

実験的膀胱発癌に対する 5-hydroxyanthranilic acid の 抑制作用について

細木 茂¹⁾・古武 敏彦¹⁾・和田 昭²⁾・大塚 英嗣³⁾・古武 弥人⁴⁾

(¹⁾大阪府立成人病センター 泌尿器科* ²⁾同病理*
³⁾愛知医科大学 生化学** ⁴⁾神戸学院大学 栄養学***)

Inhibitory Effect of 5-hydroxyanthranilic Acid on Urinary Bladder Carcinogenesis in Mice Treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) Nitrosamine

Shigeru SAIKI,¹⁾ Toshihiko KOTAKE,¹⁾ Akira WADA,²⁾
Hidetsugu OTSUKA³⁾ and Yahito KOTAKE⁴⁾

¹⁾Department of Urology and ²⁾Pathology, The Center for Adult Diseases, Osaka,

³⁾Department of Biochemistry, Aichi Medical University

and ⁴⁾Faculty of Nutrition, Kobe-gakuin University

The effect of tryptophan metabolites, anthranilic acid (A.A.) and 5-hydroxyanthranilic acid (5-OH-A.A.), on urinary bladder carcinogenesis in mice treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) were studied.

ICR strain male mice were divided into 6 groups and given following additions in drinking water for 20 weeks. To group 1, no chemical, group 2, 0.025% BBN, group 3, 0.025% BBN and A.A. (0.5mg/mouse/day), group 4, 0.025% BBN and 5-OH-A.A. (same dose), group 5, A.A. only, and group 6, 5-OH-A.A. only were added.

Carcinoma of the urinary bladder developed in 11 of 30 mice (group 2), 5 of

* 所在地 大阪市東成区中道1-3-3 (〒537)

** 所在地 愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21 (〒480-11)

*** 所在地 神戸市西区伊川谷町有瀬518 (〒673)

30 mice (group 3) and 3 of 30 mice (group 4). Mice drinken tap water (group 1), only A.A. (group 5) and only 5-OH-A.A. (group 6) had no lesion of the urinary bladder except for occasional hyperplasia.

These result show that A.A. and 5-OH-A.A. inhibit the urinary bladder carcinogenesis in mice induced by BBN.

ヒトにおける発癌を予防する第1の方法は、原因物質の除去による方法が考えられるが、喫煙以外に疫学的に多数の癌と明らかな関連性を有するものは見い出されていない。

一方、変異原性試験から指摘された、多くの発癌可能性物質は、環境中に存在し、これらの多くは食物中にも含まれている。実際にヒトに対し発癌作用を有しているかどうかは不明だが、これらをすべて生活環境から除去することは困難である。したがって予防の第2の方法として、環境発癌物質に曝露された後に癌の発現を抑制する物質を見い出すことが必要になる¹⁾。

我々が実験に用いた anthranilic acid (A. A.) は tryptophan 代謝産物の一つであるが、幼弱マウスの発育促進および乳汁分泌促進作用物質として発見された物質で、最近では A. A. やその誘導体が抗炎症作用を有することが報告されている。さらにその水酸化物の 5-hydroxy-anthranilic acid (5-OH-A. A.) は脂質酸化阻害や prostaglandine 合成阻害作用を有することが報告されている。²⁾ (図1)

我々は、膀胱腫瘍の high risk group に対する chemoprevention の可能性を検討するために tryptophan 代謝産物の中でこのような生理活性を有する A. A. および 5-OH-A. A. に注目し、マウスを用いて膀胱発癌抑制実験を行った。

実 験 方 法

8週齢の ICR 系雄マウス 150 匹を以下の飼育条件の 6 群に分け実験を行った。なお、選択的膀胱発癌物質 N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) と A. A. および 5-OH-A. A. の同時投与時における相互変性は予備実験で認められなかったため、これらを飲料水に添加した。

1 群には control として水道水を飲料水として与えた。2 群には 0.025 % BBN 含有水道水を与えた。3 群には BBN のほかに A. A. を 0.5 mg/mouse/day の割合で添加した。4 群には BBN のほかに 5-OH-A. A. を 0.5 mg/mouse/day の割合で添加した。5 群には A. A. のみを 3 群と同量添加し、6 群には 5-OH-A. A. のみを 4 群と同量添加した。以上の条件で 20 週

