

慶應義塾大学学術情報リポジトリ

Keio Associated Repository of Academic resources

Title	窒素・窒素結合を持つアルキル化剤による発癌機構
Sub Title	
Author	望月, 正隆(Mochizuki, Masataka)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1986
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.31 (1986.),p.110- 115
Abstract	
Notes	学会講演要旨
Genre	Technical Report
URL	http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000031-0125

実験結果、考察：対照群を除く全実験群にはほぼ100%に肺腫瘍の発生をみたが、その発生時期は検体により異なり、MHPMNが最も早く、EHPENがこれに次ぎ、BHPBNは最も遅かった。肺以外の腫瘍としては甲状腺の腫瘍が殊にEHPENで多く認められた。これらヒドロペルオキシ体の主要な標的臓器は、同じくジアルキルニトロサミンの代謝活性体であるアセトキシ体の場合と類似していた。

* 国立衛生試験所 病理部

** 東京生化学研究所

アルキルジアゾヒドロキシドの突然変異原性

鈴木厚子, 関口奈保子, 望月正隆

〔第44回 日本癌学会総会 (1985年10月, 東京) で発表〕

〔目的〕 N-ニトロソ化合物は最終的にはDNAをアルキル化して発癌性を示し、その究極的な活性体としてアルキルジアゾヒドロキシド ($R-N=N-OH$) が考えられている。この化合物は水の存在で不安定であるため、本実験ではN-アルキル-N-ニトロソ-p-トルエンスルホンアミドをカリウムtert-ブトキシドで処理して発生させたカリウムアルカンジアゾテートの突然変異原性を調べ、ニトロソ化合物の変異原性と比較した。

〔実験〕 直接的な変異原性をサルモネラ TA 1535, 大腸菌 WP 2 および WP 2 hcr⁻を用いて検定した。アルキル基としてメチル, エチル, プロピル, ブチルを用い、3種の菌における突然変異原活性を調べたところ、アルキル基の効果はニトロソジアルキルアミンの活性化化合物やニトロソアルキル尿素の変異原性と同じであった。

〔考察〕 ニトロソジアルキルアミンが生体内で代謝され α -ヒドロキシ体となり変異原性を示すことは3種の菌の活性におけるアルキル基の効果などからすでに明らかにした。また、 α -ヒドロペルオキシ体などの活性体のモデル化合物とニトロソアルキル尿素の突然変異原性に及ぼすアルキル基の効果も同じであり、アルキルジアゾヒドロキシドのカリウム塩を用いた本実験でも同じ効果を示す結果を得た。このことは、N-ニトロソ化合物がすべて、共通の活性体であるアルキルジアゾヒドロキシドを経てアルキルカチオンを放出し、発癌性、突然変異原性を発現することを支持した。

窒素・窒素結合を持つアルキル化剤による発癌機構

望月 正隆

〔第29回 日本薬学会関東支部大会 (1985年11月, 東京) で発表〕

ヒト癌の大部分は環境にその原因があると考えられている。環境因子のなかでも食品やタバコなど経口的に摂取する発癌性化学物質の占める割合はその70%以上を占めるとも言われる。¹⁾

図-1 に示したニトロソジアルキルアミンとジアルキルアリアルトリアゼンは窒素・窒素結合を持つ発癌性アルキル化剤の代表的なもので、他の N-ニトロソ化合物、トリアゼン、ヒドラジンなどと共にいずれも発癌性が強く、環境中に広く存在し、さらに生体内でも生成し得る。これら化合物の発癌機構の解明は癌の予防の面からも重要である。²⁾

発癌性アルキル化剤の多くは代謝系で活性化されて究極的な発癌物質に変換する。アルキル化活性種はいずれもアルキルジアゾニウムイオン、またはそれから窒素分子が脱離して生じたアルキルカチオンであり、それによる DNA のアルキル化が発癌の引き金となる。

アルキル化された DNA 上の損傷がどのように修復され、または固定されるかは重要な問題である。発癌に関与する DNA の修飾としてはグアニン O⁶ 位のアルキル化が最有力で、その損傷を選択的に修復する酵素系、O⁶-アルキルグアニン-DNA アルキルトランスフェラーゼの発癌・突然変異原性・細胞毒性における役割が深く検討されている。³⁾ この酵素はヒト細胞・組織中にもあり、その活性は臓器によって異なっている。ラットの癌遺伝子 Ha-ras-1 をニトロソメチル尿素が G→A 塩基転位により直接活性化して乳癌の発生を導いたとする報告があり、これは O⁶-メチルグアニンの生成による発癌の機構として興味深い。⁴⁾

