

## 実験的膀胱発癌に対する tryptophan 代謝産物の抑制作用

細木 茂<sup>1)</sup>・古武敏彦<sup>1)</sup>・和田 昭<sup>2)</sup>・大塚英嗣<sup>3)</sup>・古武弥人<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>大阪府立成人病センター泌尿器科\*      <sup>2)</sup>同 病理\*

<sup>3)</sup>愛知医科大学大学生化学\*\*      <sup>4)</sup>神戸学院大学栄養学\*\*\*

### Inhibitory Effect of Tryptophan Metabolites on Urinary Bladder Carcinogenesis in Mice and Rats Treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-Nitrosamine

Shigeru SAIKI<sup>1)</sup>, Toshihiko KOTAKE<sup>1)</sup>, Akira WADA<sup>2)</sup>,  
Hidetsugu OTSUKA<sup>3)</sup> and Yahito KOTAKE<sup>4)</sup>

*<sup>1)</sup>Department of Urology and <sup>2)</sup>Pathology, The Center for Adult Diseases, Osaka, <sup>3)</sup>Department of Biochemistry, Aichi Medical University and <sup>4)</sup>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 and rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) were studied.

Experiment 1: ICR strain male mice were given 0.05% BBN as an initiator for 8 weeks and following additions. To group 1, no chemical, to group 2 and 3, A.A. (0.5mg/mouse/day) or 5-OH-A.A. for former 10 weeks, to group 4 and 5, A.A. or 5-OH-A.A. for latter 10 weeks were added respectively.

Experiment 2: Fischer strain male rats were given 0.025% BBN as an initiator for 6 weeks and following additions. To group 1, no chemical, to group 2 and 3, A.A. (10mg/rat/day) or 5-OH-A.A. for 34 weeks after BBN, to group 4 or 5, A.A. or 5-OH-A.A. for 34 weeks without BBN.

---

\*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)

In mice, sequential administration of A.A. or 5-OH-A.A. after BBN inhibit the urinary bladder carcinogenesis compared with simultaneous administration of these compounds with BBN.

In rats, 5-OH-A.A. reduced the incidence and number of papilloma and carcinoma of the urinary bladder.

These result suggest the chemopreventive activity of 5-OH-A.A. against BBN induced urinary bladder cancer.

我々は、昨年 N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (以下 BBN と略す) と同時投与した anthranilic acid (以下 A.A. と略す) および 5-hydroxyanthranilic acid (以下 5-OH-A.A. と略す) がマウスにおける膀胱発癌を有意に抑制することを報告した。<sup>1)</sup>

この発癌抑制機構の解明のため、今回我々は、マウスを用い、A.A. および 5-OH-A.A. の投与時期の差による膀胱発癌に対する影響を検討した。さらに、ラットを用い長期間の promotion 過程におけるこれらの代謝産物の膀胱発癌に対する影響を検討した。

### 方 法

実験 1. 8 週齢の ICR 系雌性マウス 150 匹を 5 群に分け以下の条件で飼育した。各群には initiator として 0.05 % BBN 含有水道水を 8 週間与えた。

1 群には BBN の他に添加物を与えなかったが、2 群、3 群には initiation 期に A.A. および 5-OH-A.A. を 0.5 mg/mouse/day の割合で 10 週間投与した。4 群、5 群には 11 週目以後の promotion 期に A.A. および 5-OH-A.A. を 0.5 mg/mouse/day の割合で 10 週間投与した(図 1.)

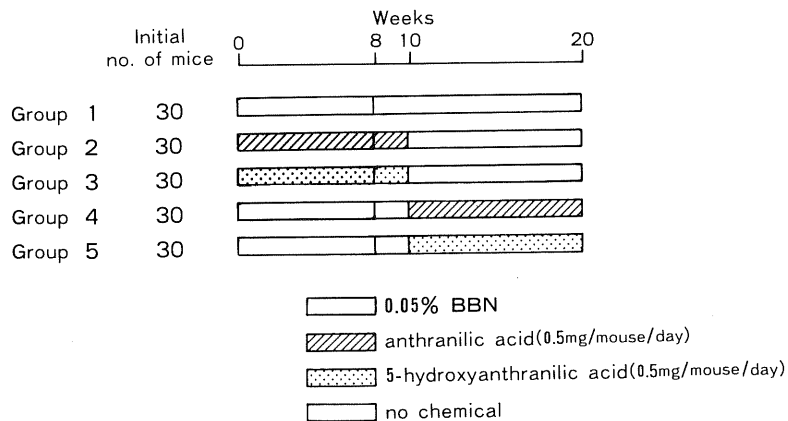


Fig. 1. Experimental design for evaluation of the effect of anthranilic acid and 5-hydroxyanthranilic acid on mouse bladder carcinogenesis.