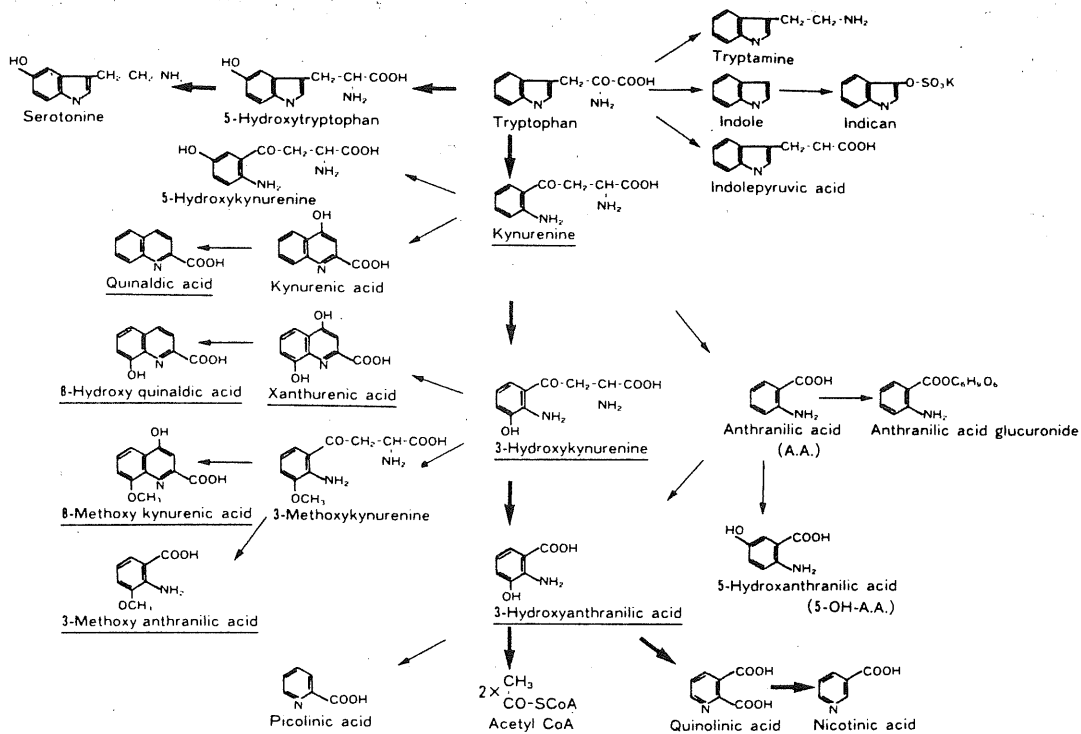


Fig. 1. Metabolic map of tryptophan. Underlined metabolites have been shown to be carcinogenic for the mouse urinary bladder.

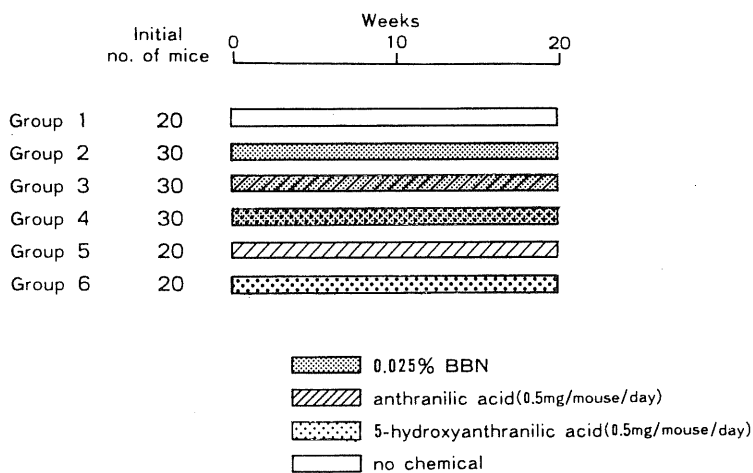


Fig. 2. Experimental design for evaluation of the effect of anthranilic acid and 5-hydroxyanthranilic acid on mouse bladder carcinogenesis.

