

実験的ラット口腔癌発生におよぼす遺伝的要因

——付・4NQO誘発ラット口腔癌について

北野元生¹⁾・波多野浩道²⁾

Genetic background of susceptibility to experimental oral carcinoma in rats with an overview on studies of 4NQO-induced carcinoma

Abstract

The genetic background in relation to the susceptibility to experimental oral carcinogenesis in rats was reviewed. As an experimental model, 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO)-induced rat carcinoma is thought to be excellent. Because it demonstrates obvious organotropic, species and strains specificity in its carcinogenesis. Administration of 4NQO-solution as drinking water produces oral carcinomas in rats with a high incidence. We described strain differences on susceptibility to 4NQO-induced rat carcinoma especially of the tongue concerning 1) enzymal activity of 4NQO metabolism, 2) 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO)-DNA adduct formation (4HAQO is the proximate carcinogenic derivative from 4NQO), 3) DNA repair processes, and 4) immunological response comparing various strains of rats, to clarify the genetic controls on the experimental carcinogenesis in rats.

はじめに

癌は遺伝するかという問いかけが古くからされてきた。発癌は細胞のDNA即ち遺伝子レベルに生じた変異を源とすると理解すれば、事象としては間違いなく「遺伝(子)的」であるということが出来るが、発癌の多くは個々の体細胞におこった事件であるので、それ自身は「遺伝性」とはいえない。しかしながらその反面、両眼性の網膜芽細胞腫のような遺伝性の癌の存在があることも認められてきており、また色素性乾皮症のようないわゆる高発癌性遺伝性疾患も存在する。このほかにも広い意味での発癌に対する宿主の抵抗性あるいは感受性が存在し、これが遺伝的に規定されているこ

とが推定されている。癌と遺伝ということ論ずるとき、発癌遺伝子における分子レベルでの機構、遺伝性癌、高発癌性遺伝性疾患、癌に対する生体の抵抗性あるいは感受性の遺伝子支配(Fig. 1)¹⁾といった広い観点からの概観が必要であると思われる。

ナポレオンは流されたセントヘレナ島で胃癌で死亡したが、彼の家系は胃癌の多発家系であったといわれている。この例で示されるような癌の多発家系は確かに存在するけれども古典的遺伝疫学による解析は多くの場合、このような家系における遺伝要因の関与を示唆するにとどまっていた。その中で網膜芽細胞腫はもっとも詳細な解析がされ、メンデルの法則に従った常染

1) 鹿児島大学歯学部口腔病理学講座*

*住所：(〒890) 鹿児島市桜ヶ丘8丁目35-1

2) 鹿児島大学歯学部予防歯科学講座

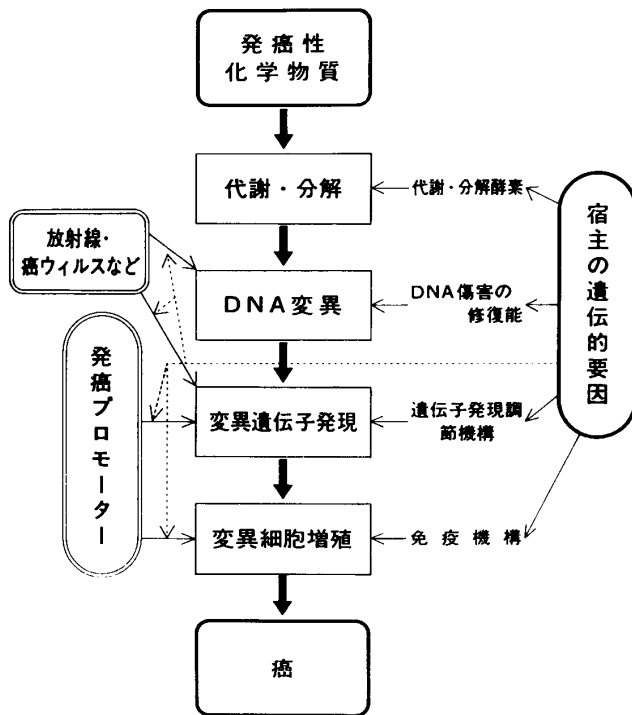


Fig. 1. Schema of the genetic controls on chemically induced carcinogenesis (modified from Moriwaki, 1985).

