

# 生活環境物質による生体の障害—特に発がん、肝障害、膵障害 および神経・筋肉障害—の発現機構の研究

Studies on the mechanism of the appearance of body-impediments, particularly oncogenesis, the disturbance of pancreas, liver and the nervous and muscle system, with the various environmental factors in human life.

代表研究者 慶応義塾大学医学部薬化学研究所化学療法部門教授 豊島 滋  
Prof. Div. of Chemotherapy, Pharmaceutical Inst. School of Medicine, Keio Univ. Shigeshi TOYOSHIMA

協同研究者 慶応義塾大学医学部薬化学研究所化学療法部門講師 瀬戸 淑子  
Assistant Prof., Div. of Chemotherapy, Pharmaceutical Inst., School of Medicine, Keio Univ. Yoshiko SETO

慶応義塾大学医学部薬化学研究所化学療法部門講師 藤田 晴久  
Assistant Prof., Div. of Chemotherapy, Pharmaceutical Inst., School of Medicine, Keio Univ. Haruhisa FUJITA

慶応義塾大学医学部薬化学研究所化学療法部門助手 福島 紘司  
Instructor, Div. of Chemotherapy, Pharmaceutical Inst., School of Medicine, Keio Univ. Koji FUKUSHIMA

慶応義塾大学医学部薬化学研究所化学療法部門助手 福岡 真理子  
Instructor, Div. of Chemotherapy, Pharmaceutical Inst., School of Medicine, Keio Univ. MARIKO FUKUMA

慶応義塾大学医学部薬化学研究所化学療法部門助手 桜井 敏晴  
Instructor, Div. of Chemotherapy, Pharmaceutical Inst., School of Medicine, Keio Univ. Toshiharu SAKURAI

This work has been performed to clarify whether an environmental factor plays a role in the onset of a disease in which a virus or viral genes may be concerned. For this purpose, we established two experimental models that a virus predisposed mice to other diseases. (1) Surprediabetic mice induced with a pancreatropic variant of Venezuelan encephalitis virus which causes a type II diabetes mellitus-like syndrome in golden Syrian hamsters but asymptomatic infection in mice: In this model, we expected the development of the disease from surprediabetic state to prediabetic or overt diabetic state by the serial administration of some environmental substances. (2) The quiescent (latent) infection of Herpes simplex type 2 virus (HSV-2) in culture cells (*in vitro*-system) and in mice (*in vivo*-system): In the *in vitro*-system, the ability of environmental substances for reactivating HSV-2 from the quiescent state was determined, and then in the *in vivo*-system, it was examined whether an environmental substance which was active in the *in vitro*-system would be able to manifest such as virus-reactivating action under various influences of host defense mechanisms. In the addition, (3) C3H and AKR mice which spontaneously develop a mammary cancer and a leukemia, respectively, were used. Environmental substances listed in Table 1 were used in all the experiments. Among them, nicotine showed the activity to accelerate the reactivation and replication of latent HSV-2 in a limited condition of the *in vitro*-system (Table 2). The action in the *in vivo*-system is under study now. Nicotine also stimulated the development of clinical phases of diabetes mellitus (Figs. 1 and 2). Amaranth and safrole showed the inhibitory action on the reactivation and replication of HSV-2 *in vitro* (Table 2).

On the contrary, they showed the accelerating action in the development of mammary cancers in C3H mice and of leukemia in AKR mice (Table 5).

## 研究目的

我々の生活環境の中には生体に何らかの影響を及ぼす幾多の物質が存在する。それらの中から、これまでに十分に検討されたことのない生活環境物質を選び、それらによる生体の機能的あるいは器質的障害の発現の可能性についてと、それらの障害発現に至る機序を明らかにすることを目的として本研究を行ってきた。その一つの探究方向として、先天的あるいは潜在的にウイルスの遺伝子を保有している生体に対する各種の生活環境物質の作用を検討することとした。ウイルスが生体内に侵入後、全く何の症状も起こさず、またウイルスも検出できない状態で、ウイルスはじつと生体内にひそんでいる、いわゆる静止感染状態(viral quiescent state)を各種の生活環境物質が刺激し、その結果、活動化されたウイルスが細胞内、組織内、そして臓器内で活発に増殖を始め、疾病を顕性化するのではないかと考えた。この方向が解明されれば、種々の障害の予防と治療法の確立のための理論的基礎を得られることが期待される。

## 研究経過—方法と成果

研究は大別して三つの方向から行なわれた。すなわち、

(1) ウイルス感染により軽度または潜在的に脾に障害をもった亜前糖尿病動物の病態顕性化に及ぼす生活環境物質の作用：我々の分離確立したベネズエラ脳炎ウイルスの脾親和性変種株、CP-44はゴールドンシリアンハムスター(以下ハムスター)に感染し、低インスリン血症と糖刺激後のインスリン分泌を低下させ、また、しばしば糖代謝異常を引き起こす。一方、マウスに対しては多くの場合不顕性感染であるが、脾では活発にウイルスの増殖が認められるところから、本ウイルスで感染したマウスに対する生活環境物質の影響を検討した。

(2) ヘルペスウイルスの再活性化によって発

症する脳神経・筋肉障害機構における生活環境物質の関与：ヘルペスウイルス初感染後のウイルスの静止感染状態への移行の過程と、そこからのウイルスの再活性化(reactivation)の過程に対する生活環境物質の作用を細胞レベルの*in vitro*系とマウスを用いる*in vivo*系の実験系で検討した。

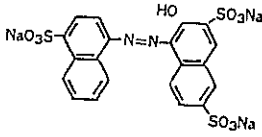
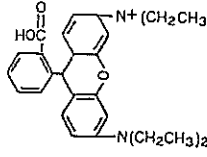
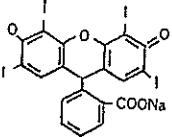
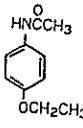
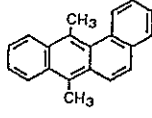
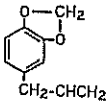
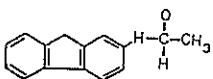
(3) 生活環境物質のウイルス性発がんに対する作用：ウイルスによって自然発生的に乳癌を発症することで知られるC<sub>3</sub>Hマウスに及ぼす影響と、同様にウイルスによって自然発生的に白血病を発症することで知られるAKRマウスに及ぼす影響を検討した。

初めに、表1に本研究に用いた生活環境物質(Environmental factors)と、それらの代表的用途を一覧表にして示した。すなわち、それらは食品添加物(食用色素)、医薬品、染料、煙草成分および数種の重金属であり、また、既知有害対照物質として環境発癌物質も加えた。

(1) 亜前糖尿病状態よりの病態顕性化に対するnicotineの影響について

健康な5週令の雄ICR-CD1マウスにベネズエラ脳炎ウイルス(VE)の脾親和性変種株、CP-44を1000 PFU/mouseの接種量で腹腔内から感染させた。これらのCP-44感染マウスは無症状に経過し、感染1か月後に行なった糖負荷試験(Glucose tolerance test, GTT)においても何ら異常を示さなかった。しかし、感染マウスの脾内からはかなりのウイルスが検出されており、特に感染初期には活発な脾内ウイルスの増殖が行なわれていることが明らかであった。したがって、感染マウスの脾は潜在的に何らかの障害を受けたことが予想された。そこで、これらの亜前糖尿病状態のCP-44感染マウスに生活環境物質として、循環器系へ種々の影響を及ぼすNicotineを連続投与し、病態進展への刺激効果について調べた。Nicotineの投与量は成人がショートピースを喫煙した時に得られるNicotineの血中濃度から算出し、次の

