

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501000

研究課題名(和文)放射線の大腸発がん促進作用に対する食品成分スルフォラファンの予防効果に関する研究

研究課題名(英文)Effect of sulforaphane on radiation-induced colon tumorigenesis in azoxymethane-treated mice.

研究代表者

谷中 昭典(Yanaka, Akinori)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：80272201

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：放射性セシウム(137Cs)の経口投与による低線量放射線の長期被曝が大腸腫瘍発生に及ぼす影響、及び抗酸化物質スルフォラファンが放射線の大腸発がん促進作用に及ぼす影響について、アゾキシメタン(AOM)によるマウス大腸化学発がんモデルマウスを用いて検討した。その結果、放射性セシウム(1,000Bq/kg)の16～24週間投与は大腸腫瘍の形成を促進する傾向を示した。以上より、低線量の放射線被曝は、他の発がんリスクを有する状態において、大腸腫瘍形成のプロモーターとして作用することが示唆された。スルフォラファンの投与効果については現在検討中であるが、放射線による大腸発がんの促進作用を抑制することが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study was designed to determine if (1) daily intake of low levels of radioactive cesium (Cs) promotes colon tumorigenesis, and if (2) sulforaphane(SFN) inhibits this effect, using chemically-induced colon tumor model mice. The mice, pretreated with azoxymethane (AOM), 1.5 mg/kg, were fed with or without radioactive Cs 1,000 Bq/kg, for 8 - 24 W. Mice were sacrificed at 8, 16, 24 W later. Number, size, and histopathology of aberrant crypt foci (ACF) and colon tumors were analyzed. Results: (1) Feeding with radioactive Cs, for 16 W increased number of colonic ACF. (2) Feeding for 24 W increased number and size of colon tumors, and enhanced incidence of adenocarcinoma, effects mitigated by coadministration of SFN with radioactive Cs. These results suggest that long term dietary intake of low levels of radioactive Cs promotes colon tumorigenesis in chemically-induced colon tumor model in mice. Dietary intake of SFN may attenuate radioactive Cs-induced promotion of colon tumorigenesis.

研究分野：消化器内科学

キーワード：大腸癌 放射性セシウム 低線量放射線 スルフォラファン

1. 研究開始当初の背景

2011年3月の福島第一原発事故により環境中に放出された半減期の長い放射性セシウムは急速には減衰せず、事故から4年以上の歳月を経た現在もその大半が環境中、特にその大半が土壤中に残存しており、今後も長期間にわたる低線量放射線の被曝源として懸念されている。低線量放射線が生体に及ぼす影響に関しては、傷害増強作用(バイスタンダー効果)と保護作用(ホルミシス効果)の相反する仮説が提唱されており、一定の見解は得られていない。食品に含まれる放射性物質の安全基準について厚生労働省は100Bq/kg以下としているが、放射線の被曝が長期にわたる場合、どのレベル以下であれば安全であるのか、正確なデータは存在しない。また放射線による発がん予防にどのような食品成分が有効であるのか不明である。

2. 研究の目的

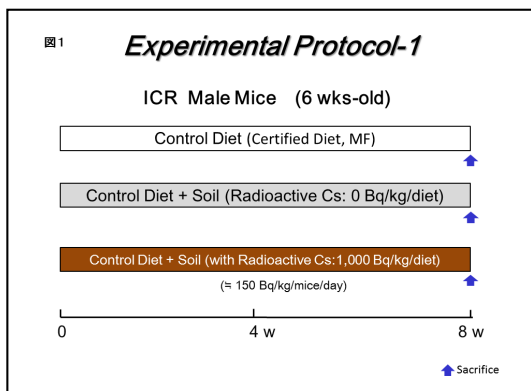
我々は低線量放射線の長期被曝が大腸発がんに及ぼす影響を明らかにするために、大腸化学発がんモデルマウスを用いて、長期間にわたる低線量放射性セシウムの経口投与がマウスにおける大腸発がんに及ぼす影響を検討した。