染色体優性遺伝疾患であることが示された^{2,3}。家族性乳癌⁴、家族性悪性黒色腫⁵、などが常染色体優性遺伝様式を示すとされている。

遺伝性疾患のうちでそれ自身は癌とはいえないが高い癌化のリスクを負っていると考えられる高発癌性遺伝性疾患がある。家族性大腸腺腫症^{6,7}、色素性乾皮症^{8,9}、末梢血管拡張性運動失調症^{10,11}、Bloom 症候群¹²、Fanconi 症候群¹³などがこれに含まれる。これらのうち家族性大腸腺腫症は常染色体優性遺伝様式を示し、他は常染色体劣性遺伝を示す。これらの患者は DNA 損傷の修復機構に欠陥を有するものが多い。また高度の染色体異常を伴うものもある。

Burnet (1970)¹⁴ などによって提唱された免疫監視機構 immunological surveillance の仮説は宿主が免疫学的防衛機構をもって癌に抵抗しているであろうとの多数の証拠を基盤として成立している。免疫抑制療法を受けている移植患者¹⁵ や獲得性免疫不全症候群 (AIDS)¹⁶ の患者に高頻度に癌の発生をみる事が知られている。先に述べた末梢血管拡張性運動失調症は先天免疫不全症候群の 1 つでもあり、発癌には DNA 損傷の修復

機構の欠陥とともに免疫的要因が強く関与していると考えられる。その他の種々の型の先天性免疫不全症候群の患者は正常対照群と比較して極めて高い発癌率を示す¹⁷。以上の事項から免疫応答系が発癌に対して一般に抑制的に（稀に促進的に）機能していることが推察されている。従って免疫不全と発癌との関係を考察する場合、1) ある突然変異遺伝子が免疫不全をもたらすと同時に、免疫担当細胞またはその他の細胞を癌化せしめるのか、2) 免疫不全によって二次的に悪性腫瘍の発生が促進されるのか、との 2 つの側面を分析する必要があると思われる。

癌に対する感受性と抵抗性についての遺伝的支配に関しては、マウスを中心とした動物における実験発癌の系で多方面からの研究がされている。一般に発癌性化学物質は生体の高分子特に DNA に作用して、正常細胞とは異なった形質発現を惹起し、細胞を癌化へ導くと考えられる。ある種の化学物質はそれ自身が発癌性を示すが、多くは生体内で代謝的な活性化をうけることによって、より発癌力に富んだ究極型化合物に変換されてから DNA などの高分子に作用する。チトクローム P 450 などの薬物代謝酵素活性が動物の系統間で差があり従って化学発癌に対する感受性についても差があることが認められている^{18,19}。

癌ウイルスによる発癌の機構は癌ウイルスによって宿主細胞にウイルス性癌遺伝子が導入されるか、あるいは宿主の既存の細胞性癌遺伝子が活性化するためであると考えられている。宿主はこれらのウイルスの増殖抑制、ウイルスの排除、またはウイルスに誘発された癌に対する抵抗性（免疫機構）で対応すると考えられるが、これらが遺伝的支配を受けている例があることがわかっている。たとえば Gross ウイルス²⁰ や Friend 白血病ウイルス²¹ で誘発されるマウス白血病には H-2 ハプロタイプの異なるマウスの系統間で潜伏期間や発癌率に差がある。ヒト癌ウイルスにおいても、例えば HTLV-1 ウイルスによる ATLL の発症は HLA ハプロタイプとかなり相関することがわかってきた。HTLV-1 ウイルスの感染者の全てが ATLL を発症するのではなく、HLA ハプロタイプによっては発症しやすく、また異なったハプロタイプで脊髄症という全く別のタイプの疾患を示すことが鹿児島大学第 3 内科が中心に行っている研究によって明らかにされつつある²²。外来抗原に対する免疫応答に依存した疾患群や自己免疫疾患の中には HLA クラス II 抗原と有意な相関を示すものがあり、HLA と連鎖した免疫応答遺伝子や免疫抑制遺伝子が発癌に密接にかかわっている可能性が指摘される。

