

にどの群も正常範囲を上回っているが、Wolfordらのデータによる10パーセントイル～90パーセントイル値に収まり、特に異常な値とは見なさなかった。

これらトリグリセライド、総コレステロール、GOT、GPT、尿素窒素、クレアチニンについてはソフトサイエンス社「実験動物の生物学的特性データ」に依った。

4NQO発がんに対する“DAG”の発がん修飾作用について、脳を除く主要臓器について詳細に検討した結果、雄Tgにおいて、DAGの用量に相関して舌扁平上皮がんの発生率と個数が、コ克蘭・アミテージの傾向検定およびロジスティック回帰の検定において有意な増加($p<0.05$)を示すことが明らかになった。この結果は確認が必要であるが、喫煙習慣のある人などの高危険度群において、舌発がんプロモーション作用の可能性を示唆するものと考えられる。しかし、4NQO投与の各群間の解析で、乳頭腫と扁平上皮がんを併せた発生頻度に関して、対照群(5.5%TAG)と5.5%“DAG”投与群における分散分析では $p=0.058$ 、ノンパラメトリック検定(クラスカルワリス検定)では $p=0.090$ となり、有意な差はみられなかった。このことは、各群の動物数が少ないことに起因すると考えられた。舌を除く他の消化器臓器や乳腺などに対しては、Tgおよび野生型とも“DAG”の発がん修飾作用は見られなかった。

このように今回の実験において“DAG”による舌発がんは傾向検定でのみ有意な

結果であった。さらに群間で有意差が見られるかについては、各群のTgの動物数を40～50匹程度に増やし野生型も含めた40週程度の実験期間が必要と思われる。また、舌に直接高濃度の“DAG”が接触するような状態で摂取されること、および条件によっては大量摂取する場合を考慮したリスク評価を行うためには、更に高濃度(7.5および11.0%)の“DAG”濃度における影響を検討する必要があると考えられる。この場合、発がんプロモーション作用の分かっている同用量のトリグリセライド型リノール酸を併設すればプロモーション作用の程度を評価することができる。

本実験において、雄Tgにおける舌発がん亢進・プロモーション作用が比較的短期間に見出された理由の一つに、このTgが発がん高感受性であることが挙げられる。田中ら(金沢医大・病理)によると、舌においては、野生型と比較して、その感受性は雄で5.4倍、雌で4.3倍と試算されている。これは実験期間の短縮を意味しており、この意味で野生型も加えた実験が必要であろう。

“DAG”およびTAGに含まれる脂肪酸の種類と含量はほぼ同じであり、脂肪酸の種類による影響ではない。一般的にはTAGおよび“DAG”は小腸上皮において一つずつの脂肪酸およびモノアシルグリセライド(MAG)に分解された後吸収され、生じた2-モノアシルグリセロールは上皮細胞にてまたTAGに再合成されることが

知られている。口腔内においても TAG を分解するリパーゼが報告されている。しかし、口腔粘膜においては僅かではあるが“DAG”のまま吸収され、さらに細胞内に移行した可能性が考えられる。“DAG”が細胞内に入ると、1,2-DAG は発がんプロモーターである TPA と同様に、細胞内で PKC を活性化、さらに Ras-GRP を活性化し、Ras/Raf/ MAPK カスケードを動かして細胞増殖を亢進させ、発がん物質（この場合 4NQO）によってイニシエーションを受けた細胞では、発がん亢進とプロモーション作用を発揮することになると考えられる。今後この点に関する作用機序に対し詳細に検討する必要がある。

E. 結論

発がん高感受性トランスジェニックラットを用いて、4NQO の発がんに対する“DAG”の発がんプロモーション作用について検討した結果、雄において、“DAG”が直接接触する舌のみにプロモーション作用を示唆する結果であった。

F. 健康危険情報

本実験からは健康危険情報については結論しえない。結果確認のための追加実験が望まれる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 飯郷正明。転移モデル。生物薬科学実

験講座 13。pp205-217。國元武彦、長縄博編集。廣川書店。東京(2003)

2) Nobuko Shindo-Okada and Masaaki Iigo. Expression of the Arp11 gene suppresses the tumorigenicity of PC-14 human lung adenocarcinoma cells. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.*, **312**, 889-896 (2003)