さらに放射線による大腸発がんに対する抗酸化食品成分スルフォラファン(SFN)の予防効果についてあわせて検討した。

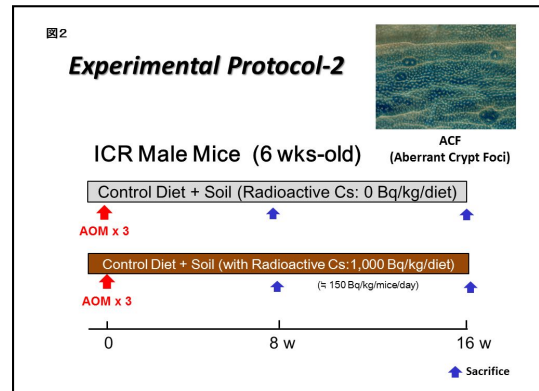
3. 研究の方法

本研究では、茨城県南地域で採取した高濃度(約20,000Bq/kg)の放射性セシウム(Cs134:Cs137 1:1)を含有する土壤を以下の実験に用いた。またnegative controlとして、ホームセンターにて購入した園芸用土壌(放射性セシウム非含有)を用いた。これらの土壤を通常の粉餌に5%混入して、低線量の放射性セシウム含有餌(1,000Bq/kg)と放射性セシウム非含有餌を調製した。発がん実験は、ICRマウス(6週齢の雄)を用いて以下の実験を行った。

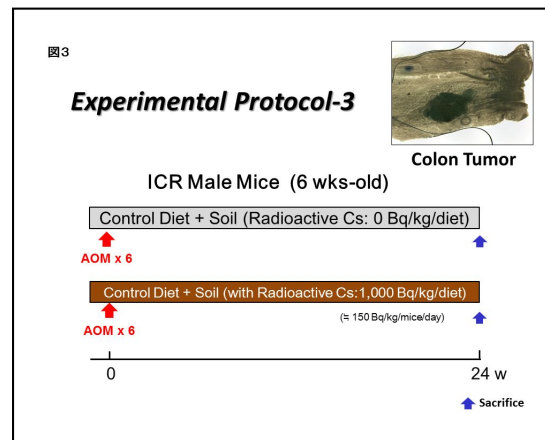
実験1. 発がん剤非投与のマウスに対して、放射性セシウム非含有餌、あるいは放射性セシウム含有餌を連日マウスに摂食させることにより、マウス一匹あたり約150Bq/kg/dayの放射線に恒常的に被曝させた。8週後にマウスを屠殺し、大腸組織をスライドガラス上に粘膜側が上になるように伸展させた後、0.2%のmethylene blueにて染色し、光学顕微鏡下でaberrant crypt foci(ACF)の数を測定した。(図1)



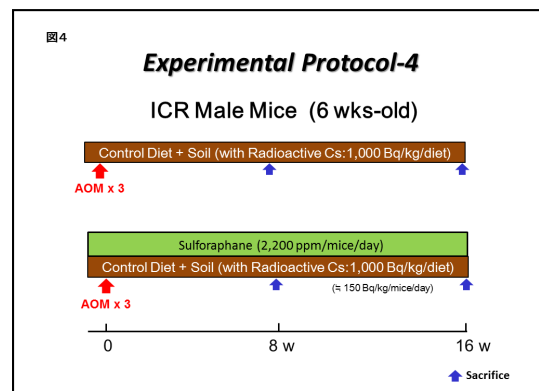
実験2: 大腸発がん剤 azoxymethane (AOM) を週1回ずつ計3回投与後、放射性セシウム非含有餌、あるいは放射性セシウム含有餌を連日マウスに摂食させ、8~12週後にマウスを屠殺し、前述の方法でACFの数を測定した(図2)



実験3. AOMを週1回ずつ計6回投与後、通常の餌、あるいは放射性セシウム含有餌を連日マウスに摂食させ24週後にマウスを屠殺し、大腸組織を0.2%のmethylene blueにて染色し、大腸粘膜に発生した腫瘍の数と大きさを光学顕微鏡下、及び肉眼的に計測した。(図3)



