

# サフロールのラット肝発がん性の確認

## Confirmation of carcinogenicity of safrole in the rat liver

中島早紀 手塚友季恵 松本佳奈 中根冨

指導教官 梅村隆志

ヤマザキ動物看護大学動物看護学部

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

キーワード：発がん性・サフロール・ GST-P

### [目的]

ササップラスオイル、スパイスやエッセンシャルオイルの主成分であるサフロールはげっ歯類の肝臓に発がん性を有することが知られている。特異的 DNA 付加体の形成や高用量投与による酸化的 DNA 損傷の報告はあるが、その発がん過程に遺伝毒性メカニズムが関与しているか否かはまだ不明である。そこで、*gpt delta* ラットにサフロールを 0.5% に混ぜた飼料を 4、8 および 13 週間投与して、その *in vivo* 遺伝毒性の有無を検索した。また、13 週間の試験には 0.1% 投与群も設定した。その結果、0.5% 投与群で 13 週目にレポーター遺伝子である *gpt* の変異頻度が有意に上昇した。そこで本研究では、この遺伝子変異の上昇が確かにサフロールの発がん性に寄与しているかを確認するために、同実験のラット肝臓標本を用いて、ラット肝前がん病変である GST-P の定量解析を実施して、本条件下によるサフロールの発がん性の有無を確認した。

### [方法]

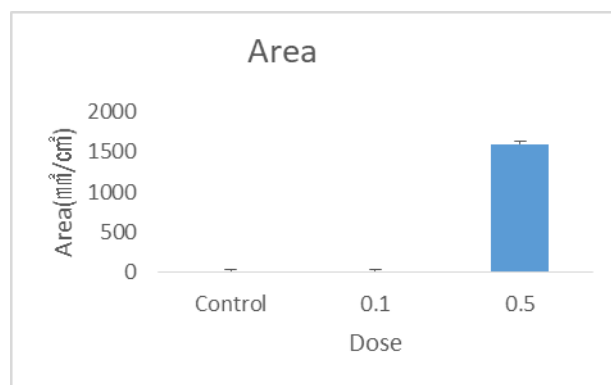
5 週齢の *gpt delta* ラットを各群 10 匹に配し、基礎飼料 (Control 群) とサフロールを 0.1% あるいは 0.5% の濃度に混ぜた餌を 13 週間自由に摂取させた。また、高用量群には投与期間 4 週あるいは 8 週投与群を設定した。各投与期間終了後、肝臓を摘出し、重量

を測定した後、ホルマリン固定を行い、常法に従ってパラフィン切片を作成し、肝発がん性予測のために肝前がん病変の glutathione-S-transferase placental form (GST-P) の免疫染色を行い、その後、画像解析ソフト CellSence により定量解析を実施した。

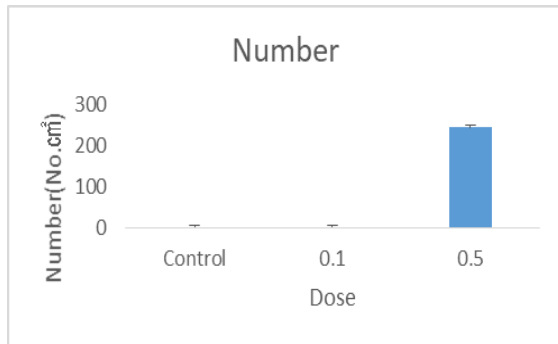
### [結果]

試験期間中の死亡動物は認められなかった。GST-P 陽性肝細胞 4 個以上を GST-P 陽性巣として、その面積ならびに数を測定し、同時に標本面積を測定して、定量解析の単位面積当たりの面積比および単位面積当たりの個数とした (図 1 および 2)。

GST-P 陽性細胞巣は 0.5% 投与群で著しい増加が観察され、0.5% 投与群で Control 群に比して単位面積当たりの面積比は約 1600 倍、数は約 250 倍の高値となり、これらはいずれも統計学的に有意な高値となった。



(Fig. 1)



(Fig. 2)

[考察]

サフロールの発がん性に遺伝毒性機序の関与の有無を検索する目的で、レポーター遺伝子導入ラットにサフロールを投与して、*in vivo* 変異原性を検討した。その結果、13週間の投与により、0.5%投与群で有意な *gpt* 変異頻度の上昇が認められ、また、0.1%投与群では変異頻度の上昇は認められなかった。レポーター遺伝子導入動物で認められた遺伝毒性がサフロールの発がん機序への関与の可能性を考察する上で、本実験条件下でのサフロールの発がん性の有無を確認する必要がある。そこで同一実験の肝臓標本を用いて、ラット肝前がん病変として知られる GST-P 陽性巣の定量解析を実施した。その結果、遺伝毒性が認められた 0.5%投与群で 13 週目にその面積ならびに数が Control 群より著しく増加し、本実験条件下でのサフロールによる発がん性が強く示唆された。また、遺伝毒性が認められなかった 0.1%では GST-P 陽性巣の増加も観察されず、これらの事実はサフロールのラット肝発がん性に遺伝毒性メカニズムの関与を強く示唆するものである。今後は、最高用量の 4 ならびに 8 週目の GST-P 定量解析を実施して発表する予定である。