癌化過程には、多面的な機能をもった複数の遺伝子の活性化が必要であり癌化機構は癌遺伝子が発見された当初の予想よりはるかに複雑であると思われる。われわれ人類はいつ活性化されるともわからない癌遺伝子や、いつ失活化または脱落するかわからない癌抑制遺伝子およびそれらの関連遺伝子をゲノムの中に温存することが運命づけられている。またそれら遺伝子を取り巻く細胞内外の環境要因がいつどのように癌化にとって都合の良い方向へ変化するかもわからない。

最近分子生物学の発展に伴って多数の癌遺伝子や癌抑制遺伝子およびそれらの関連遺伝子が同定されている。本来これらの遺伝子とは正常細胞にあって細胞増殖や器官形成、成熟、老化といった生命現象に重要な役割を果たしていると考えられるが、癌とはそのような遺伝子の変調によってもたらされた細胞の異常増殖であることが多くの人々に容認されるようになってからそんなに日時は経っていないのである。

ヒトの口腔癌

東南アジアからインドにかけての地方および南太平洋諸島の人々には口唇および口腔癌が多発し、とくに口唇・口腔癌が全癌症例のうち最高の頻度を示すことは良く知られている。全癌症例のうち口腔癌症例は日本人ではせいぜい0.6%であるのに対してインドやタイでは15%にも達するという報告がある。単純に考えると口唇・口腔癌発生率に明白な人種間の差が存在すると思えるが、betel nutや煙草などを口内に長時間含んで噛む習慣^{23,24)}がこれらの地方に住む人々の発癌に寄与していることが明らかにされている。また欧米人はパイプ煙草を好んで吸うが、これも口唇癌を誘発しやすいといわれている。日本では口腔癌の発生率は男性は女性の約2倍であるが、これは性素因を考えるより、喫煙や飲酒などの嗜好や習慣によるものであろうと考える方が合理的である。従ってヒトでは癌の発生率についての人種間の差異や性差を云々するのは極めて困難な場合も多く、上に述べたように口腔癌については、人種要因や性要因よりもはるかに風俗・習慣要因がそれを左右しているようである。

ヒトは遺伝学的に不均質であり、交配を人為的にコントロールできないこと、ほかの生物に比較して子供の数も少なく、1世代の期間が長い。しかも癌は成人の後期に発生すること（あるいは発見されること）が多く、動物における発癌実験に比較して正確なデータの集積作業が困難である。これらの困難さのゆえに、ヒトの癌の遺伝学的研究の発展は遅く、むしろ、はじ

めは実験動物における研究が先行していた。しかし最終的にヒトの癌を理解するためには、ヒトの癌についての全容を明らかにすべく研究を行わなければならない。

口腔癌はわが国や欧米諸国において発生頻度も低く、古典的な統計遺伝学的アプローチの対照になじまなかった感がある。その意味で先にも触れたが、鹿児島大学歯学部口腔外科の国芳の研究²⁵⁾は重要である。即ち悪性口腔腫瘍患者で本籍が鹿児島県にある48人中20人(41.7%)はHLA-DRw8を有しており、これは鹿児島在住の日本人成人110人中17人(15.5%)、一般日本人成人1998人中369人(19.8%)に比較して有意に高い頻度であった。即ちHLA-DRw8を有する人は口腔癌に患しやすいかも知れないということを示したことは極めて画期的であった。HLAに関する遺伝子はNo.6染色体に座があるが、本染色体にはこれまでのところ発癌遺伝子は存在していないようである。従って口腔癌とHLAを問題にする場合、癌免疫にHLAが関与していると考えるのが妥当であるかも知れない。それはともかくとして、今後これを突破口にしてヒトの口腔癌と遺伝とのかかわりがより詳細に研究されることが望まれる。

