にて屠殺、大腸前癌病変について検索を行った。ACF は大腸粘膜表面をメチレンブルーにて染色後、顕微鏡下に同定した。BCAC は、ACF を検索後の大腸粘膜を用いて、水平方向に連続切片を作製、HE 染色とともに  $\beta$ -catenin 免疫染色にて同定した。PCNA 免疫染色にて ACF と BCAC に対する細胞増殖活性について観察評価した。

#### 【結果】

実験の結果、2-CPR(315ppm)投与により、ACF の frequency (per colon)と crypt multiplicity (No. of crypts/ACF) , サイズ(直径)が基礎食投与群に比べて有為に抑制された。(それぞれ  $p<0.05$ ,  $p<0.05$  及び  $p<0.005$ )。Genistein (250ppm) 投与群では、ACF 形成に影響は認められなかった。

一方で、2-CPR 投与は、同一粘膜において形成された BCAC の crypt multiplicity とサイズを増加させた ( $p<0.05$ )。特に 7crypt/focus 以上の大きな BCAC 形成を有意に増加させた( $p<0.05$ )。同様に genistein 投与も、BCAC の crypt multiplicity とサイズを増加させた(それぞれ  $p<0.05$ ,  $p<0.005$  )。特

に 7crypt/focus 以上 の大きな BCAC 形成を有意に増加させた( $p<0.01$ )。2-CPR と genistein は BCAC 総数(frequency)には影響を及ぼさなかった。

PCNA-labeling index は、2-CPR と genistein の投与により、ACF では変化が見られなかったが、BCAC では基礎食投与群に比べて、有意に増加した( $p<0.05$ )。

#### 【考察】

この結果は、既に報告されている 2-CPR および genistein による腫瘍形成促進効果に矛盾せず、BCAC が大腸がん発生のバイオマーカーとして有用であることを示唆するものと考ええる。また 2-CPR および genistein による BCAC の促進機序として、細胞増殖活性亢進が関与することが示唆された。以上の結果は、BCAC が ACF に比し、より直接的な大腸前癌病変であることを示していると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 智 慧蘭は、大腸発がんマウスモデルにおける 2 種類の早期出現病変である ACF と BCAC の比較検索を行い、両者の明確な区分を証明し、BCAC がより直接的な前がん病変であることを示した。本研究の成果は大腸発がん様式の研究上有意義であり、発がんリスク、化学発癌予防の実践にも寄与すると考えられる。

---

#### [主論文公表誌]

Effect of 2-(carboxyphenyl) Retinamide and Genistein on the Formation of Early Lesions in 1,2-dimethylhydrazine-induced Colon Carcinogenesis in Rats

Asian Pac J Cancer Prev 8, 33-38 (2007).