3) Masaaki Iigo, Mariko Shimamura, Eiji Matsuda, Ken-ichi Fujita, Hiroshi Nomoto, Jun Satoh, Shuji Kojima, David B. Alexander, Malcolm A. Moore and Hiroyuki Tsuda. Orally administered bovine lactoferrin induces caspase-1 and interleukin-18 in the mouse intestinal mucosa: a possible explanation for inhibition of carcinogenesis and metastasis. *Cytokine*, **25** (1), 36-44 (2004)

4) Mariko Shimamura, Yukio Yamamoto, Hiromi Ashino, Tsutomu Oikawa, Tadahiko Hazato, Hiroyuki Tsuda, and Masaaki Iigo. Bovine lactoferrin inhibits tumor-induced angiogenesis. *Int. J. Cancer*, **111**, 111-116 (2004)

5) Tetsuyuki Takahashi, Nobuo Takasuka, Masaaki Iigo, David B. Alexander, Masaki Baba, Hoyoku Nishino, Hiroyuki Tsuda, and Toru Okuyama. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, reduces prostaglandin E2 and nitric oxide, causes poptosis, and suppresses

aberrant crypt foci development. *Cancer Science*, **95**, 448-453 (2004)

6) Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Kazunori Sekine, Masaaki Iigo, and Hiroyuki Tsuda. Lactoferrin modifies apoptosis-related gene expression in the colon of the azoxymethane-treated rat. *Cancer Lett.*, **213**: 21-29 (2004)

7) Hiroshi Nomoto, Masaaki Iigo, Hiroki Hamada, Shuji Kojima, and Hiroyuki Tsuda. Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed proanthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis. *Nutr. & Cancer*, **49**: 81-88 (2004)

8) Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Kazunori Sekine, Masaaki Iigo and Hiroyuki Tsuda. Lactoferrin enhances Fas expression and apoptosis in the colon mucosa of azoxymethane-treated rats. *Carcinogenesis*, **25**: 1961-1966 (2004)

9) Hiroyuki Tsuda, Y. Ohshima, Hiroshi Nomoto., Ken-ichi Fujita, Eiji Matsuda, Masaaki Iigo, Nobuo Takasuka and Malcolm A Moore. Cancer prevention by natural compounds. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **19**: 245-263 (2004)

2.学会発表

1) Tsuda, H., Iigo, M., Fujita, K., Sekine, K.,

Ohkubo, S., Takahashi, T., Nomoto, H., Kunimoto, K., Alexander, D.B., Okada, S. and Koza, T. Cancer chemoprevention by lactoferrin and analysis on the mechanisms. Sixth International Conference on Lactoferrin: Structure, Function and Applications, Capri, (May 2003)

2) Iigo, M., Fujita, K., Shimamura, M., Yamamoto, F., Nomoto, H., Alexander, D.B., Sekine, K., Tamura, Y. and Tsuda, H. Induction of cytokines in the intestinal mucosa by oral administration of bovine lactoferrin-A possible explanation for inhibition of carcinogenesis and metastasis-. Sixth International Conference on Lactoferrin: Structure, Function and Applications, Capri, (May 2003)

3) Fujita, K., Takahashi, T., Sekine, K., Tamura, Y., Iigo, M. and Tsuda, H. Lactoferrin enhances TNF-related apoptosis-inducing ligand(trail)-induced apoptosis on human colon carcinoma cell lines. Sixth International Conference on Lactoferrin: Structure, Function and Applications, Capri, (May 2003)

4) 藤田健一、高橋徹行、関根一則、飯郷正明、津田洋幸、ラクトフェリンによるAOM投与ラット大腸におけるBcl-2関連遺伝子の発現変動、第10回日本がん予防研究会、札幌、(2003年6月)