高発癌性遺伝性疾患の中で常染色体性優性遺伝を示すCowden病は乳癌を発症するリスクの大きい高発癌性遺伝性疾患であるが、口腔乳頭腫を発生しやすいといわれている。Bloom症候群は劣性遺伝性疾患で白血病やリンパ腫を発生するリスクが大きい舌癌も生じた例がある。遺伝型式は不明であるが遺伝要因が強く発癌にかかわっていると考えられているPlummer-Vinson症候群では口腔に前癌病変や癌が生じやすいといわれている。常染色体性優性遺伝型式を示すGardner症候群は大腸腺腫症や多発性骨腫などを発生することが特徴であるが、顎骨には骨腫や歯牙腫がみられる。Gorlin症候群は基底細胞性母斑症候群とも呼ばれている常染色体優性遺伝性疾患であるが顎骨内に角化嚢胞を形成しやすい。また歯肉肥大症を有す種々の遺伝形成を示す症候群などが報告されているが成書²⁶⁻²⁸⁾などを参照していただきたい。

化学発癌実験

ヒトの癌の原因として、自然界を含む環境中の化学発癌物質の関与が強く示唆されている。ヒトの癌の発生要因として明らかにされた化学物質もある。動物に化学物質または化学発癌物質を投与して行う実験は、従って目的意識はしぼられてくる。要約すれば、環境

中の化学発癌物質の臓器特異性についての検索, 実験モデルの確立, 組織発生の追求, 発癌修飾因子に対する検索などが実験の目的としてあげられる。当然これらの相互間の移行もありうる。

1つの実験から得られる知見は当然極めて少数の現象にすぎないが, その知見を基盤に研究を進展させることで研究成果は少しずつ蓄積され, 上の目的意識に合致した多方面に貢献しうる有用な情報が得られることが期待されよう。

マウスでは, 自然発生腫瘍, ウィルス・放射線誘発腫瘍とくに白血病については遺伝学的分析が進みウィルス遺伝子の発現, 腫瘍細胞の増殖, 免疫能などに関する宿主遺伝子が多数報告されている。化学発癌剤誘発腫瘍発生については感受性や抵抗性に系統差が認められるとの報告が多いにもかかわらず, 遺伝的支配がはっきりしているものは少ない²⁹⁾。

ラットは比較的近年に至るまで近交系が開発されていなかった事情もあり, マウスにおけるほどの研究成

果は得られていない。しかし最近では, 多数の近交系が開発されてこの方面の研究の進展は目をみはるものがある³⁰⁻³⁶⁾。しかし化学発癌剤誘発腫瘍発生については, マウスと同様感受性や抵抗性に系統差が認められる³⁷⁻⁴¹⁾との報告に止まっている。

その中で Shisa and Hiai の研究³³⁾ は注目に値する。propylnitrosoarea (PNU) を飲料水に混じて投与するといずれの系統のラットも高率に白血病を発症する。ところが, Fischer 344 系ラットでは胸腺リンパ腫型の白血病がほぼ100%であるのに比較し, Long-Evans/stm 系ラットではこの型の白血病は非常に少なく赤芽球性白血病が発生しやすい。そこでこれら Fischer 344 系ラットと Long-Evans 系ラットを交配して F1-, F2-hybrid を造りこれらのグループと F1-hybrid を Long-Evans へ退交雑 (back cross) したグループに同様の実験をした。各群の胸腺リンパ腫型白血病的発生頻度を調べた結果, PNU-誘発ラット胸腺リンパ腫型白血病は単一常染色体性優性遺伝子によって支配され (Table

Table 1(a): Strain difference in susceptibility to PNU-induced leukemias among 6 strains of rats