間飼育後屠殺し、膀胱内に10%ホルマリン溶液を注入し、壁を伸展させて固定し、病理組織学的検討を加えた。(図2)

実験結果

実験期間中の各群のマウスの平均体重の変化は、BBN投与群とBBN非投与群の間には差がみられたが、A.A.および5-OH-A.A.の添加による差は少なかった。

膀胱上皮の病理組織学的変化を伊東^{3,4)}らの分類に従い、diffuse cell growth, focal hyperplasia, papilloma, carcinomaに分類した。実験終了時までに死亡したマウスは各群とも10%以下であり、これらの膀胱に対しても病理組織学的検討を加え有効例に加えた。

各群の膀胱上皮の変化を表1に示す。carcinomaの発生率は2群(36.7%), 3群(16.7%), 4群(10%)の順に低下しており、2群と4群間には X^2 検定において統計学的有意差($P < 0.05$)が認められた。(表1)

Table 1. Histopathological changes of the urinary bladder and other tissues

Group	Treatment	Effective no. of mice	Changes of urinary bladder (%)				Changes of other tissues
			Diffuse cell growth	Focal hyperplasia	Papilloma	Carcinoma	
1	Control	20	0	1(5.0)	0	0	
2	BBN	30	17(56.7)	11(36.7)	6(20.0)	11(36.7)	
3	BBN+A.A.	30	23(76.7)	15(50.0)	10(33.3)	5(16.7)	
4	BBN+5-OH-A.A.	30	23(76.7)	11(36.7)	4(13.3)	3(10.0)*	Dysplasia of liver 1(3.3)
5	A.A.	20	0	1(5.0)	0	0	
6	5-OH-A.A.	20	0	1(5.0)	0	0	

*Significantly different from group 2 ($P < 0.05$)

考 察

我々は加齢とともに多くの環境発癌物質や食物中の発癌物質に曝露されることが避けられない状況にある。膀胱発癌に関しては、high riskの職業歴を有しない大多数の人々においてもinitiationの過程を防止することは困難であり、その後のさまざまなpromotion過程を制御する方法が求められている。

現在までに、実験的に膀胱発癌を抑制する物質として報告されたものには、disulfiramとaspirinがあるが、前者は肝毒性の点で、後者は膀胱発癌物質自体の体謝を阻害するためにヒ

トへの応用に適さないものと考えられる。⁵⁻⁷⁾ ほかにビタミン A の誘導体が報告されているが、効果発現に必要な量では副作用も強いことから薬剤の改良が必要とされている。⁸⁻¹⁰⁾

臨床応用の面では、ビタミン B₆ の投与がヒト膀胱腫瘍の再発予防の点で有効と報告されている¹¹⁾が、発癌抑制機構が未解明であり、十分な追試がなされていない。一方ニトロソ化合物の生体内産生を減少させると報告されているビタミン C および E は、環境発癌物質や食物内の発癌物質の活性化を阻害する可能性が考えられている。¹²⁾

我々の用いた A. A. の代謝は諸家の報告によれば、肝臓のミクロゾームで 5-OH-A. A. に代謝され尿中に排泄される。さらに 5-OH-A. A. は 2H⁺ を放出して酸化型の quinoimine carboxylic acid となり、両者の間の酸化還元電位によりビタミン B₂ や C に類似した可逆的な酸化還元系を形成すると報告されている。¹³⁻¹⁶⁾

これらを用い、マウスにおける BBN 誘発膀胱発癌に対する影響を、同時投与実験により検討したところ、膀胱上皮の腫瘍化および癌化に対して 5-OH-A. A. が抑制的に、また A. A. も癌化に対して抑制的に作用していることが判明した。

この発癌抑制機構の詳細は不明だが、BBN A. A. 5-OH-A. A. のそれぞれの吸収、代謝、排泄過程に関して考察する。まず、吸収過程の発癌抑制に関しては、BBN 投与群間の体重の変化や死亡率に差が少ないことや、添加物による BBN の変性が混合試験で認められなかったことから、発癌物質の摂取量の差による発癌抑制が生じている可能性は少ないと考えられる。

なお経口摂取された BBN は肝臓で代謝活性化され、N-butyl-N-(3-carboxybutyl) nitrosamine (BCPN) となり、大部分が尿中に排泄され膀胱上皮に長時間接触することにより、膀胱腫瘍が選択的に発生すると報告されている。^{17, 18)} A. A. の生理活性も肝臓での代謝により発現され、また 5-OH-A. A. は大部分が尿中に排泄されるので代謝、排泄過程が重要と考えられる。