これらのアルキル化剤による発癌の機構を発癌物質の化学的変化の面からとらえ、代謝による活性体の化学的性質・DNA 傷害性・突然変異原性・発癌性など、ごく最近の報告をまとめてみた。このような研究の成果は活性化の阻害・不活性化の促進・活性体の分解などを通じて発癌の抑制につながる。

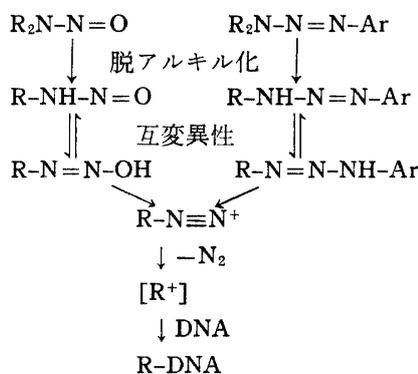


図-1. ニトロソジアルキルアミンとジアルキルアリアルトリアゼンの代謝活性化推定経路

ニトロソジアルキルアミン

N-ニトロソ化合物は強力な発癌物質で、これまでに調べられた全ての実験動物に癌を発生させた。また投与方法に関係なく、構造によって多種多様な臓器に特異的に発癌させることも可能であり、さらに種特異性も持つ。⁵⁾ 食品中に検出されること、および食品や医薬品のアミン類と、唾液に由来する亜硝酸が胃内で反応して生成することが知られ、ヒト癌の原因物質である可能性が高い。⁶⁾ ニトロソ化されるアミノ基を含む薬物と亜硝酸ナトリウムをラットに投与すると発癌作用がある。⁷⁾ ヒトの体内でもニトロソ化反応が進むことはプロリンと亜硝酸を投与して尿中にニトロソプロリンを単離することから推定できる。この際、硫黄を含む N-ニトロソアミノ酸が尿中に排泄されることも判った。⁸⁾ タバコに含まれる N-ニトロソ化合物についても詳しい研究

が進行している。⁹⁾

N-ニトロソ化合物には直接発癌物質であるニトロソアミドと前発癌物質であるニトロソジアルキルアミンとがある。直接発癌物質であるニトロソ尿素・ニトロソウレタン・ニトロソニトログアニジンなどのニトロソアミド類はいずれも加水分解などの非酵素的な反応でアルキルジアゾヒドロキシドを生じる。ニトロソジアルキルアミンはその活性を発現するには代謝系で活性化される必要がある。図-2 に示したこの代謝活性化ではニトロソ基に隣接する α 位炭素が酵素により水酸化される経路が主となる。ヒトの肝臓にもこの α -位水酸化活性があることが知られている。¹⁰⁾

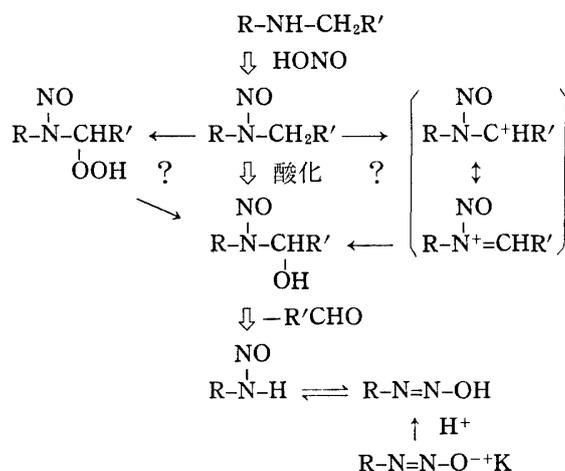


図-2. ニトロソジアルキルアミンの生成と推定活性化機構

α -ヒドロキシ体は非常に不安定であると考えられ、そのモデル化合物として α -アセトキシ体について多数の研究が発表された。これらの α -アセトキシ体は直接的な突然変異原性を示し、サルモネラ TA 1535 と大腸菌 WP 2, WP 2 hcr⁻ で tert-ブチル基を持つ化合物を除いていずれも強い活性を認めた。また、これらの活性は DNA のアルキル化による塩基対変換型である。哺乳動物細胞に対する効果はチャイニーズハムスター V 79 細胞で検討した。ウアバイン耐性を指標とした突然変異原性と細胞毒性はアルキル基の種類によって大きく異なり、アルキル基が長いほど活性が低く、化合物のアルキル化活性の順序と良く一致した。5種類の α -アセトキシ体を F-344 ラットに皮下投与した結果、投与部位に主に発癌性を示し、肺と甲状腺にも発癌させる化合物があった。これらの活性の強さもアルキル基が大きくなるにつれて弱くなった。¹¹⁾