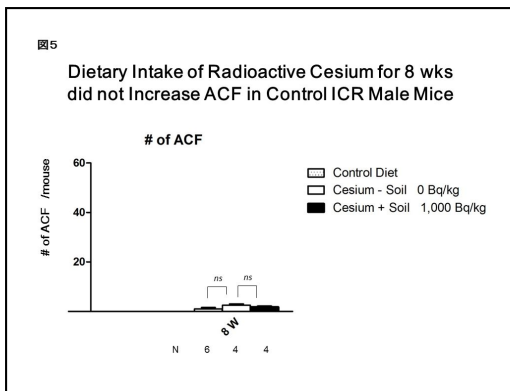
実験4: AOMを週1回ずつ計3回投与後、マウスに対して放射性セシウムとスルフォラファンを同時に摂食させ、8~12週後にマウスを屠殺し、前述の方法でACFの数を測定した(図4)



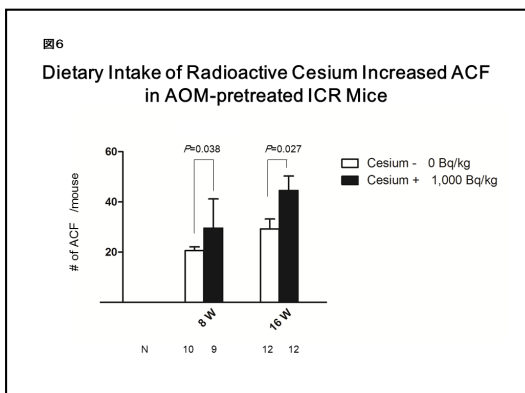
#### 4. 研究成果

##### 【実験成績】

実験 1. 発がん剤非投与の正常マウスにおいて、放射性セシウム含有餌 8 週間投与後の大腸粘膜に異常は認められなかった(図 5)



実験 2. 発がん剤 AOM 3 回前投与マウスでは、8 週～16 週後における ACF の発生数は、放射性セシウム含有餌投与群で、通常餌投与群より有意に多かった。(図 6)



実験 3. 発がん剤 AOM 6 回前投与マウスでは、24 週後において、一部のマウスに大腸腫瘍(病理学的には大腸腺腫、及び早期の高分化型腺癌)が発症した。腫瘍の発症個体数は、放射性セシウム含有餌投与群で 4/11、通常餌投与群で 1/12 であった。腫瘍の発生個数は放射性セシウム含有餌投与群で 5/11、通常餌投与群で 2/12 であった。以上の如く、放射性セシウム投与群で高値の傾向を呈したが、統計学的な有意差は認められなかった。(図 7, 8)

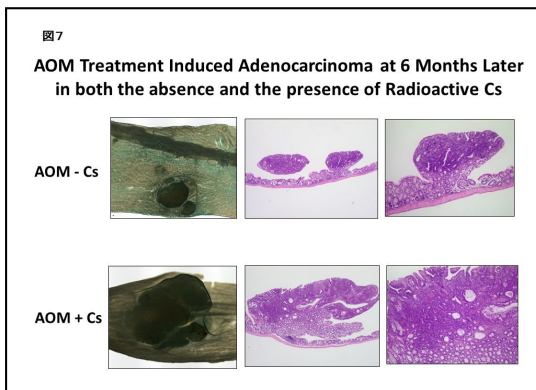


図8

Effect of Dietary Intake of Radioactive Cesium on Colon Carcinogenesis in AOM-pretreated ICR Mice

	Cesium (-)	Cesium (+)
# of Mice	12	11
# of Mice with Ca	1	4
Ca Incidence (%)	12.5	36.4
Total # of Ca Lesion	2	5
Mean Tumor Size (mm)	3.1	5.4