表 1. 生活環境物質

分類	名称	化学構造	用途	分類	名称	化学構造	用途
食品添加物	Amaranth		和洋菓子 ブドウ酒 ジャムなど	染料	Rhodamine B		染料 (特に毛、絹をピンクに染める)
	Erythrosin B		さくらんぼ 福神漬 アイスクリームなど		煙草成分	Nicotine	
医薬品	Phenacetin		鎮痛剤 カゼ薬など	環境発癌物質	Dimethylbenzanthracene		環境発ガン物質
	Safrole		石ケンの香料		重金属	As	農薬, 除虫薬など
染料	2-Acetylamino-fluorene		染料	Cd		顔料, 合金材料, 電極, ブラウン管など	
				Hg	電極, 触媒など		
				Sb	蓄電池の電極, 活字合金など		

ように定めた。すなわち, 0.03 mg/kg/day (ショートピース 3 本に相当), 0.1 mg/kg/day (ショートピース 10 本相当), 0.2 mg/kg/day (ショートピース 20 本相当), および 0.4 mg/kg/day (ショートピース 40 本相当) とし腹腔内投与した。また, Nicotine の血中からの消失は極めて速やかであることから, 成人が 1 日に摂取する相当量を 1 回で与えることは人の場合の Nicotine への曝露条件と離れることから, Nicotine を飲料水に加え, 自由飲水させる経口投与法を考案し, 併せて検討した。さらにウイルスによる亜前糖尿病状態とは別に, 1 step 病期の進んだ前糖尿病マウスを作成した。すなわち, 準催糖尿病量の Streptozotisin (SZ) と Alloxan (Alx) を静注することにより作成したマウスに, 同様に Nicotine を投与を行なった。

Nicotine の投与開始から 1 か月目に血糖値をチェックし, 次いで 3 か月と 6 か月目に GTT を行なった。実験最終日にマウスを屠殺し, 膵を含む主要臓器の病理学的検索を行なった。

Nicotine の 1 か月投与では, 腹腔内投与でも, CP-44 経口投与でも, 感染マウスの血糖値を軽度ではあるが有意に上昇させた。しかし, Nicotine の投与量との関連性はあまり明確ではなかった。さらに長期間 Nicotine を投与した場合の結果を図 1 と 2 に示した。

ウイルス性亜前糖尿病マウスと SZ 前糖尿病マウスでは, 高血糖発現という型での病態の進展は認められず, インスリン分泌の低下が認められた。しかし, 高 Nicotine 量投与群ではむしろインスリン分泌の有意の上昇が認められた。これらに対して, Alx 前糖尿病マウスの場合は, 明らか

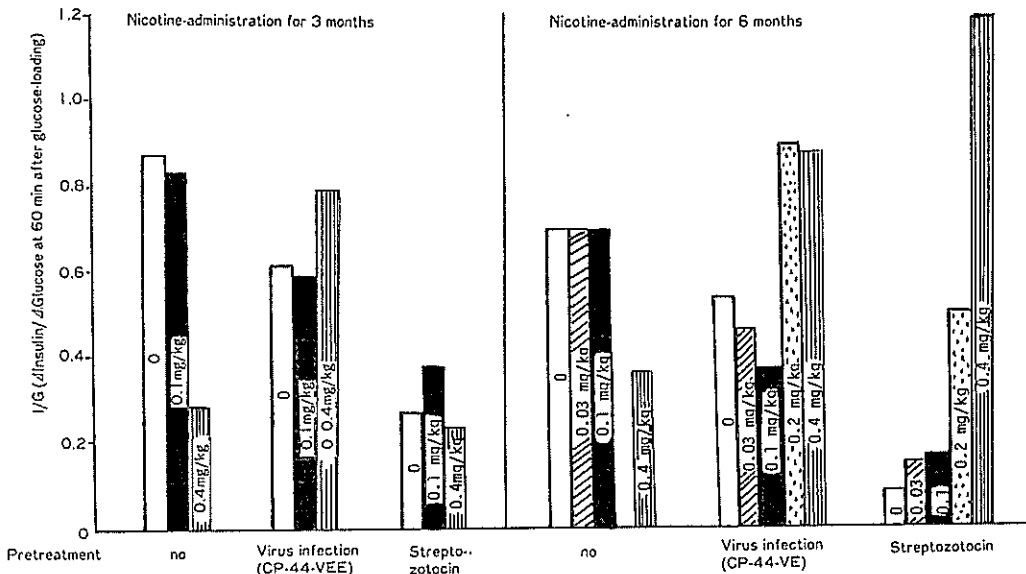


図 1. Nicotine の亜前糖尿病マウスと前糖尿病マウスに対する作用 (糖負荷試験)

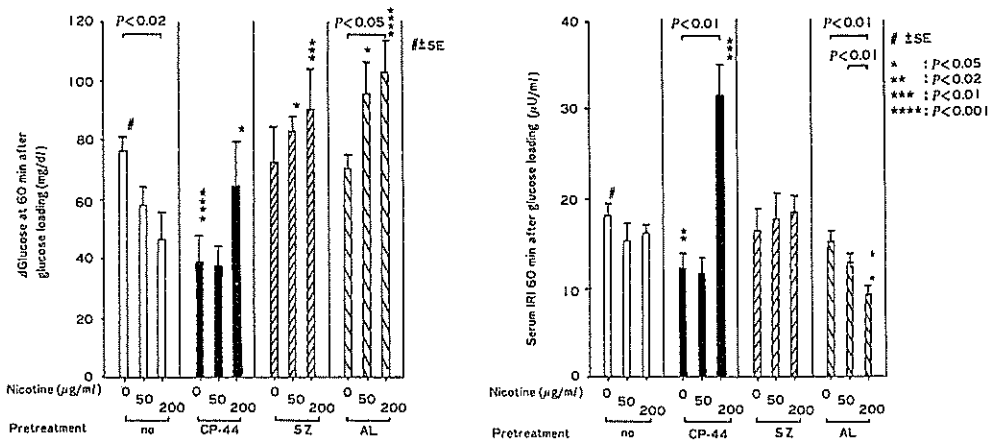


図 2. CP-44 感染亜前糖尿病マウスと SZ と ALx 処理前糖尿病マウスに対する Nicotine の経口投与 (3 か月) の影響 (糖負荷試験)

な糖尿病型への病態進展が観察された。

(2) ヘルペスウイルス感染細胞(または動物)におけるヘルペスウイルス動態に対する生活環境物質の作用

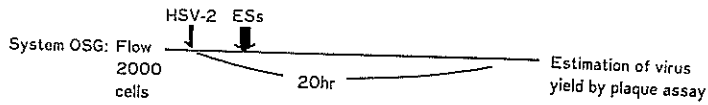
細胞レベルでのウイルス静止感染系の実験モデルとして、ヘルペス 2 型ウイルス (HSV-2) と人胎児肺細胞 (HEL) よりなる HSV-2/HEL 系を作成し、各種の生活環境物質のウイルス再活性化作用

(reactivation) ならびに HSV-2 の増殖と plaque 発現に及ぼす作用を検討した。

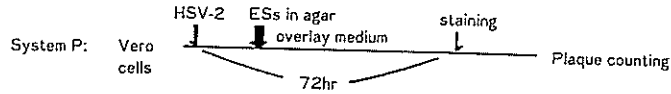
動物レベルでの静止感染系の実験モデルは、現在緒条件の検討を終り、高率に latency に移行する系が確立され、その検出法も確立されたので、*in vitro* 系でのウイルス reactivation の方法を検討している。したがって、その予備的実験として生活環境物質によるマウスの HSV-2 感染症に及