α -アセトキシ体の磷酸緩衝液中の加水分解機構の検討で、O-アルキル開裂による α -ヒドロキシ体の生成とその分解によるアルデヒドとアルコールの生成のほかに、O-アルキル結合の開裂によるニトロソイミニウムイオンとニトロソカルボニウムイオンの共鳴混成体が溶媒の磷酸に捕捉されて α -ホスホノオキシ体を生成する経路を見出した。この捕捉体は突然変異原性を示し、その強さがサルモネラ TA 1535 に強く、大腸菌 WP 2 および WP 2 hcr⁻には弱いことが特徴である。 α -アセトキシ体は他の求核試薬とも反応してニトロソイミニウムイオンを経由した生成物を生じることを、チオフェノールおよびシアン化ナトリウムなどの反応で確認した。これらの α -位置換体はニトロソイミニウムイオンの捕捉体でもあるので、ニトロソジアルキルアミンが α -ヒドロキシ体に変換する際のニトロソイミニウムイオンを経る可能性を検討するための標準試料と

もなる。 α -アセトキシ体を酢酸中で過酸化水素と置換して合成した α -ヒドロペルオキシ体はさらに α -ヒドロキシ体の良いモデルであることがわかった。反応は酸触媒下での過酸化水素による求核置換反応で、ニトロソイミニウムイオンを経由した機構を推定した。¹²⁾

ニトロソジアルキルアミンの化学的な酸素化反応をも加えて、 α -ヒドロペルオキシ体の一般合成法を開発し、化学的反応性・安定性・アルキル化活性・細菌とチャイニーズハムスターV79細胞における突然変異原性・ラットによる発癌性を検定して生物活性がアルキル化に由来し、それぞれに良い相関があることを明らかにした。¹³⁾

代謝活性体の α -ヒドロキシN-ニトロサミンは不安定であるために単離不可能と考えられていたが、 α -ヒドロペルオキシ体の脱酸素化により初めて単離することに成功し、安定性・アルキル化活性・細菌および哺乳動物細胞に対する毒性と突然変異原性を証明した。N-ニトロソジアルキルアミンの突然変異原性と α 位代謝率をin vitro系で定量的に解析し、その生物活性の強さが α 位代謝率と相関し、突然変異原性スペクトルが α 位代謝で生じる α -ヒドロキシ体と同じであることから α -ヒドロキシ体がN-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性体であることを証明した。¹⁴⁾

α -ヒドロキシ体は中性水溶液中では不安定であったが弱酸性溶液中では予想外に安定で、特にN-ヒドロキシメチル体は5～6分の半減期で分解した。水溶液中では予想通りの機構で分解して、アルデヒドを遊離し、水のアルキル化によるアルコールを生じた。求核試薬の存在下ではアルキル化が進行し、デオキシングアノシン・デオキシアデノシン・チミジン・システイン・ヒスチジン等のアルキル化体を生じ、対応するニトロソジアルキルアミンのin vivo反応の生成物と一致した。細菌に対する突然変異原性試験でも α -ヒドロキシ体は強い活性を示した。その活性様式はもとのニトロソジアルキルアミンに代謝酵素系を加えた場合と良く一致し、またその強さはニトロソジアルキルアミンの α 位代謝率と良く相関した。生物活性はチャイニーズハムスターV79細胞でも検定し、強い突然変異原性を認め、その活性と細胞毒性が化合物のアルキル化活性と良く相関した。これらの結果は α -ヒドロキシ体がニトロソジアルキルアミンの代謝活性体であることを強く支持する。

アルキルジアゾヒドロキシドのカリウム塩は対応するニトロソアルキルスルホンアミドの塩基処理で合成でき、ジアゾヒドロキシドの安定性の推定に使用されると共に、強い突然変異原性を示した。¹⁵⁾

膀胱に特異的な発癌性を示すニトロソ4-ヒドロキシブチルブチルアミンとその親化合物であるニトロソジブチルアミンの代謝は詳しく検討され、ニトロソ3-カルボキシプロピルブチルアミンが膀胱癌の発現に関与し、一般的に3-カルボキシプロピル基を持つ代謝物を尿中に排泄することが膀胱癌の原因であることが明らかになった。¹⁶⁾ 食道に特異的に発癌性を示すニトロソメチルベンジルアミンについても代謝がその原因と考えられ、異なる動物種の各種臓器での比較検討がある。¹⁷⁾