Strain	No. of rats	All leukemias (%)	Latent period (days)	Thymic lymphomas (%)
Fischer 344	42	41 (98)	105	41 (98)
Wistar/Furth	41	36 (88)	152	29 (71)
Sprague-Dawley	41	34 (83)	135	12 (29)
Donryu	49	44 (90)	150	12 (24)
ACI/Ms	44	43 (98)	130	10 (23)
Long-Evans/stm	42	40 (95)	151	4 (10)

(from Shisa and Hiai, 1985)

Table 1(b): Genetic segregation of susceptibility to PNU-induced thymic lymphoma in F1 hybrid, backcross and F2 generation between Fischer 344 and Long-Evans/stm rats

Rats	No. of rats	All leukemias (%)	Thymic lymphomas	
			observed (%)	Expected (%) ^{a)}
F1 hybrid rats between Fischer 344 and Long-Evans/stm	76	73 (96)	73 (96)	76 (100)
Backcross to Long-Evans/stm	154	138 (90)	73 (47)	77 (50)
F2 generation	92	80 (87)	65 (71)	69 (75)

a) Theoretical incidence obtained on the assumption that the difference in susceptibility to PNU-induced thymic lymphomas of Fischer 344 and Long-Evans strains is controlled by a single dominant gene.

(from Shisa and Hiai, 1985)

1 a, b), かつこの遺伝子の座と体毛の色を支配する2つの遺伝子の座とは連鎖関係があることが明らかになった。体毛の色と胸腺リンパ腫型白血病の発症の交叉率から PNU 誘発胸腺リンパ腫型白血病を支配する遺伝子の座が求められた。彼らは基本的には古典的遺伝疫学的手法を用いたのであるが、ラットの発癌実験で明瞭な遺伝支配や遺伝子の座を決定した研究はほかに類がない。

常染色体劣性遺伝を示す無アルブミン血症ラット (NAR)⁴²⁾ は Sprague-Dawley ラットの変異種で近交系化された。ラットの無アルブミン血症をきたす変異遺伝子については DNA レベルまでの解析が進んでいる。血清アルブミンは内因性または外来性の種々の物質、例えば胆汁酸、ホルモン、毒物や薬剤、さらには発癌性化学物質などの血液中の運搬を担っていると考えられているので、発癌実験にも NAR が応用されている^{43,44)}。発癌物質のあるものはアルブミンに包含されて標的臓器にまで運ばれるので正常ラットに比較して NAR での標的臓器が同じであるかどうかを調べることは極めて意味深いことである。また、アルブミン欠乏に伴って脂質代謝や血清蛋白含量の異常、細胞の膜系における変化、異常栄養状態などが招来されるが、これらの影響下で発癌の頻度が変動するかどうかなどを検索するのに都合が良い。

このような既知の異常遺伝子を有す (または明瞭な表現形質を示す) 系統のラット (あるいはマウスなど他の実験動物も含めて) を用いて正常ラットにおける発癌物質に対する感受性や抵抗性と比較することによって、その遺伝子 (または形質) の発癌における機能を明らかにすることができれば発癌のメカニズムや癌にかかりやすさの要因の本体も次第に明らかになるであろう。

4 NQO 誘発ラット口腔癌について

ラットを含めて実験に用いる小動物には口腔癌の自然発生は極めて稀である。従来これらの小動物に実験的に口腔癌を高頻度で作ることは難しく、ハムスターの頬嚢へ 20-MC, 3, 4-BP, DMBA を塗布 (Salley)⁴⁵⁾, マウス舌に 20-MC を塗布 (Levy)⁴⁶⁾ などが最初の成功例であろう。Fujino⁴⁷⁾ は 4 NQO をマウス口腔内局所塗布により、Herrold⁴⁸⁾ は MNU のハムスター静注によって、いずれも口腔粘膜に癌を発生せしめた。舌癌や歯肉癌などはハムスターの人工的に作成した擦過創への DMBA 塗布によって作ることができる⁴⁹⁾。しかしこれらの方法は動物に加える人工的操作が複雑な上、