(i) Wild type の HSV-2 の増殖

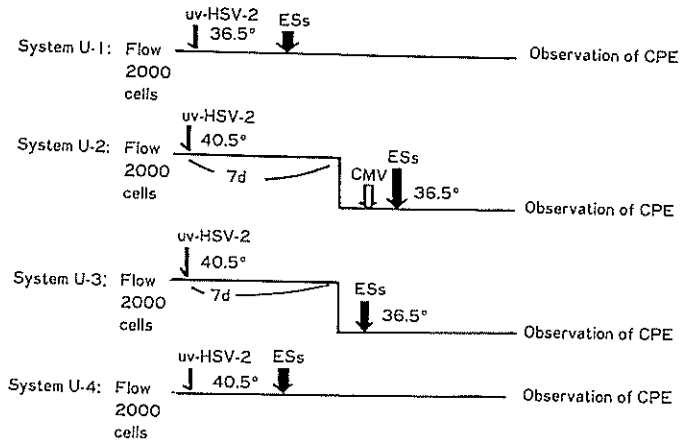
(a) HSV-2 の One step growth



(b) HSV-2 の plaque formation



(ii) 紫外線処理 HSV-2 の静止感染系からの HSV-2 reactivation



(iii) 代謝阻害 (Ara C) 剤処理細胞内の HSV-2 静止感染系からの HSV-2 reactivation

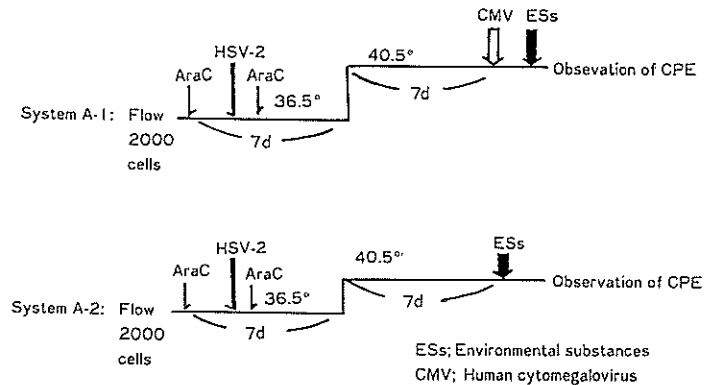


図 3. 各 HSV-2 感染系

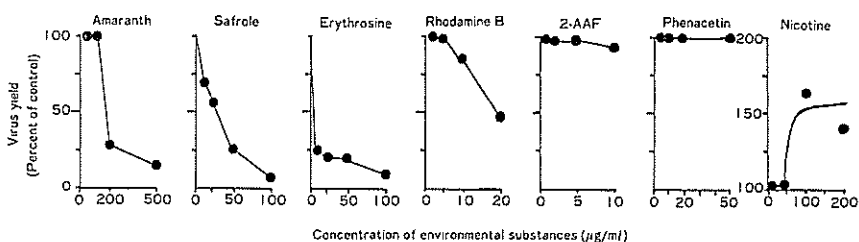


図 4. Wild type HSV-2 の one step growth へ及ぼす環境物質の影響

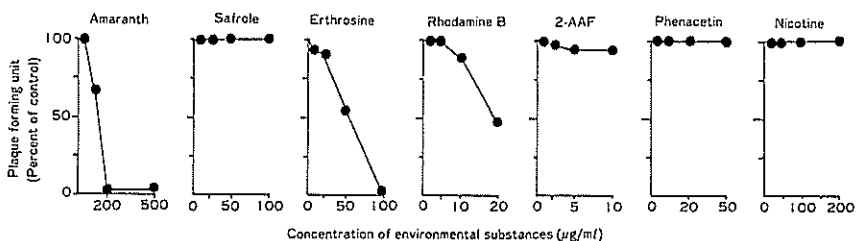


図 5. Wild type HSV-2 の plaque formation へ及ぼす環境物質の影響

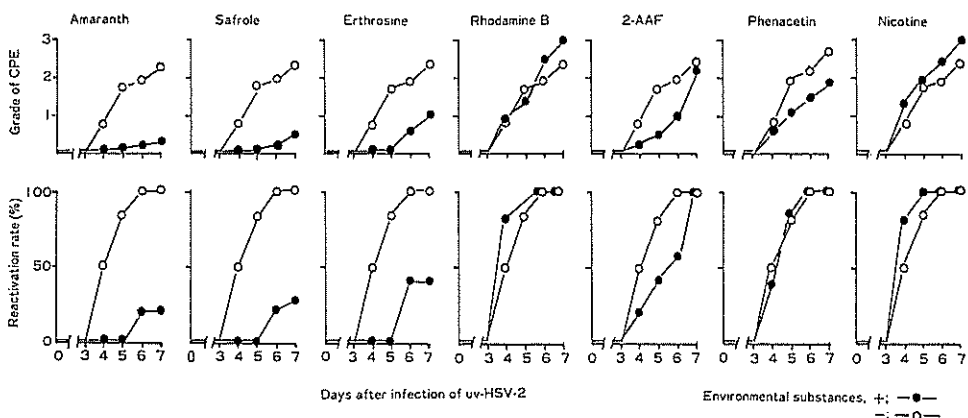


図 6. 紫外線照射 HSV-2 の permissive temperature における増殖に及ぼす環境物質の影響

ぼす影響について検討した。

図 3 に *in vitro* 実験系を図解して示した。

初めに, wild type HSV-2 の one step growth へ及ぼす生活環境物質の影響は Amaranth, Safrole, Erythrosine と Rhodamine B に抑制作用が認められ, 反対に Nicotine には増殖促進作用が認められた (図 4)。次に, wild type HSV-2 の plaque 形成に対する生活環境物質の作用は, Amaranth, Erythrosine と Rhodamine B に抑制

作用が認められたが, Safrole には作用がなく, また Nicotine の増強作用も認められなかった (図 5)。

静止感染系からの HSV-2 の reactivation に対する生活環境物質の作用についての検討は, 先の図 3 に示したように System U-1~4 および System A 1 と 2 の 6 種類において行なった。それらの結果を図 6, 7, 8 と 9 にそれぞれ示した。しかしながら, 紫外線処理 HSV-2 の 静止感染系