これらの条件で 20 週間飼育後屠殺し、膀胱腫瘍の発生を病理組織学的に検討した。

実験 2. 8 週齢の Fischer 系雄性ラット 80 匹を 5 群に分け、以下の条件で飼育した。

1 群, 3 群には initiator として 0.25 % BBN 含有水道水を 6 週間与えた。

1 群には 7 週目以後飲料水の他に添加物を与えなかったが、2 群, 3 群には 7 週目以後の promotion 期に A.A. および 5-OH-A.A. を 10 mg/rat/day の割合で投与した。

4 群, 5 群には BBN を投与せず、7 週目以後 A.A. および 5-OH-A.A. を 2 群, 3 群と同量投与した (図 2.)

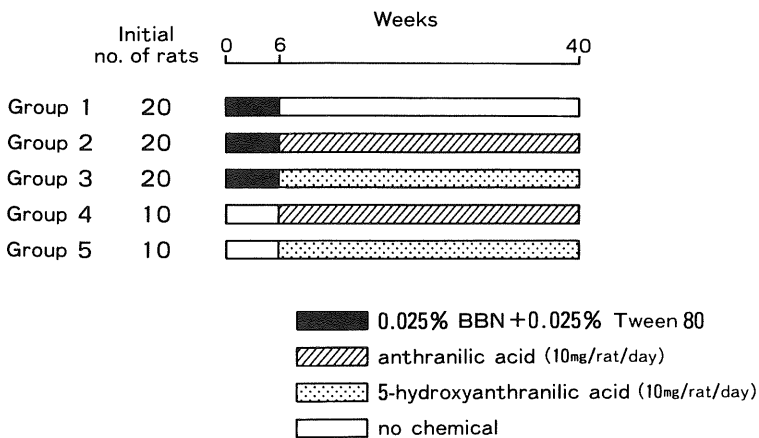


Fig. 2. Experimental design for evaluation of the effect of anthranilic acid and 5-hydroxyanthranilic acid on rat bladder carcinogenesis.

これらの条件で 40 週間飼育後屠殺し、膀胱腫瘍の発生を病理組織学的に検討した。

なお、マウスおよびラットは日本チャールズ・リバー社から 6 週齢で購入し、2 週間飼育後実験に用いた。飼料はマウスにはオリエンタル酵母社製固形飼料 CMF を、ラットには MF を用いた。BBN は半井化学薬品株式会社から購入し、A.A. および 5-OH-A.A. はゾンネボード製薬株式会社から提供をうけた。

## 結 果

実験期間中の各群のマウスおよびラットの平均体重の変化から BBN の投与終了時に一時的に成長率の低下が認められた。A.A. および 5-OH-A.A. の投与期間の栄養状態は良好であった。

実験終了時まで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。

なお、ラットは実験終了時まで全例生存していた。

実験1においてマウスの膀胱上皮の変化を第2集同様、diffuse cell growth, focal hyperplasia, papilloma, carcinomaに分類した(表1)

Table 1. Histopathological Changes of Mouse Urinary Bladder

Group	Treatment	Effective no. of mice	Changes of urinary bladder (%)			
			Diffuse cell growth	Focal hyperplasia	Papilloma	Carcinoma
1	BBN	30	20 (66.7)	5 (16.7)	3 (10.0)	1 (3.3)
2	BBN+A.A.	30	23 (76.7)	4 (13.3)	1 (3.3)	2 (6.7)
3	BBN+5-OH-A.A.	30	19 (63.3)	3 (10.0)	2 (6.7)	0
4	BBN→A.A.	30	8 (26.7) <sup>a</sup>	3 (10.0)	0	0
5	BBN→5-OH-A.A.	30	11 (36.7) <sup>b</sup>	2 (6.7)	0	0

a. Significantly different from group 1 (P<0.01)

b. Significantly different from group 1 (P<0.05)

papilloma と carcinoma の発生率は、positive control の1群で10%と3.3%と少なく、BBNの投与量や観察期間に関して検討する必要がある。しかし、initiation 期にA.A. および5-OH-A.A. を与えた2群、3群には1群同様の腫瘍形成がみられたが、promotion 期にA.A. および5-OH-A.A. を与えた4群、5群には腫瘍形成がみられなかった。また、4群、5群はdiffuse cell growth の段階で上皮の変化が有意に抑制されていた。

実験2においてラットの膀胱上皮の変化を伊東ら<sup>2)3)</sup>の分類に従い、simple hyperplasia, papillary or nodular hyperplasia, papilloma, carcinoma に分類した。(表2)

carcinoma の発生は1群のみにみられた。

BBN投与後 promotion 期に5-OH-A.A. を投与した3群では hyperplasia までの変化は1群と同様であったが、carcinoma および papilloma の発生が抑制されていた。なお、A.A. を promotion 期に投与した2群では carcinoma の発生は抑制されたが、papilloma に対する抑制作用は認められなかった。

