

44002010

フェノバルビタールの肝発癌抑制能と肝細胞アポトーシス誘発能
に関する研究

(課題番号 09670213)

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2))
研究成果報告書

平成11年2月

研究代表者： 李 康弘 (研究者番号 10261405)
(旭川医科大学医学部助教授)

は し が き

Phenobarbital (PB) は diethylnitrosamine (DEN) 等の化学癌原物質により惹起されるラット肝発癌を促進する古典的肝プロモーターとして知られている。しかし、PB のマウスに対する作用はラットに対するよりも複雑であり、肝発癌促進作用を示す事例のみならず、実験条件によっては逆に抑制作用を示す事例も報告されている。例えば、成体の B6C3F₁ マウスに DEN を投与した後、PB を含む食餌を慢性的に与えると、肝腫瘍の発生数は対照群に比べ約 5 倍増加する。一方、離乳前の同マウスを DEN を処理した後 PB を与えると、腫瘍数は約 10 分の 1 に減少する。マウスの化学肝発癌モデルはラットのそれとともに環境発癌物質及びプロモーターの検索に広く利用されている。よって、マウスに対する PB の逆説的作用は、動物実験結果のヒト発癌への外挿という実践において極めて重大な問題であり、その機構解明を必要とする。

本研究において、我々の研究グループは B6C3F₁ マウスの DEN 起始肝発癌に対する PB の逆説的作用につき解析を加え、以下の諸点を明らかにした。1) 投与齢にかかわらず、DEN 単独で誘発された肝腫瘍の約 9 割以上は病理組織学的に好塩基性肝細胞腺腫に属し、その殆ど全てがアポトーシス抑制蛋白として知られる Bcl-2 を発現している。正常肝細胞は Bcl-2 陰性である。2) 成体マウスを DEN 処理した後、PB によるプロモーションを加えた際に発生する肝腫瘍の 8 割以上は好酸性肝細胞腺腫であり、それらは Bcl-2 陰性である。3) 離乳前マウスを DEN 処理し、PB による抑制を加えた時に観察される腫瘍の 9 割以上は、DEN 単独の場合と同様 Bcl-2 陽性の好塩基性肝細胞腺腫であるが、その際、好塩基性肝細胞腺腫細胞の proliferating nuclear antigen (PCNA) 陽性率は DEN 単独の対照に比べ、3 分の 1 に減少している。PB 投与による好塩基性肝細胞腺腫細胞のアポトーシス頻度の変化は見られない。

以上より、我々は、PB が好酸性肝細胞腺腫の発生を促進する一方、好塩基性肝細胞腺腫細胞の増殖は強く抑制し、その発生を妨げているものと結論した。さらに、成体 B6C3F₁ マウスを DEN 処理した場合、好酸性、好塩基性の両腺腫前駆細胞が惹起されるのに対し、離乳前 B6C3F₁ マウスを DEN 処理した場合は殆ど選択的に好塩基性腺腫前駆細胞のみが惹起されるため、PB の一見逆説的な作用が観察されるものと考えた。(研究発表論文: *Am. J. Pathol.* 151, 957-962, 1997; *Cancer Res.* 58, 1665-1669, 1998)

また、PB は長年、肝細胞のアポトーシス抑制剤とされてきたが、筆者らの試験管内モデルを利用した研究により、同物質が癌遺伝子 *c-myc* と協調してマウス肝細胞のアポトーシスをむしろ亢進することも明らかになった。この現象に伴って、アポトーシス誘導蛋白である Bax の過剰発現が同時に観察された。マウス肝細胞に活性化 H-ras 癌遺伝子を導入すると、PB によるアポトーシス誘導はほぼ完全に抑制されたが、その際は Bax の拮抗蛋白である Bcl-2 の *de novo* 発現が生じた。これらの事実から、PB と *c-myc* の協調によるアポトーシス誘導は Bax の作用を介するものと推定された。(研究発表論文: *Cancer Res.* 57, 2896-2903, 1997)

本研究により PB の複雑な生物学的作用機構の一端を明らかにできたも

のと考える。なお、研究成果は既に米国科学誌に発表済みであるので、「研究発表」の項に示した論文の掲載をもって報告に代える。

研究組織

研究代表者：李 康弘（旭川医科大学医学部助教授）

研究分担者：なし

（研究協力者：小山内 誠）

研究経費

平成 9 年度	1, 6 0 0 千円
平成 1 0 年度	1, 0 0 0 千円
計	2, 6 0 0 千円

研究発表（誌上発表のみ）

- (1) Osanai, M., Ogawa, K., and Lee, G.-H. Phenobarbital causes apoptosis in conditionally immortalized mouse hepatocytes depending on deregulated *c-myc* expression: characterization of an unexpected effect. *Cancer Res.* 57: 2896-2903, 1997.
- (2) Lee, G.-H. Correlation between Bcl-2 expression and histopathology in diethylnitrosamine-induced mouse hepatocellular tumors. *Am. J. Pathol.* 151: 957-962, 1997.
- (3) Lee, G.-H., Ooasa, T., and Osanai, M. Mechanism of the paradoxical, inhibitory effect of phenobarbital on hepatocarcinogenesis initiated in infant B6C3F₁ mice with diethylnitrosamine. *Cancer Res.* 58: 1665-1669, 1998.