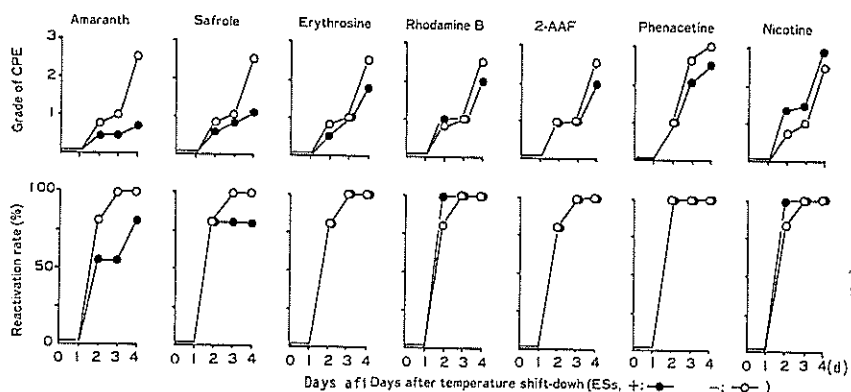


図 7. 紫外線照射 HSV-2 の静止感染系からの HSV-2 reactivation に及ぼす環境物質の影響

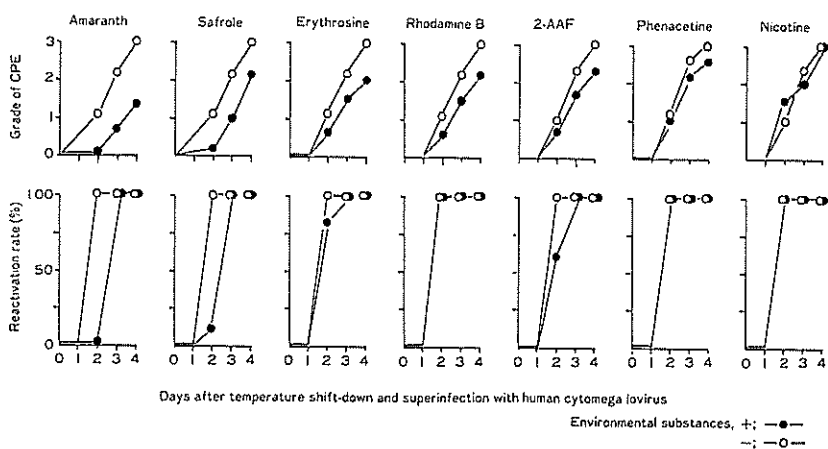


図 8. 紫外線照射 HSV-2 の静止感染系において HCMV によって促進される HSV-2 reactivation に及ぼす環境物質の影響

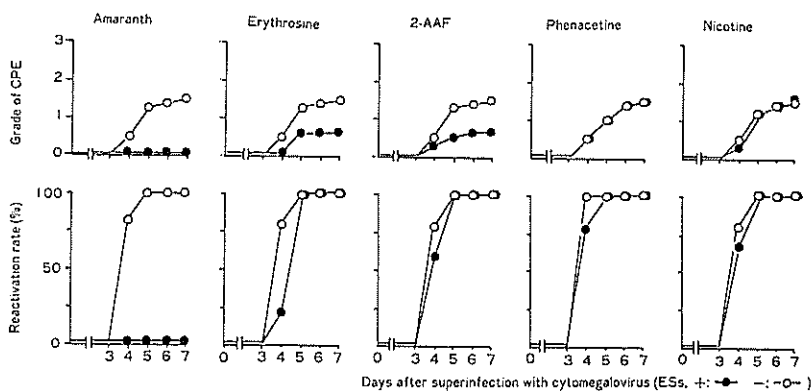


図 9. 代謝阻害剤 (Ara C) 処理細胞における静止感染系からの HSV-2 reactivation に及ぼす環境物質の影響

表 2. 各 HSV-2 感染系におよぼす環境因子の影響 (まとめ)

各 HSV-2 感染系	HSV-2 ウイルス増殖抑制作用		紫外線照射 HSV-2 増殖への作用		紫外線照射 HSV-2 の静止感染系からのウイルス再活性化への作用						Ara C 処理細胞における HSV-2 静止感染系からのウイルス再活性化への作用		
	P	OSG	U-1	U-2	U-3	U-4	A-1	A-2	温度 shift-down による再活性化への作用	温度 shift-down と CMV 重感染による再活性化への作用	静止感染状態からウイルスの再活性化作用	CMV 重感染による再活性化への作用	静止感染状態からウイルスの再活性化作用
生活環境物質		抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進	抑制 促進
Amaranth	卅	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -
Erythrosine	卅	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -
Safrole	-	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -	卅 -
Rhodamine B	+	+	-	-	+	-	±	+	-	-	ND	-	-
2-AAF	-	-	-	卅 -	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Phenacetin	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	±	-	-
Nicotine	-	-	卅 -	卅 -	卅 -	-	卅 -	-	±	-	±	-	-
Sb	ND	ND	ND	ND	ND	±	-	+	-	ND	ND	ND	ND
As	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND
Cd	ND	ND	ND	ND	ND	+	-	-	-	ND	ND	ND	ND
Hg	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	+	-	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]-pyrene	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-
DMBA	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-

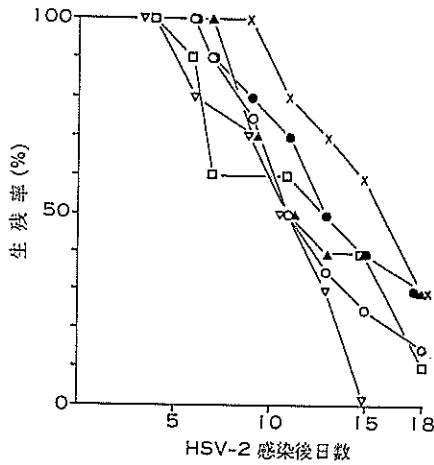
(System U-1) と代謝阻害剤 (Ara C) 処理細胞内の HSV-2 静止感染系の両系から HSV-2 を単独で reactivation する作用は、今回用いた生活環境物質のいずれにおいても見いだされなかったので図に示していない。Amaranth, Safrole, Erythrosine にはかなり強い紫外線照射 HSV-2 の増殖を抑制する作用が認められた (図 6)。また、2-AAF と Phenacetin でも軽度に抑制されたが、Rhodamine B と Nicotine は逆に増殖促進効果を示した (図 6)。System U-2 においては Amaranth と Safrole に抑制作用が認められたが、Nicotine の促進作用は明らかではなかった (図 7)。System U-3 においては、Amaranth と Safrole の他に Erythrosine, Rhodamine B, 2-AAF, Phenacetin などにも軽度の抑制が認められた。そして、この系での Nicotine の HSV-2 reactivation は極く弱いものであった (図 8)。System A-1 については、予定の物質のすべてについては検討を終了していないが、Amaranth にかかなり明確な HSV-2 reactivation 抑制作用が示された (図 9)。以上の

結果を表 2 にまとめて示した。表から明らかなように、Amaranth はいずれの実験系においても抑制作用を示し、Safrole と Erythrosine には多少のふれが認められた。一方、Nicotine の作用は促進的であった。

したがって、今回実験に使用した生活環境物質から、ウイルスの細胞内動態に影響を及ぼす物質が認められたことは、HSV の recurrent infection に種々の環境因子が関与している可能性が示唆されたといえる。

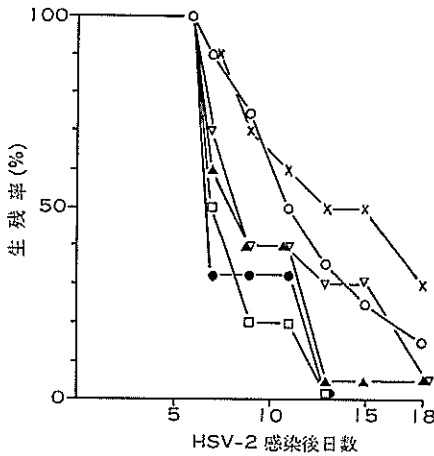
次いで、先に述べたように *in vivo* 静止感染系における Amaranth および Nicotine の作用を解析するための予備実験として、HSV-2 急性感染マウスに対する生活環境物質の影響について検討した。6 週令の雌 ICR-CD 1 マウスへの HSV-2 感染に先立って、24 時間前に生活環境物質を腹腔内投与した場合、感染直後に投与した場合、および感染 18 時間後に投与した場合について比較した。検討した生活環境物質は Amaranth, Safrole, Phenacetin と Nicotine であり、投与量はそれぞれ