- 5) 野本博、飯郷正明、浜田博喜、大谷修一、小島周二、津田洋幸、プロアントシアニジン類緑物質のAOM誘発ラット大腸ACFへの修飾作用、第10回日本がん予防研究会、札幌、(2003年6月)
- 6) 飯郷正明、藤田健一、野本博、大久保重敏、関根一則、國元武彦、飯沼元、神津隆弘、奥坂拓志、岡田周市、津田洋幸、ウシラクトフェリンを用いた介入研究の基礎と応用、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 7) 藤田健一、高橋徹行、松田栄治、飯郷正明、津田洋幸、ラクトフェリンによるヒト大腸がん細胞株におけるTRAIL誘発細胞死増強作用、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 8) 高須賀信夫、飯郷正明、Kim, C.K., 津田洋幸、ヒトプロト型c-Ha-rasトランスジェニックラット-Hras128-(Tg)の γ -線照射に対する乳腺発がん感受性について、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 9) 松田栄治、飯郷正明、高須賀信夫、藤田健一、小島周二、矢澤一良、関根一則、津田洋幸、マウス大腸発がんに対するラクトフェリンと不飽和脂肪酸併用による抑制効果の検討、第62回日本癌学会総会、名古屋、(2003年9月)
- 10) 島村真里子、飯郷正明、芦野洋美、山本行男、羽里忠彦、ラクトフェリン関連物質の血管新生阻害作用、日本癌学会総会、名古屋。(2003年9月)
- 11) 飯郷正明、伊崎智子、平野祥子、野本博、津田洋幸、徳武昌一、ブドウ種子成分プロシアニジンによるコロネ26に対する抗腫瘍効果と肺転移抑制、日本薬学会124年会、大阪。(2004年3月)
- 12) 飯郷正明、島村真里子、藤田健一、大久保重敏、津田洋幸、ウシラクトフェリンの免疫能増強、血管新生阻害およびアポトーシス誘導による発がん抑制作用と臨床応用への試み、第11回日本がん予防研究会、東京(2004年7月)
- 13) 藤田健一、松田栄治、飯郷正明、津田洋幸、ヒトラクトフェリンおよびその部分断片ペプチドの細胞内発現と局在の解析、第11回日本がん予防研究会、東京(2004年7月)
- 14) 飯郷正明、野本博、徳武昌一、浜田博喜、津田洋幸、ブドウ種子成分プロシアニジンによる大腸発がん抑制とアポトーシス誘導、第63回日本癌学会学術総会、福岡(2004年9月)
- 15) 上田しのぶ、高須賀信夫、飯郷正明、

竹下文隆、落合孝広、津田洋幸、変異型 c-Ha-ras コンディショナルトランスジェニックラットにおける膵発がんの組織発生の検討、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

16) 津田洋幸、飯郷正明、高須賀信夫、松田栄治、関根一則、大久保重敏、大島浩、深町勝巳、田中卓二、福島昭治、多機能生理活性物質によるがん予防—ラクトフェリンからのメッセージ—、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

17) 松田栄治、飯郷正明、高須賀信夫、藤田健一、小島周二、矢澤一良、関根一則、津田洋幸、ラクトフェリンと不飽和脂肪酸併用によるマウス大腸がん抑制効果の増強、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

18) 岡田信子、飯郷正明、Arp11 遺伝子の発現によるヒト肺腺がん細胞株 PC-14 の造腫瘍性の抑制、第63回日本癌学会学術総会、福岡（2004年9月）

19) 津田洋幸、深町勝巳、関根一則、大

久保重俊、飯郷正明、高須賀信夫、松田栄治、がん予防 — 多機能生理活性物質ラクトフェリンからのメッセージ、第1回ラクトフェリンフォーラム、東京（2004年10月）

20) 飯郷正明、島村真里子、若林裕之、大久保重敏、津田洋幸、ウシラクトフェリンによる免疫能増強および血管新生阻害による発がん抑制作用と臨床応用、第1回ラクトフェリンフォーラム、東京（2004年10月）

21) 松田栄治、藤田健一、飯郷正明、津田洋幸、若林敬二、ヒトラクトフェリンおよびその部分断片ペプチドの発現とその細胞内局在、第1回ラクトフェリンフォーラム、東京（2004年10月）

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 |

表 1. 市販食用油の脂肪酸組成

	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	他
A油 (“DAG”含有)	3.1	1.1	38.9	46.6	9.0	1.3 (%)
B油	6.8	2.6	44.8	34.6	9.6	1.6
C油	8.5	3.5	33.5	44.2	9.1	1.2
D油	7.2	2.9	42.7	37.0	8.7	1.5
E油	10.9	3.9	20.0	52.9	11.2	1.2
F油	6.7	3.8	17.5	71.0	0.5	0.5
G油	4.2	2.0	60.8	20.2	11.4	1.4
H油	10.1	3.5	77.1	7.0	0.9	1.4