ジアルキルトリアゼン

ジアルキルアリアルトリアゼンは発癌性アルキル化剤であると同時に制癌剤としても臨床的に使用されている。生体内では図—1のように1-ヒドロキシアルキルアルキルアリアルトリアゼンに代謝され、ついで脱アルキル化でモノアルキルトリアゼンとなってからそのアルキル化活性を示すと推定されている。各種のヒドロキシメチルアルキルアリアルトリアゼンとその誘導体を合成し、その反応性と制癌性の検定がなされた。¹⁸⁾

ジアルキルヒドラジン

図-3 のように対称性ジアルキルヒドラジンは代謝系で活性化されてアゾキシアルカンを経てアルキルアゾキシアルカノールになる。サイカシンのアグリコンであるメチルアゾキシメタノールが代表的な化合物である。

この活性構造であるアゾキシアルカン類はラットで臓器特異的な発癌性を示すことが証明された。アゾキシエタンはニトロソジエチルアミンと同様の活性であったのに対し、アゾキシメタンはニトロソジメチルアミンよりは弱く、また腫瘍発生部位も異なり、異なる反応機構を推定した。また突然変異原性も対応するニトロソジアルキルアミンとは異なり不活性であった。ヒドラジンの活性化経路にはアゾ体から脱アルキル化でアルキルダイアゼンを経由する機構も考えられている。¹⁹⁾

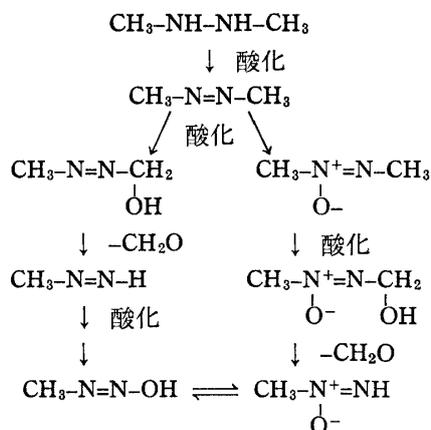


図-3. 1,2-ジメチルヒドラジンの活性化推定経路

参考文献

- 1) R. Doll, R. Peto, J. Natl. Cancer Inst., **66**, 1191 (1981).
- 2) 渡部 烈, 化学の領域 増刊 129号, 7 (1980); 首藤紘一, ファルマシアレビュー No. 6, 1 (1981); E.C. Miller, J.A. Miller, Cancer, **47**, 2327 (1981); 望月正隆, 病態生理, **1**, 123 (1982).
- 3) R.C. Grafstrom, A.E. Pegg, B.F. Trump, C.C. Harris, Cancer Res., **44**, 2855 (1984); T. Yagi, D.B. Yarosh, R.S. Day, III, Carcinogenesis, **5**, 593 (1984); J. Hall, H. Bresil, R. Montesano, Carcinogenesis, **6**, 209 (1985); L.D.B. Yarosh, Mutat. Res., **145**, 1 (1985).
- 4) H. Zarbl, S. Sukumar, A.V. Arthur, D. Martin-Zanca, M. Barbacid, Nature, **315** (1985).
- 5) H. Druckrey, R. Preussmann, S. Ivankovic, D. Schmahl, Z. Krebsforsch., **69**, 103 (1967); W. Lijinsky, J. Cancer Res. Clin. Oncol., **108**, 46 (1984); 前川昭彦, 荻生俊昭, 中館正弘, トキソロジーフォーラム, **8**, 221 (1985).
- 6) H. Bartsch, R. Montesano, Carcinogenesis, **5**, 1381 (1984).
- 7) W. Lijinsky, Fd. Chem. Toxic., **22**, 715 (1984).
- 8) M. Tsuda, T. Hirayama, T. Sugimura, Gann, **74**, 331 (1983); H. Ohshima, I.K. O'Neill, M. Friesen, J.-C. Bereziat, H. Bartch, J. Cancer Res. Clin. Oncol., **108**, 121 (1984).
- 9) D. Hoffmann, S.S. Hecht, Cancer Res., **45**, 935 (1985).
- 10) C.E. Phillipson, C. Ioannides, Carcinogenesis, **5**, 1091 (1984).
- 11) M. Mochizuki, E. Suzuki, T. Anjo, Y. Wakabayashi, M. Okada, Gann, **70** 663 (1979); G.F. Huang, M. Mochizuki, T. Anjo, M. Okada, Gann, **72**, 531 (1981); A. Maekawa, T. Ogiu, H. Onodera, K. Furuta, C. Matsuoka, M. Mochizuki, T. Anjo, M. Okada, S. Odashima, J. Cancer