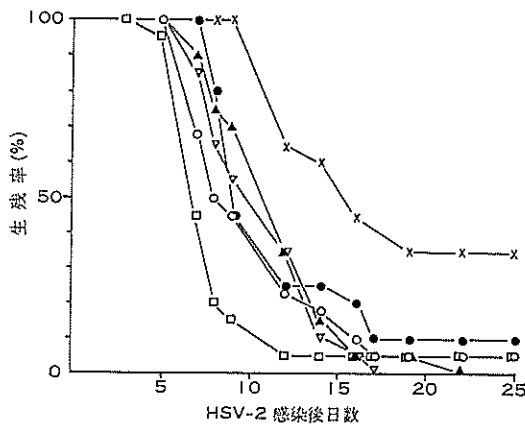
	平均生存日数 Mean±SD
○ Control	13.0±4.65
▲ Amaranth 600 mg/kg	14.3±5.33
□ Safrole 125 mg/kg	13.2±5.81
▽ Phenacetin 60 mg/kg	11.4±3.47
● Nicotine 1.1 mg/kg	14.9±5.17
× Ara A	16.7±3.97 ( <i>P</i> <0.05)

図 10. HSV-2 感染マウスの平均生存日数に及ぼす環境物質の影響 (感染前 24 時間投与)



	平均生存日数 Mean±SD
○ Control	13.0±4.65
△ Amaranth (100 mg/kg)	10.6±4.50
□ Safrole (125 mg/kg)	8.8±2.39 ( <i>P</i> <0.02)
▽ Phenacetin (60 mg/kg)	11.8±5.33
● Nicotine (1.1 mg/kg)	9.0±3.00 ( <i>P</i> <0.05)
× Ara A (500 mg/kg)	14.6±5.17

図 11. HSV-2 感染マウスの平均生存日数に及ぼす環境物質の影響 (感染 2 時間後投与)



	平均生存日数 Mean±SD
○ Control	10.8±4.62
▲ Amaranth (600 mg/kg)	11.9±3.48
□ Safrole (125 mg/kg)	8.7±4.18
▽ Phenacetin (60 mg/kg)	11.1±3.26
● Nicotine (1.1 mg/kg)	12.2±5.28
× Ara A (500 mg/kg)	18.3±5.95 ( <i>P</i> <0.01)

図 12. HSV-2 感染マウスの平均生存日数に及ぼす環境物質の影響 (感染 18 時間後投与)

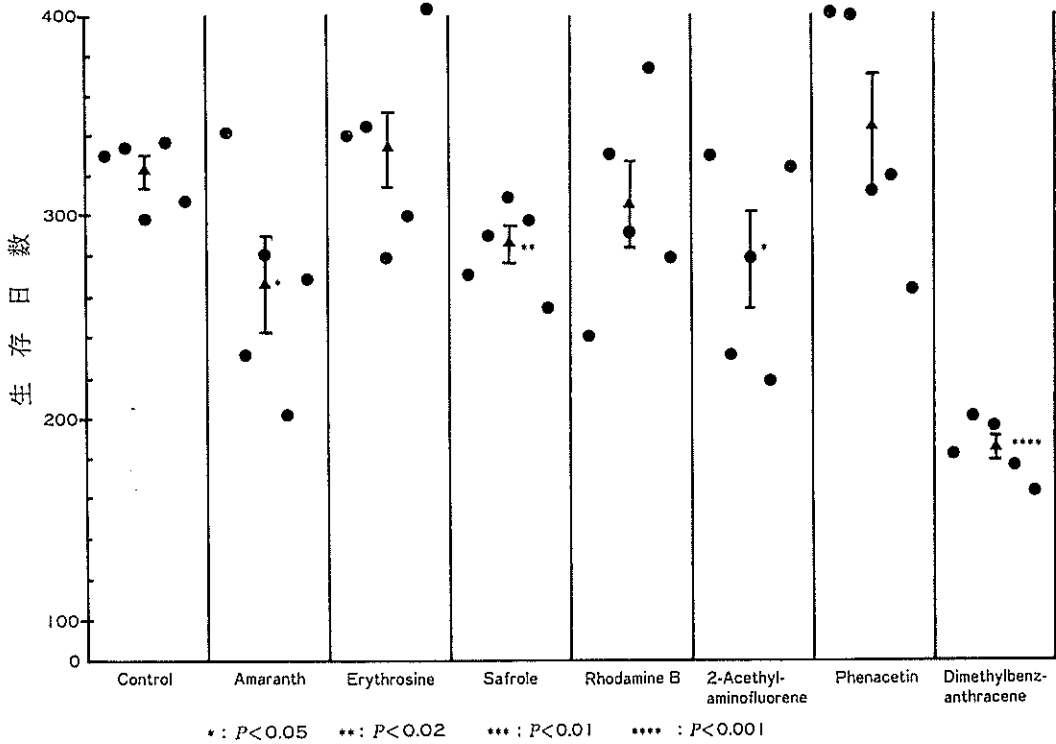


図 13. C3H/HeMTV+ マウスの自然発生乳癌に対する生活環境因子の影響 (マウス生存日数)

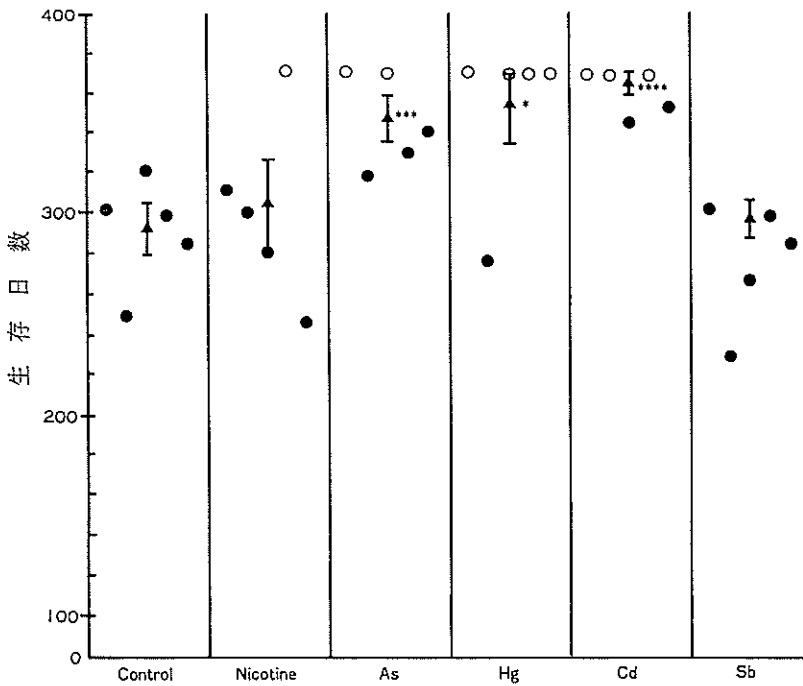


図 14. C3H/HeMTV+ マウスの自然発生乳癌に対する生活環境因子の影響 (マウス生存日数)

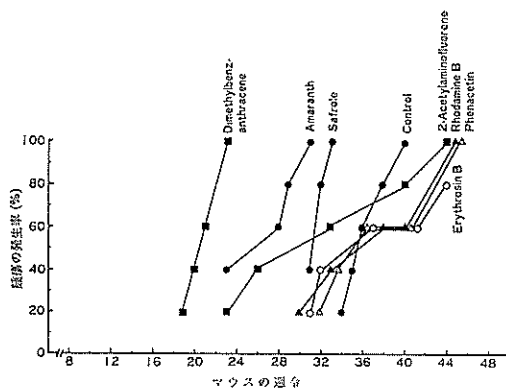


図 15. C3H/HeMTV<sup>+</sup> マウスの自然発生乳癌に対する生活環境因子の影響 (腫瘍発生率)