Table 2. Hisopathological Changes of Rat Urinary Bladder

Group	Treatment	Effective No. of rats	Changes of urinary bladder(%)			
			Simple hyperplasia	Papillary or nodular hyperplasia	Papilloma	Carcinoma
1	BBN	20	19 ( 95)	13 (65)	6 (30), (0.35)	3 (15), (0.15)
2	BBN→A.A.	20	20 (100)	14 (70)	5 (25), (0.25)	0
3	BBN→5-OH-A.A.	20	19 ( 95)	14 (70)	3 (15), (0.15)	0
4	A.A.	10	0	0	0	0
5	5-OH-A.A.	10	0	0	0	0

( ) Number of lesions per bladder

### 考 察

マウスを用いたBBNとの同時投与実験から tryptophan の尿中代謝産物である 5-OH-A.A.の方が A.A.より膀胱発癌抑制作用を発揮していることが示唆されたが, 今回の非同時投与実験でも同様の傾向がみられた。

したがって, A.A. および 5-OH-A.A.の発癌抑制は, 尿中へ排泄されたこれらの代謝産物が関与している可能性が高いと考えられる。

今回BBNによる initiation後の promotion期に投与した A.A.および 5-OH-A.A. に発癌抑制作用が認められたことから, これらの代謝産物は, 発癌物質の活性化や標的細胞への到達経路に影響を与えるというより, 標的細胞の癌化を抑制する suppressing agents<sup>4)</sup>の作用を有することが示唆される。(図3)

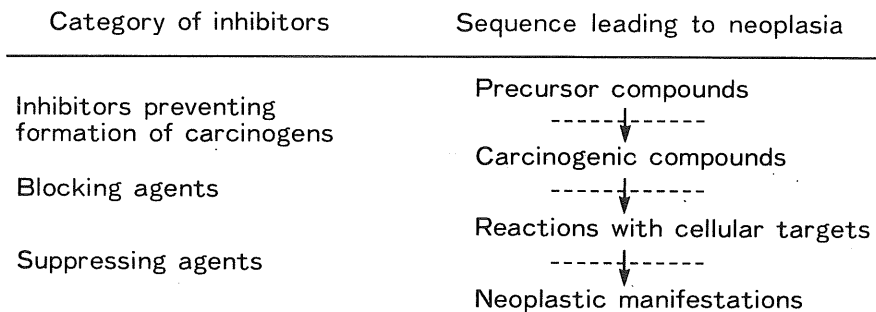


Fig. 3. Classification of chemopreventive agents

promotionの過程は、多段階で可逆的であり、この時期の発癌の制御が重要であると考えられている。<sup>4-8)</sup>

膀胱発癌過程における promotion の問題点として、尿中に発癌促進作用を有する因子が存在することが実験的に証明されてい<sup>9)</sup>るので、A.A. および 5-OH-A.A. に関して、今後尿自体を含めた他の膀胱発癌 promoter に対する chemopreventive agent の観点で検討を加えたい。

## 結 語

マウスおよびラットにおける BBN 誘発膀胱発癌に対する A.A. および 5-OH-A.A. の抑制作用を同時投与実験および、非同時投与実験により検討した。

実験 1 からマウスに対して A.A. および 5-OH-A.A. を promotion 期に投与した群では papilloma および carcinoma の発生がみられず、diffuse cell growth の段階で上皮の変化が抑制される傾向がみられた。

実験 2 ではラットに対して A.A. および 5-OH-A.A. を promotion 期に投与した群では carcinoma の発生が抑制された。腫瘍抑制の点では 5-OH-A.A. のほうが A.A. より強い作用を有していた。

## 文 献

1. 細木 茂, 古武敏彦, 和田 昭, 大塚英嗣, 古武弥人 (1985) 微量栄養素研究 2 : 119
2. ITO, N., M. ARAI, S. SUGIHARA, K. HIRAO, S. MAKIURA, K. MATAYOSHI and A. DENDA (1975) Gann Monograph 17: 367
3. NAKANISHI, K., M. HIROSE, T. OGISO, R. HASEGAWA, M. ARAI and N. ITO (1980) Gann 71:490
4. WATTENBERG, L. W. (1985) Cancer Res. 45:1
5. WEINSTEIN, I. B. and W. TROLL (1977) Cancer Res. 37:3461
6. NELSON, N. (1981) Cancer 47:1065
7. WEINSTEIN, I. B. (1981) Cancer 47:1133
8. 林 裕造, 高橋道人 (1985) 代謝 22 臨増 : 703
9. 馬場谷勝廣 (1984) 日泌尿会誌 75 : 355