代謝過程での発癌抑制に関しては、4 群の 1 例に肝臓の dysplasia を認め、このマウスの膀胱の変化が過形成までであったことを重視すれば、A. A. や 5-OH-A. A. が肝臓での BBN の活性化代謝や排泄経路に影響を与えている可能性がある。また肝臓のミクロゾームでの tryptophan 代謝を添加した A. A. および 5-OH-A. A. が修飾している可能性も考えられる。

最後に、尿中への排泄過程での発癌抑制に関して考察すると、標的細胞の initiation の阻害すなわち尿中の発癌物質と膀胱上皮細胞の蛋白質や核酸との反応を阻害することによる発癌抑制や promotion 過程の阻害による発癌抑制が考えられる。

ここで、A. A. と 5-OH-A. A. の発癌抑制の差が A. A が中間代謝産物であり、5-OH-

A. A. が尿中の終末代謝産物であることを考慮すると、これらの代謝産物の発癌抑制作用は、5-OH-A. A. に関連したものであることが強く示唆される。

結 語

tryptophan 代謝産物の A. A. および 5-OH-A. A. はマウスにおける BBN 誘発膀胱発癌過程において、膀胱上皮の過形成的変化には影響を及ぼさなかったが、癌化に対しては特に、5-OH-A. A. が抑制的に作用していることが判明した。今後、これらの代謝産物の発癌抑制機構の解明を行うとともに、臨床への応用も検討したい。

文 献

1. WATTENBERG, L. W. (1985) *Cancer Res.*, 45: 1.
2. NAITO, J., E. SASAKI, Y. OHTA, R. SHINOHARA and I. ISHIGURO (1984) *Biochemical Pharm.* 33: 3195.
3. ITO, N., M. ARAI, S. SUGIHARA, K. HIRAO, S. MAKIURA, K. MATAYOSHI and A. DENDA (1975) *Gann Monograph* 17: 367.
4. HIROSE, M., S. FUKUSHIMA, M. HANANOUCHE, T. SHIRAI, T. OGISO, M. TAKAHASHI and N. ITO (1976) *Gann* 67: 175.
5. 垣添忠生, 新島端夫 (1982) 代謝 19 臨時増刊: 959
6. IRVING, C. C., A. J. TICE and W. M. MURPHY (1979) *Cancer Res.* 39: 3040.
7. COHEN, S. M., T. V. ZENSER, G. MURASAKI, S. FUKUSHIMA, M. B. MATTAMMAL, N. S. RAPP and B. B. DAVIS (1981) *Cancer Res.* 41: 3355.
8. GRUBBS, C. J., R. C. MOON, R. A. SQUIRE, G. M. FARROW, S. F. STINSON, D. G. GOODMAN, C. C. BROWN and M. B. SPORN (1977) *Science* 198: 743.
9. BECCI, P. J., H. J. THOMPSON, C. J. GRUBBS, C. C. BROWN and R. C. MOON (1979) *Cancer Res.* 39: 3141.
10. THOMPSON H. J., P. J. BECCI, C. J. GRUBBS, Y. F. SHEALY, E. J. STANEK, C. C. BROWN, M. B. SPORN and R. C. MOON (1981) *Cancer Res.* 41: 933.
11. BYAR, D., C. BLACKARD (1977) *Urology* X: 556.
12. OHSHIMA, H. and H. BARTSCH (1981) *Cancer Res.* 41: 3658.
13. 古武弥四郎 (1943) 大阪医学雑誌 42: 1900
14. 白井陽一, 笹岡孝夫, 宇野修司, 東 雄司, 武田貞祐, 新井恒人 (1951) 生化学 23: 56
15. 高木康敬 (1952) ビタミン, 5: 142
16. 柴田幸雄 (1955) 和歌山医学, 6: 39
17. HASHIMOTO, Y., E. SUZUKI and M. OKADA (1972) *Gann* 63: 637.

18. NAGAO, M., E. SUZUKI, K. YASUO, T. YAHAGI, Y. SEINO, T. SUGIMURA and M. OKADA
(1977) *Cancer Res.* 37: 399.

