

氏 名	プアタナチョックチャイ ラウィワン
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	第 4849 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文名	Alpha - Benzene Hexachloride Exerts Hormesis in Preneoplastic Lesion Formation of Rat Hepatocarcinogenesis with the Possible Role for Hepatic Detoxifying Enzymes (-BHC のラット肝発がん性におけるホルミシス現象の存在と肝解毒酵素の役割)
論文審査委員	主査 教授 福 島 昭 治 副査 教授 舩 江 良 彦 副査 教授 廣 橋 一 裕

論 文 内 容 の 要 旨

[目的] 我々はこれまで発がん物質 Phenobarbital のホルミシス現象を明らかにしてきた。本研究においては、農薬などに使用されていた非遺伝毒性発がん物質の - BHC の発がん性に、ホルミシス現象が存在するかどうかを、ラット肝二段階発がん試験法を用いて検証した。さらにそのメカニズムについて分子生物学的手法を用いて検索した。

[方法] 6 週齢雄性 F344 ラット 84 匹に対し、diethylnitrosamine (DEN) を 100 mg/kg 体重で週 1 回、3 週間腹腔内投与後、 BHC を 0、0.01、0.05、0.1、1、50、500ppm の用量で 10 週間混餌投与した。ラットは実験期間 13 週でエーテル麻酔下にて屠殺し、肝前がん病変マーカーの glutathione S - transferase placental form (GST - P) 陽性細胞巣を検索した。更に、酸化ストレスの指標である 8 - hydroxydeoxyguanosine (8 - OHdG) 形成レベル、CYP450 アイソザイム活性、Western Blot 法や RT - PCR 法によるそれら酵素の蛋白および mRNA 発現についても検索した。

[結果] - BHC の高用量群 (500 ppm) では肝 GST - P 陽性細胞巣は有意に増加したが、低用量群 (0.05ppm) では有意に減少し、その用量 - 反応曲線は J 字状を示した。8 - OHdG 形成レベル、CYP450 蛋白量と NADPH - P450 還元酵素活性も同様の曲線を示した。また低用量群では GST - P 陽性細胞巣における細胞増殖能 (PCNA) も有意に低下した。 - BHC の代謝に関係するとされる CYP2B1 と 3A2 の酵素活性、ならびに蛋白と mRNA の発現レベルも高用量群で増大したが、低用量群では対照群より低値を示した。

[結論] DEN をイニシエーターとするラット肝二段階発がん試験法による - BHC の発がん作用の検討の結果、肝前がん病変である GST - P 陽性細胞巣の発生には、高用量群で促進される一方、低用量群で抑制されるというホルミシス現象が認められることが判明した。また、このことは - BHC の発がん性に閾値が存在することを明らかに示した。そのメカニズムの一端として、低用量域における CYP450 酵素発現の変化や酸化ストレスの関連が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

当教室ではこれまで発がん物質 phenobarbital のホルミシス現象を明らかにしてきた。本研究においては、農薬などに使用されていた非遺伝毒性発がん物質 alpha - benzene hexachloride (- BHC) の発がん性に、ホルミシス現象が存在するかどうかを、ラット肝二段階発がん試験法を用いて検証した。さらにそのメカニズムについて分子生物学的手法を用いて検索した。方法は、6 週齢雄性 F344 ラット 84 匹に対し、diethylnitrosamine (DEN) を 100 mg/kg 体重で週 1 回、3 週間腹腔内投与後、 - BHC を 0、0.01、0.05、0.1、1、50、500 ppm の

用量で 10 週間混餌投与した。ラットは実験期間 13 週でエーテル麻酔下にて屠殺し、肝前がん病変マーカーの glutathione S - transferase placental form (GST - P) 陽性細胞巣を検索した。さらに、酸化ストレスの指標である 8 - hydroxydeoxyguanosine (8 - OHdG) 形成レベル、CYP450 アイソザイム活性、Western Blot 法や RT - PCR 法によるそれら酵素の蛋白および mRNA 発現についても検索した。

その結果、 α - BHC の高用量群(500 ppm)では肝 GST - P 陽性細胞巣は有意に増加したが、低用量群(0.05 ppm)では有意に減少し、その用量 - 反応曲線は J 字状を示した。8 - OHdG 形成レベル、CYP450 蛋白量と NADPH - P450 還元酵素活性も同様の曲線を示した。また低用量群では GST - P 陽性細胞巣における細胞増殖能 (PCNA) も有意に低下した。 α - BHC の代謝に関係するとされる CYP2B1 と 3A2 の酵素活性、ならびに蛋白と mRNA の発現レベルも高用量群で増大したが、低用量群では対照群より低値を示した。以上の結果より、DEN 誘発ラット肝二段階発がん試験法における、 α - BHC の肝 GST - P 陽性細胞巣形成に及ぼす修飾効果については、高用量群で病変形成が促進され、低用量群では抑制されるという、いわゆるホルミシス現象が認められることが判明した。また、これらのデータは同時に、 α - BHC の発がん性には閾値が存在することを証明しており、そのメカニズムの一端としては、低用量域における CYP450 酵素発現の変化や酸化ストレスの関連が示唆された。これらの事実は、 α - BHC と同じく非遺伝毒性物質の、phenobarbital の実験結果にも類似しており、発がん物質によるホルミシス現象の存在に更なるエビデンスをもたらした。

以上、本研究は、非遺伝毒性物質 α - BHC の発がんリスクを動物発がんモデルを用いて実証したものである。すなわち、非遺伝毒性発がん物質が有する特異的な現象であるホルミシスを証明するとともに、発がん閾値の存在を明らかにした点で、発がんリスク評価に有意義かつ基礎的なデータを提供するものであり、筆者は博士 (医学) の学位を授与されるに値するものと判定された。