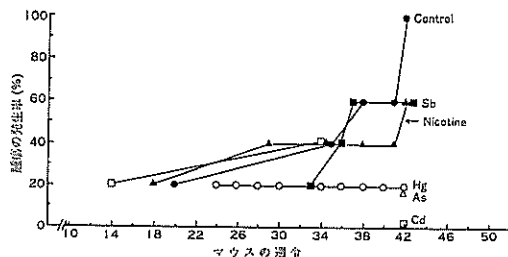


図 16. C3H/HeMTV<sup>+</sup> マウスの自然発生乳癌に対する生活環境因子の影響 (腫瘍発生率)

れ 1/5 LD<sub>50</sub> とした。感染前 24 時間投与 (図 10) と感染 18 時間後投与 (図 12) ではいずれの物質も特に有意の影響を示さなかったが、感染直後の投与群では、Nicotine と Safrole に有意の平均生存日数短縮せしめる作用が認められた (図 11)。

### (3) ウイルス性自然発がんに対する生活環境物質の影響

#### a. C3H/HeMTV<sup>+</sup> マウスにおける自然発生乳癌の発生に対する生活環境物質の影響

C3H/HeMTV<sup>+</sup> マウスの 4 週令雌を交配し、妊娠マウスを作成し、出産させた。出産後 1 週間哺乳を行なわせてから仔を取り除いた (限定哺乳)。生活環境物質は妊娠、出産および限定哺乳の期間を通じて週 1 回、約 1 年余にわたり腹腔内に投与した。投与量はマウス体重当たり 5 mg/kg または 10 mg/kg とした。測定項目は (i) 生存日数、(ii) 腫瘍発生率、(iii) 腫瘍の数、(iv) 腫瘍容積および

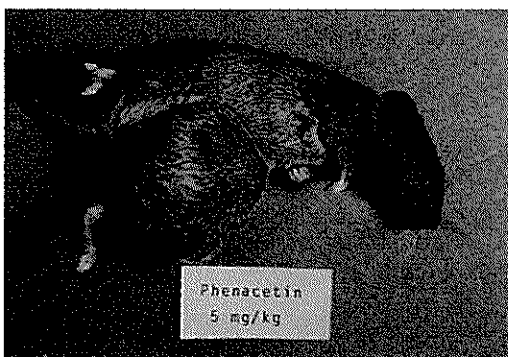
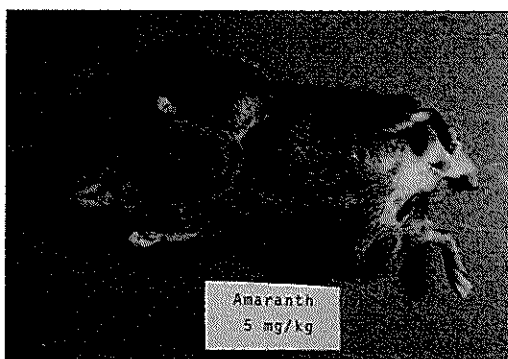
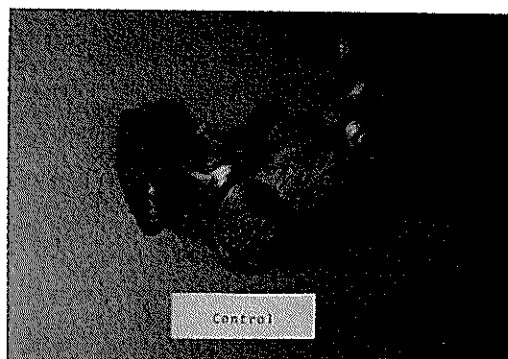
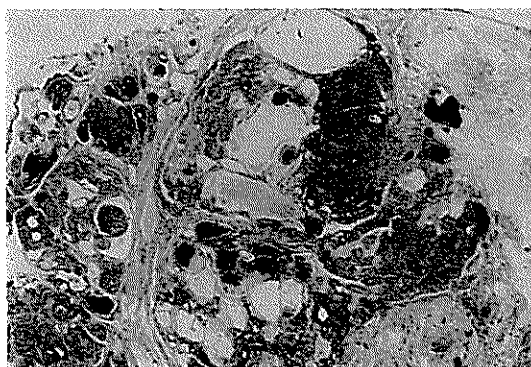


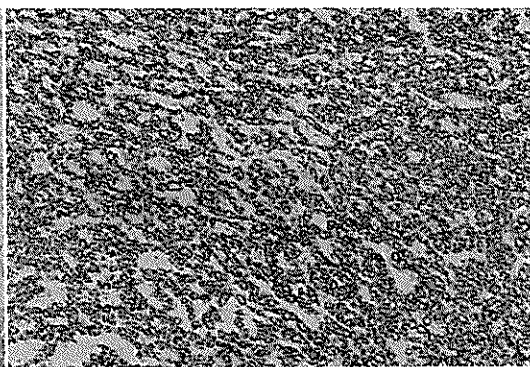
写真 1. C3H/HeMTV<sup>+</sup> マウスに発生した自然発生乳癌

#### (v) 病理学的検索についてであった。

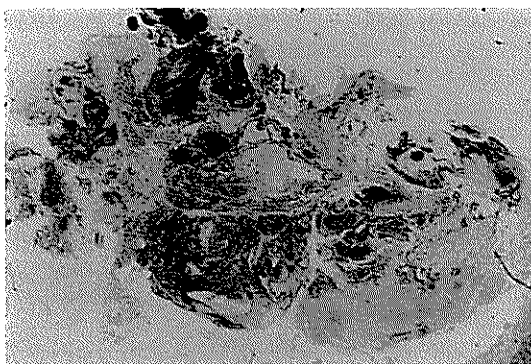
無処置の C3H/HeMTV<sup>+</sup> (以下 C3H) マウスの平均生存日数は、2 回行った実験でそれぞれ 325±85 日と 293±110 日であった。生活環境物質の投与群では、Amaranth, Safrole, 2-AAF および DMBA が C3H マウスの平均生存日数を有意に短縮させた (図 13 と 14)。また図 14 に明らかなように用いた重金属類の中で As, Hg と Cd は生存日数を有意に延長させた。その他の物



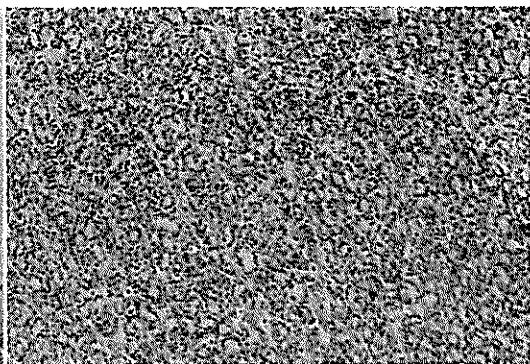
(a) Untreated (×33)



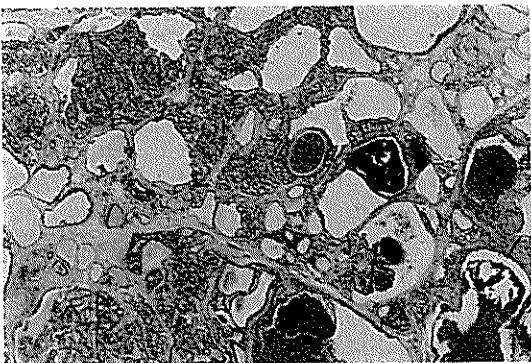
(b) Untreated (×250)