癌発生については再現性に欠けるきらいがあった。

4-nitroquinoline 1-oxide (4 NQO) 水溶液を飲料水として投与することでラットに高頻度に口腔癌を作成する方法を確立したのは大根ら⁵⁰⁻⁵²⁾ の功績である。本発癌実験の方法は簡単でしかも癌の発生頻度は高く発癌についての再現性に極めてすぐれている。ただし癌の発生部位は口唇から前胃までの上部消化管に広く亘っており、舌なら舌、歯肉なら歯肉というように口腔の中の一定の標的臓器に絞ることが難しいこと、ほかの発癌実験に比較して発癌までにやや長時間を要することなどが難点ではある。

4 NQO^{53,54)} は中原ら⁵⁵⁾ が開発した人工的発癌物質であり自然界には存在しない。水にも溶けるが脂溶性の性格が強い。皮膚や上部消化管粘膜の扁平上皮細胞が高感受性を示すが⁵⁶⁻⁵⁹⁾、間葉細胞とくに線維芽細胞も感受性は高いようである^{60,61)}。また気管や気管支の粘膜上皮や脾臓の腺細胞も腫瘍化することが知られている⁶²⁻⁶⁵⁾。4 NQO は細胞内で 4-hydroxyamino-quinoline 1-oxide (4 HAQO) に還元され⁶⁶⁻⁶⁸⁾、4 HAQO が核内 DNA のプリン体と結合し 4 HAQO-DNA 付加体を形成する^{62,69-74)}。この DNA 損傷を修復する際にエラーを生じこれが癌化を招来するものであると信じられている。従って癌化に至るまでに細胞体内の 4 NQO 還元酵素活性や DNA 損傷の修復能が重大にかかわってくるようである。4 NQO による DNA 損傷の修復能については紫外線照射によって生じるピリミジン二量体の除去修復とかなり相関していると考えられる人が多い。色素性乾皮症はピリミジン二量体の除去修復能に欠陥を伴っているが、この患者から得られた培養細胞は正常人のそれと比較して 4 NQO に対しても感受性が高いことが示されている⁷⁵⁻⁸⁰⁾。これとは別に、先に述べた家族性大腸腺腫症、家族性悪性黒色腫、および末梢血管拡張性運動失調症の患者から得られた培養細胞も 4 NQO による DNA 損傷に対する修復能に欠陥があることが示されている。また本修復能には動物種間でも大きく異なりラットはヒトの 5 分の 1 であることなどが明らかにされている⁸¹⁾。

われわれは⁸²⁻⁸⁴⁾ 大根らの投与方法 (一部改変) で 0.001% の 4 NQO 水溶液を 7 系統の雌雄ラットに生後 6 週目から死亡するまで飲料水として投与すると、全例に口唇から前胃までの上部消化管に扁平上皮癌が多発性に発生したことが剖検によって確かめられた (Fig. 2, 3, 4, 5)。実験開始から死亡するまでの生存期間には性差はみられなかった。そこで雌雄を合わせて、系統間の差異を一元配置分散分析により検定したところ系



Fig. 2. Photomicrograph of a 4NQO-induced tongue carcinoma in an ACI rat. Invasive growth of a well differentiated squamous cell carcinoma is noted. Hematoxylin-eosin, $\times 35$.



Fig. 3. Photomicrograph of 4NQO-induced gingival carcinoma in a D-A rat. Destructive growth of an invasive squamous cell carcinoma is seen in the mandibular bone and periodontal tissue. Hematoxylin-eosin, $\times 17$.

