

## 健康長寿社会の構築を目指した医食同源の科学的解明

### 大腸癌発生に対する各種脂質長期摂取の影響

佐賀大学医学部内科

藤本一眞、岩切龍一、藤瀬剛弘

近年わが国では大腸癌の増加が認められ、食生活における脂肪摂取量の増加と大腸癌死亡率の時間的推移と相関している。6系不飽和脂肪酸は大腸癌のリスク要因であり、魚油に多く含まれる3系不飽和脂肪酸は予防要因であることが報告もなされている。発癌、進展のメカニズムとして、COX-2やPGE<sub>2</sub>の発現亢進がいわれており、6系多価不飽和脂肪酸はその発現を促進し、3系多価不飽和脂肪酸は抑制することも報告されている。本研究の目的は様々な脂肪酸を長期摂取することによる発癌の誘導、進展におけるそれぞれの促進あるいは抑制効果のメカニズムを明らかにすることである。

#### 【方法】

6週齢雄性SDラットを用い、azoxymethane(AOM)投与群(15mg/kg、腹腔内投与、週一回、2週)と非投与群に分け、餌の脂肪含量および種類の差によって対照群、10%コーン油(6系多価不飽和脂肪酸)群、10%オリーブ油(9系1価不飽和脂肪酸)群、10%牛脂(飽和脂肪酸)群、10%魚油(3系多価不飽和脂肪酸)群の5群に割り付けた。投与後12週にaberrant crypt foci(ACF)の発生数を検討した。投与後44週で発生した腫瘍数、組織型、周辺非腫瘍部粘膜における増殖能(BrdU取り込み)等を検討した。Wnt/ $\beta$ -catenin pathwayに関連する分子( $\beta$ -catenin, Wnt2, Wnt3)COX-2, iNOS,抗増殖性に働くBMP/TGF系に関わるTGF receptor等の発現について非腫瘍部大腸粘膜および腫瘍部における発現をWestern blotにて検討した。

#### 【結果】

12週におけるACFの発生はAOM非投与群で認めなかったが、AOM投与群ではACF発生数の増加を認めた。コーン油群、牛脂群ではさらに増加し、オリーブ油群、魚油群では逆に低下を認めた。44週時における腫瘍発生数も同様であった。組織型は多くが高分化型腺癌であった。魚油群以外では浸潤癌も認めた。BrdU取り込みはAOM投与群において取り込み亢進を認め、Western blotにおいてAOM投与群非腫瘍部粘膜、腫瘍部における細胞質内 $\beta$ -cateninの増加、Wnt2, Wnt3, COX-2, iNOSの発現増加を認め、牛脂群における増加が顕著であった。TGF receptorの発現はAOM非投与群に比し、AOM投与群非腫瘍部粘膜と腫瘍部ともに発現の低下を認め、その程度は牛脂群において顕著であった。

【考察】AOMによるラット大腸癌の発生について飽和脂肪酸を多く含む牛脂および6系多価不飽和脂肪酸を多く含むコーン油には促進作用があることが判明し、その一因として増殖能の亢進が考えられた。牛脂による増殖能亢進についてはWnt/ $\beta$ -catenin pathwayの顕著な亢進がその原因の一つであると考えられた。コーン油投与群においては牛脂同様にACF数、腫瘍発生数などについて促進作用が認められたが、牛脂群とは異なった機序による発癌、増殖促進作用が存在するものと推察された。今後アラキドン酸カスケードに関与する分子や酸化ストレスなどについても摂取する脂肪酸の種類の違いによる変化および発癌に与える影響が異なってくる可能性があると考えられ検討していく予定である。

## 関連論文

1. Wu B, Fujise T, Iwakiri R, Ootani A, Amemori S, Tsunada S, Toda S, Fujimoto K. Venous congestion induces mucosal apoptosis via tumor necrosis factor- $\alpha$ -mediated cell death in rat small intestine. *J. Gastroenterol.* 39: 1056-1062, 2004.
2. Wu B, Iwakiri R, Ootani A, Tsunada S, Fujise T, Sakata Y, Sakata H, Toda S, Fujimoto K. Dietary corn oil promotes colon cancer by inhibiting mitochondria-dependent apoptosis in azoxymethane-treated rats. *Exp. Biol. Med.* 229: 1017-1025, 2004.