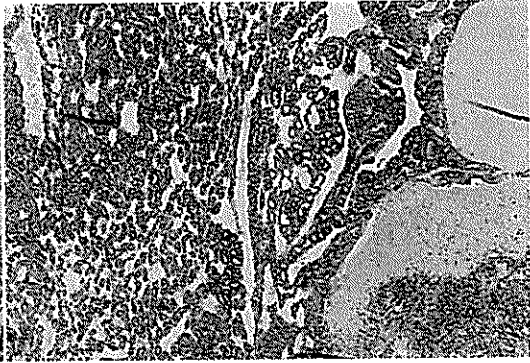
(c) Amaranth (×33)



(d) Amaranth (×500)



(e) Phenacetin (×25)



(f) Phenacetin (×200)

写真 2. 生活環境物質を投与した C3H/HeMTV<sup>+</sup> マウスに発生した乳癌の病理

表 3. AKR マウスにおける自然発生白血病に対する生活環境物質の影響 (脾臓の重量)

Environmental substance	Dose (mg/kg or ppm/kg)	Relative weight of spleen (mg%)	
		at 6-month old	at 10-month old (Mean±SE)
Non-leukemic control	—	0.069±0.001	0.06±0.001
Non-treated leukemic control	—	0.118±0.024	1.812±0.163
Amaranth	5 mg/kg	0.405±0.076* <sup>1</sup>	2.482±0.191*
Erythrosine	5 mg/kg	0.261±0.016* <sup>1</sup>	1.621±0.144
Safrole	5 mg/kg	0.741±0.042* <sup>4</sup>	2.423±0.270*
Rhodamine B	5 mg/kg	0.250±0.011* <sup>1</sup>	1.743±0.215
2-Acethylaminofluorene	5 mg/kg	0.682±0.066* <sup>4</sup>	2.191±0.292
Dimethyl benzanthracene	5 mg/kg	1.291±0.132* <sup>4</sup>	2.744±0.263* <sup>4</sup>
Phenacetin	5 mg/kg	0.411±0.055* <sup>1</sup>	1.837±0.036
Nicotine	0.8 mg/kg	0.198±0.020* <sup>1</sup>	1.773±0.058
As	10 ppm/kg	0.040±0.005* <sup>4</sup>	0.393±0.026* <sup>4</sup>
Hg	10 ppm/kg	0.054±0.004* <sup>4</sup>	0.336±0.006* <sup>4</sup>
Cd	10 ppm/kg	0.058±0.006* <sup>4</sup>	0.435±0.033* <sup>4</sup>
Sb	10 ppm/kg	0.062±0.006* <sup>4</sup>	0.459±0.031* <sup>4</sup>

\*<sup>1</sup>: P<0.05, \*<sup>2</sup>: P<0.02, \*<sup>3</sup>: P<0.01, \*<sup>4</sup>: P<0.001.

表 4. AKR マウスにおける自然発生白血病に対する生活環境物質の影響 (平均生存日数)

Environmental substance	Dose (mg/kg or ppm/kg)	Survival time (day)	
		Range (day)	Mean±SE (day)
Non treated control		231, 236, 232, 218, 234, 241, 273, 332, 340, 380	271±18.2
Amaranth	5 mg/kg	223, 216, 220, 230, 289, 287	244±14.0
Erythrosine	5 mg/kg	298, 261, 290, 290, 305, 226	278±12.1
Safrole	5 mg/kg	220, 261, 229, 280, 218, 248	243±10.1
Rhodamine B	5 mg/kg	246, 264, 245, 316, 222, 380	280±23.4
2-Acethylamino-fluorene	5 mg/kg	245, 263, 240, 253, 290, 232	255± 8.7
Phenacetin	5 mg/kg	269, 286, 290, 266, 236, 238	264± 9.4
Dimethylbenz-anthracene	5 mg/kg	238, 209, 246, 225, 246, 244	235± 6.1 (P<0.20)
Nicotine	0.8 mg/kg	299, 222, 226, 238, 290, 255	255±13.4
As	10 ppm/kg	316, 286, 306, 290, 360, 346	317±12.5 (P<0.10)
Hg	10 ppm/kg	318, 297, 254, 308, 328, 397	317±19.1 (P<0.20)
Cd	10 ppm/kg	271, 302, 253, 326, 331, 264	291±13.6
Sb	10 ppm/kg	305, 251, 246, 336, 312, 341	298±16.8

P=probability (t-test).

質には特記すべき作用は認められなかった。これらの生活環境物質によって C3H マウスの平均生存日数が影響されることが、実際の腫瘍の発生と形成によるものであるか否かを知るために、形成された腫瘍について検討した。C3H マウスの自然発生乳癌を写真で示した (写真 1)。写真に明らかのように、生活環境物質の Amaranth, Phenacetin

の他に Safrole や Erythrosin AAF を投与した群の平均腫瘍容積は大きく、その容積の増加は急カーブで上昇する。一方、As と Cd 投与群では抑制的に作用している。腫瘍の発生率からみると、DMBA, Amaranth および Safrole が著しく乳癌の発生を促進していた。また 2-AAF にも軽度の促進作用があった。

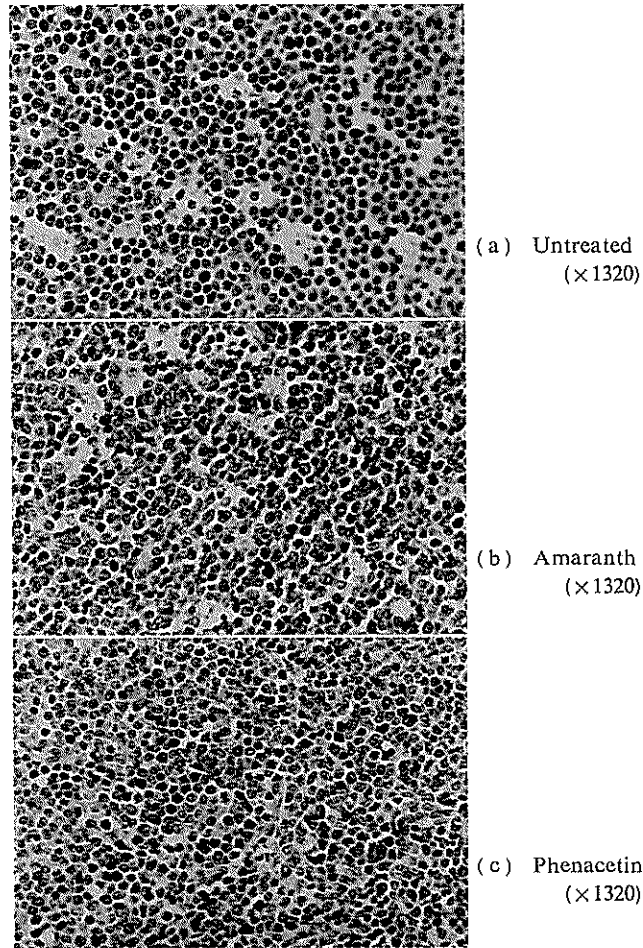


写真 3. 生活環境物質を投与後自然発生白血病をもつ AKR マウスの脾臓の病理

一方、重金属類は逆に腫瘍の発生を著しく抑制した。その他の物質は対照群とほぼ同等の腫瘍発生率であった (図 15 と 16)。さらに、形成された腫瘍の数は、重金属の Hg, As と Cd 投与群では抑制的であり、Safrole や Amaranth 投与群ではやや形成数が多かった。各処置群の C3H マウスに形成された腫瘍の病理学的所見は写真 2 に示されるように Microtubular Adenocarcinoma と Cystotubular Adenocarcinoma が認められ、各生活環境物質によって新たに誘導されるタイプは見いだされなかった。したがって、これらの物質の作用は潜在しているウイルスゲノムに作用し、発癌への進展を促進するところにある可能性が考え