- Res. Clin. Oncol., **104**, 13 (1982).
- 12) M. Mochizuki, T. Anjo, Y. Wakabayashi, T. Sone, M. Okada, Tetrahedron Lett., **21**, 1761 (1980).
 - 13) M. Mochizuki, T. Sone, T. Anjo, M. Okada, Tetrahedron Lett., **21**, 1765 (1980); M. Okada, M. Mochizuki, T. Anjo, T. Sone, Y. Wakabayashi, E. Suzuki, IARC Sci. Publ. No. 31, 71 (1980); K. Kohda, M. Mochizuki, T. Anjo, M. Okada, Gann, **73**, 522 (1982); M. Takahashi, Y. Kurokawa, A. Maekawa, T. Kokubo, F. Furukawa, M. Mochizuki, T. Anjo, M. Okada, Gann, **73**, 687(1982).
 - 14) M. Mochizuki, T. Anjo, M. Okada, Tetrahedron Lett., **21**, 3693 (1980); M. Mochizuki, T. Anjo, K. Takeda, E. Suzuki, N. Sekiguchi, G.-F. Huang, M. Okada, IARC Sci. Publ. No. 41, 553 (1982); E. Suzuki, M. Mochizuki, Y. Wakabayashi, M. Okada, Gann, **74**, 51 (1983); M. Mochizuki, M. Osabe, T. Anjo, E. Suzuki, M. Okada, J. Cancer Res. Clin. Oncol., **108**, 290 (1984); E. Suzuki, M. Mochizuki, K. Takeda, M. Mochizuki, Jpn. J. Cancer Res. (Gann), **76**, 184 (1985).
 - 15) L.I. Hecker, J.E. Saavedra, J.G. Farrelly., A.W. Andrews, Cancer Res., **43**, 4078 (1983).
 - 16) M. Mochizuki, C.C. Irving, T. Anjo, Y. Wakabayashi, E. Suzuki, M. Okada, Cancer Res., **40**, 162 (1980); E. Suzuki, M. Mochizuki, M. Okada, Gann, **72**, 713 (1981); M. Okada, IARC Sci. Publ. No.57, 401 (1984).
 - 17) G.E. Labuc, M.C. Archer, Cancer Res. **42**, 3181 (1982); R. Mehta, G.E. Labuc, S.J. Urbanski, M.C. Archer, Cancer Res. **44**, 4017 (1984).
 - 18) C.M. Hemens, H.W. Manning, K. Vaughan, R.J. LaFrance, Y. Tang, Canad. J. Chem., **62**, 741 (1984); S.C. Cheng, J. Iley, J. Chem. Res. (S), 320 (1983); S.C. Cheng, L. Fernades, J. Iley, E. Rosa, Tetrahedron Lett., **26**, 1557 (1985); J. Hradec, G.F. Kolar, Carcinogenesis, **6**, 995 (1985); G.F. Kolar, M. Habs, J. Cancer Res. Clin. Oncol. **108**, 71 (1984).
 - 19) W. Lijinsky, M.D. Reuber, J.E. Saavedra, Cancer Lett., **24**, 273 (1984); O.D. Wiestler, P. Kleihues, J.M. Rice, S. Ivankovic, J. Cancer Res. Clin. Oncol., **108**, 56 (1984); E.S. Fiala, C. Stathopoulos, J. Cancer Res. Clin. Oncol., **108**, 129 (1984); W. Lijinsky, J.E. Saavedra, M.D. Reuber, Cancer Res., **45**, 76 (1985); S.J. Moloney, P. Wiebkin, S.W. Cmmings, R.A. Prough, Carcinogenesis, **6**, 397 (1985); W. Lijinsky, A.W. Andrews, R.K. Elespuru, J.G. Farrelly, Mutat. Res., **157**, 23 (1985).

アルカンジアゾテートの化学的・生物学的性質に 対するアルキル基の効果

鈴木厚子, 鴨下恵美子, 望月正隆

〔日本薬学会 第106年会 (1986年4月, 千葉) で発表〕

〔目的〕 N-ニトロソ化合物は最終的にはDNAをアルキル化して発癌性を示し, その究極的な活性体としてアルキルジアゾヒドロキシド ($R-N=N-OH$) が考えられている。この化合物は水の存在で不安定であるため本実験ではカリウムアルカンジアゾテート ($R-N=N-OK$) を用いてその化学的性質と突然変異原性に及ぼすアルキル基の効果を調べ, N-ニトロソ化合物の活性化における役割を検討した。

〔実験・考察〕 syn-カリウムアルカンジアゾテートはN-アルキル-N-ニトロソ-p-トルエンスルホンアミドをカリウムエトキシドで処理して合成し, anti-カリウムジアゾテートはモノアルキル