## 学会発表

1. 藤本一眞: 消化器病と食生活. 第45回日本消化器病学会大会. 2003.10.15-18 (大阪)  
日消誌 100: A334 (教育講演)
2. Fujise T, Ootani A, Amemori S, Sakata Y, Yokoyama F, Tsunada S, Iwakiri R, Fujimoto K: Effect on rat colon carcinogenesis compared among dietary fats: corn oil, olive oil, beef oil and fish oil. 106th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association, DDW. 2005.5.14-19. (Chicago) *Gastroenterology* 128: A278, 2005.
3. 藤瀬剛弘, 大谷顕史, 呉 斌, 綱田誠司, 岩切龍一, 戸田修二, 藤本一眞. 小腸粘膜におけるアポトーシスの解明. 第35回日本消化吸収学会総会. 2004. 10.21-24 (福岡) 講演抄録集 142 (プレナリセッション)

## 基礎となる研究成果および今までの研究状況の概要

ラットを用い化学発癌物質であるAOMを投与し食餌を対照群と10%コーン油群に分け,12週,48週の段階でACFや腫瘍数,大腸粘膜のアポトーシスおよびアポトーシスシグナルについて検討した。AOM群は対照群に比べ,また6系多価不飽和脂肪酸を多く含むコーン油+AOM群では,AOM群に比べ12週でのACF数は有意に増加し、48週では瘍数の増加を認め,発癌率についても

対照群および AOM 群に比べ増加していた。また組織学的にはコーン油 + AOM 群において浸潤癌も認められた。大腸粘膜のアポトーシスについては、AOM 投与群では AOM 非投与群に比べアポトーシスが減少しておりコーン油 + AOM 群においてさらに低下を認めた。アポトーシスシグナルについては AOM 投与群、コーン油 + AOM 群ともに receptor mediated および mitochondria mediated pathway が抑制されており、IFN- の低下も認め AOM による発癌およびコーン油による発癌促進機構に T リンパ球の関与が考えられた。

現在われわれは 6 系のみではなく、3 系、9 系および飽和脂肪酸の長期摂取を行い、化学発癌物質投与と併せてそれぞれの脂肪酸が正常粘膜に及ぼす影響、また前癌病変の形成、腫瘍組織および腫瘍周辺組織に及ぼす影響を検討し、脂肪酸摂取と大腸癌の発癌、進展との関連を明らかにしたいと考えている。食餌を対照群、10%コーン油群(6)、10%オリーブ油群(9)、10%牛脂群(飽和脂肪酸)、10%鰯油群(3)にわけ、それぞれ AOM 非投与群、AOM 投与群に分けた。12 週時での ACF 数 AOM 非投与群ではほぼ ACF は認められなかった。AOM 投与群では対照 + AOM 群に比べコーン油群、牛脂群にて ACF 数の増加を、オリーブ油群、鰯油群において低下を認めた。40 週時での腫瘍数、癌発生率についても同様の結果であった。非癌部大腸粘膜の増殖および細胞死の評価として BrdU の取り込みおよび TUNEL 染色によるアポトーシス細胞の検討を組織学的に行った。AOM 非投与群では対照群に比しオリーブ油群、鰯油群で BrdU 取り込み陽性細胞数の減少を認めた。興味深いことに対照群(その他の群)では BrdU 取り込み陽性細胞の局在は絨毛の下 3 分の 1 (3 分の 1 ~ 3 分の 2) であるのに対し、牛脂群では絨毛の先端部に BrdU 取り込み陽性細胞の局在が限局していた。また AOM 投与群では BrdU 取り込み陽性細胞の分布が広範囲となり、オリーブ油群のみにおいて BrdU 取り込み陽性細胞数が著明に減少していた。TUNEL 染色においては鰯油群のみにおいて TUNEL 陽性細胞の増加を認めた。このことは 9 系多価不飽和脂肪酸の発癌抑制機序の一つは増殖能の抑制であり、3 系多価不飽和脂肪酸の抑制機序の一つはアポトーシスの亢進であることが示唆される。今後このような増殖抑制、アポトーシス亢進に脂肪酸がどのように関連しているか、Wnt シグナルやアラキドン酸カスケードにおける種々の酵素などを中心に検討していきたい。また癌部での同様の検討を行っていきたいと考えている。