Not Significant

実験 4. スルフォラファンの効果については現在実験中であり、平成 27 年度前半には結果が出る予定である。

##### 【考察】

本研究において、消化管内腔からの低線量放射性セシウム長期被ばくにより、正常のマウス大腸粘膜には変化が見られなかったものの、AOM 大腸化学発がんモデルマウスにおいては、大腸 ACF、及び大腸腺癌の発生数が増加した。これらの成績より、1,000Bq/kg 程度の低線量放射線の曝露は単独では腫瘍形成を促進しないものの、それ以外の発がんリスクに曝された個体においては、発がんのプロモーターとして関与する可能性を示唆している。これまでの報告によれば、今回の実験に用いた濃度と同程度の放射性セシウムの長期被曝によって、生体の代謝内分泌系<sup>6)7)8)9)</sup>、心血管系<sup>10)</sup>、神経系<sup>11)12)</sup>などに様々な影響が及ぶことが報告されている。これらの報告では、全て放射性セシウムを含有する水溶液を経口投与する手法が用いられている。この手法は内部被曝実験と定義されるが、内部被曝実験では水溶性の放射性セシウムは腸管から吸収され、全身の循環系に入り希釈されてから各臓器に運搬されるため、全身の臓器が均等に被曝するが、各臓器の被曝量は微量であると推察される。一方これに対して、本研究では、土壌に吸着した放射性セシウムを餌と共に経口投与しているため、放射性セシウムは全身に吸収されることなく腸管内腔を糞便と共に通過する。この条件では、腸管上皮細胞は至近距離から高濃度の放射性セシウムによる局所的な被曝を受けるものと推察される。以上の二つの実験条件の相違(内部被曝実験と局所被曝実験)は、実験結果に大きな影響を及ぼす可能性がある。福島原発事故により環境中に拡散した放射性セシウムの大部分が、河川や飲料水中ではなく土壌に吸着して存在していることを考えると、我々が実際に食品から被曝を受ける可能性があるのは、土壌を体内に含む魚介類や、土壌の付着した野菜などを食べる場合が最も想定される。今回の結果が、臨床の現状をどの程度反映しているかについては、今後の更なる検討が必要である。今回の研究では、放射性セシウム以外の原因(実験に使用した土

壤中に存在する発がん物質、実験期間中のマウスの体重増加の影響などが関与している可能性は否定できない。これらについては、今後の検討が必要である。

スルフォラファンの発がん予防効果については、スルフォラファンが強力な酸化ストレス応答能を有すること、腫瘍細胞の増殖を抑制しアポトーシスを誘導することが報告されており、放射線照射による酸化ストレスに対しても防護効果を有することが十分に想定される。

#### 【結論】

放射性セシウム(1,000Bq/kg)含有餌の8~24週間投与は、大腸発がん剤AOM前投与マウスにおいて、ACF、及び大腸腫瘍の形成を促進する傾向を示した。以上より、低線量の放射線被曝は、他の発がんリスクを有する状態において、腫瘍形成のプロモーターとして作用する可能性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

谷中 昭典、武藤 倫弘. 低線量放射線の長期被曝がマウス大腸化学発がんに及ぼす影響 潰瘍 42:48-50, 2015.

〔学会発表〕(計 4件)

1. 谷中 昭典、武藤 倫弘. 低線量放射線の長期被曝がマウス大腸化学発がんに及ぼす影響(第1報) 第100回日本消化器病学会総会.2014.4 東京

2. 谷中 昭典、武藤 倫弘. 低線量放射線の長期被曝がマウス大腸化学発がんに及ぼす影響(第2報) 第57回日本放射線影響学会大会.2014.10 鹿児島

3. 谷中 昭典、武藤 倫弘. 低線量放射線の長期被曝がマウス大腸化学発がんに及ぼす影響 第42回日本潰瘍病学会.2015.10 東京

4. Akinori Yanaka, Michihiro Mutoh. Long term exposure to low concentration of radioactive cesium promotes azoxymethane-induced colon tumorigenesis in mice. Digestive Disease Week 2015.5, Washington DC.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者 谷中 昭典

(YANAKA, Akinori)

研究者番号: 80272201

(2) 連携研究者 武藤 倫弘

(MUTOH, Michihiro)

研究者番号: 30392335