られる。

b. AKR マウスにおける自然発生白血病に対する生活環境物質の影響

実験は二つに分けて行なった。最初の実験は生後約 5 週令の雌マウスに週 1 回、5 か月間生活環境物質を腹腔内に投与し、生後 10 か月令の時に、白血病関連臓器を摘出し、重量を秤量した。なお、臓器重量の測定は 6 か月と 8 か月にも行なった。測定を行なった臓器は脾臓胸線および腸間膜、頸部とそけい部の各リンパ節であるが、ここでは、脾臓の秤量の結果のみ表 3 に示した。重金属類は一般に肥大化を著しく抑制している。Amaranth, Safrole, DMBA は無処置の AKR マ

表 5. 内因性発癌ウイルスと生活環境物質の関係

生活環境物質	用途	微生物変異原性		発癌性	C3H/HeMTV <sup>+</sup> マウスの自然 発生乳癌	AKR マウス の自然発生白 血病	
		Rec- assay	Ames- assay				
食 品 添 加 物	Amaranth	和洋菓子 ブドウ酒 ジャム	-	-	-	卅	+
	Erythrosin B	さくらんぼ 福神漬 アイスクリーム	-	±	-	±	±
医 薬 品	Phenacetin	鎮痛剤 カゼ薬	-	+	±	Suggestive evidence	+
	Safrole	石ケンの香料	-	±	+	mouse rat	卅
染 料	2-Acetylami- nofluorene	染 料	+	+	+	mouse rat	+
	Rhodamine B	染 料	-	+	+	mouse rat	±
煙草成分	Nicotin	煙 草	-	-	-	±	±
環境発癌 物 質	Dimethylbenz- anthracene		+	+	+	mouse rat	卅
重 金 属	As	農薬, 除虫薬	+	+	-	animal human	-(↓)
	Cd	顔料, 合金材料 電極	-	±	+	mouse rat	-(↓)
	Hg	電極, 触媒	-	±	?		-(↓)
	Sb	活字合金 軸受合金	-	±	?		-(↓)

+, 卅: 促進的に作用している, ±: 対象群と差はない, -(↓): 抑制的に作用している

ウスの脾臓重量より, 有意に処置群の脾臓重量を増大させていた。他の生活環境物質に特に作用はなかった。次にこれら AKR 白血病マウスの脾臓について病理学的検索を行なったところ, いずれも無処置の AKR 白血病マウスに見られた所見と等しかった。

第2の実験では AKR 白血病マウスの生存日数に対する生活環境物質の作用を見た。表4に見られるように, 重金属類の As と Hg は有意に平均生存日数を延長し, DMBA は有意に短縮した。以上ウイルス性自然発生乳癌に対する各種物質の作用を調べた結果を表5にまとめた。表には, 平行して検討した微生物変異原性の結果も記載した。DMBA をはじめとする AAF や Safrole の強い発癌促進作用は予想どおりであるが, 米国を除く多くの国で食用色素として許可されている Amaranth の発癌促進作用は興味あるものである。

#### 考察と今後の課題

日常生活の中で, 我々が曝露され, わずかなが

ら体内に吸収される可能性のある生活環境物質からいくつかを選び, 潜在的にウイルスまたはウイルスゲノムを持つ生体に作用させ, ウイルスの活性化により, 特異的疾患の発現する過程に及ぼす影響を検索した。そのような前病的病態のモデルとして, ウイルス性亜前糖尿病マウス, ヘルペスウイルス静止感染細胞, およびウイルス性自然発生乳癌と自然発生白血病マウスを作成または準備した。今回用いたわずかな物質の中から内因性ウイルスに抑制的に働いたり, 促進的に働くものが見いだされた。これらの中には, Amaranth のごとく, HSV-2 静止感染系では抑制的に働くが, 自然発生乳癌と自然発生白血病のマウスにおいては明らかに乳癌や白血病発生に促進的に作用するものが見いだされた。このことは, 急性また亜急性のウイルス感染症以外のウイルスの関与が論議されながら, いまだ成因の明らかにされていない疾患には, その発症に種々の環境因子が複雑にかかわりあっている可能性を示唆している。ま

た、本研究で用いたウイルス性亜前糖尿病マウスにおいて、Nicotineが初期には糖負荷後のインスリン分泌に抑制的に作用しながら、次第に促進的に働くようになることは、一見病態の改善のようでもあるが、反面、インスリンの作用不足を示唆している可能性もあり、成人に多くの発病をみる非インスリン依存性糖尿病への進行の過程にあるとも考えられる。したがって、本研究から今後研究を継続するべき、いろいろの問題が浮び上って来ているといえる。そのことが、上に述べた新しいタイプのウイルス性疾患の発症機序の解明と、その治療法の確立への一つのアプローチとなると考える。

#### 謝 辞

本研究は昭和56年から58年までの3年間の日産科学振興財団の研究助成金により行なわれたものであり、同財団と選考委員の先生方および推薦いただいた薬理学会に深く感謝いたします。

#### 研究発表

- 1) Seto, Y., Toyshima, S.: Clinico-Genetic Genesis of Diabetes Mellitus: Venezuelan encephalitis virus: its heterogeneity and significance in the pathogenesis of Diabetes Mellitus, *Ezcerpta Medica*, No. 597, 240-245 (1982).
- 2) 瀬戸淑子, 豊島 滋: “ベネズエラ脳炎ウイルスと実験糖尿病” 小坂樹徳編, 1982 糖尿病学 (診断と治療社) 118~134 (1982).
- 3) 瀬戸淑子, 福間真理子, 団克昭, 豊島 滋: 糖尿

病の成因・発生に及ぼす生活環境物質の影響 (I) ニコチンの影響について, 第55回日本薬学会総会発表 (昭和57年3月29日).

- 4) 福間真理子, 瀬戸淑子, 藤田晴久, 団 克昭, 豊島 滋: 静止感染ヘルペスウイルスの活動化または抑制に作用する環境因子について, 第56回日本薬理学会総会 (昭和58年3月29日).
- 5) 団 克昭, 福間真理子, 瀬戸淑子, 豊島 滋: 糖尿病の成因・発症に及ぼす生活環境物質の影響 (II) 前糖尿病状態に対するニコチンの影響, 第56回日本薬理学会総会 (昭和58年3月31日).
- 6) 豊島 滋, 藤田晴久, 瀬戸淑子, 福間真理子, 福島紘司, 桜井敏晴, 団 克昭:  $C_3H^+/HeMtv^+$  マウスにおける自然発生乳癌に及ぼす環境因子の影響. 第57回日本薬理学会総会要旨集, p. 210 (昭和59年3月26日).
- 7) 豊島 滋, 瀬戸淑子, 藤田晴久, 福間真理子, 福島紘司, 桜井敏晴, 団 克昭, 大林優子: 不顕性ウイルス感染に及ぼす生活環境因子の作用. 第57回日本薬理学会総会要旨集, p. 310 (昭和59年3月24日).
- 8) Dan, K., Nakamura, N., Fukuma, M., Fukushima, K., Seto, Y. and Toyoshima, S.: Alterations in carbohydrate metabolism in mice infected with a pancreatropic variant of Venezuelan encephalitis virus, 6th International Congress of Virology. (September 3, 1984)
- 9) Fukuma, M., Seto, Y., Fukushima, K., Sakurai, T., Fujita, H. and Toyoshima, S.: Influence of life environmental substances on recurrent infection of Herpes simplex virus, 6th International Congress of Virology, September 6, 1984)