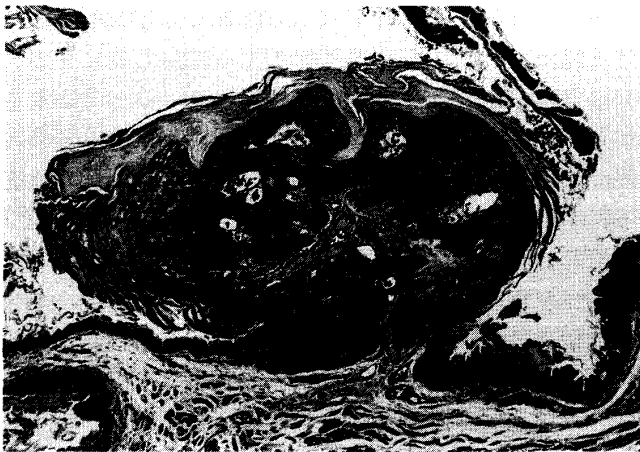


Fig. 4. 4NQO-induced squamous cell carcinoma of the oropharynx in a D-A rat. The carcinoma presents as a polypoid growth. Hematoxylin-eosin, $\times 85$.



Fig. 5. 4NQO-induced squamous cell carcinoma of the upper esophagus in a W/F rat. Hematoxylin-eosin, $\times 85$.

統間に生存期間の有意な差がみられた（有意水準 1%）。すなわち Dark-Agouti (D-A) では平均生存期間はもっとも短く、Wistar/Furth (W/F) ではもっとも長く、Scheffe の S-testにより対比較の結果からは

W/F とその他の Strain では、有意な差があることが示唆された (Table 2)。ところが発生した癌には部位差がみられ (Fig. 6, 7)、とくに舌においては生存期間の短い D-A ラットでは直径 7 mm 以上の巨大な塊状

Table 2: Survival Time of Seven Strains of Rats Treated with 4NQO

Strain	Sex	No. of rats	Survival Time (days)	Average (days)	Average, M+F (days)	S. D.
Dark-Agouti	M	12	130-206	173.92	176.78 *	31.37
	F	11	120-226	179.91		
Long-Evans/stm	M	12	129-234	176.58	182.00 *	38.80
	F	10	126-257	188.50		
Sprague-Dawley	M	12	142-235	174.92	186.21 *	31.21
	F	12	151-241	197.50		
ACI/Ms	M	28	141-270	186.14	189.44 *	27.42
	F	13	130-226	196.54		
Fischer 344	M	12	147-217	193.08	199.54 *	30.13
	F	12	154-266	206.00		
Donryu	M	11	130-243	195.55	205.39 **	31.02
	F	12	190-157	214.42		
Wistar/Furth	M	14	213-290	236.50	238.24	23.55
	F	15	182-290	239.87		

Scheffe's S-test: * P < 0.01

** P < 0.05

癌を作るのに対し (Fig. 8, 9) W/F ラットでは生存期間が長いにも拘らず巨大な塊状癌を作る傾向は低く、全く癌発生を示さないものもあった (Fig. 10, 11)。生存期間と塊状癌を指標にすると 4NQO 誘発扁平上皮癌の舌粘膜上皮についての感受性は雌雄間で性差は全くみ

られないが系統間でかなりの差があるといつて良いようであった (Table 3)。とくに D-A ラットと W/F ラット間の系統差は大きいようであった (Table 4)。

そこで、これら両系統の 6 週齢雄性ラットに 4 週間だけ 4NQO を先と同様の方法で投与したのち、

Dark-Agouti	Tongue	Floor of mouth	Mandibular gingiva	Buccal mucosa	Maxillary gingiva	Hard palate	Pharynx	Larynx	Trachea	Esophagus	Forestomach	Others	Survival Time (days)
Male-1	●*	○			○	○	○*			○		Lip	217
3	●*	○	●		○	○					○	Pn	136
5	●*		●		○	○							190
7	●*		●		○	○	○						196
9	●*	●		○	○	○							189
11	●				○	○	○						206
13	●*				○	○	○*						179
15	●				○	○							130
17	●*		○	●	○	○						Pn	171
19	●												126
21	○*		●			○							158
23	○*				●	○	○*			○			189
Female-2	○*		●			○							154
4	●*					●	○						181
6	●				○	●							200
8	●*				○	○	○					Pn	120
10	●					○	○					Pn	158
12	●*			●	○	○	○						190
14	●*				○	○	○*					Lip	226
16	●*				○	○							175
18	●*				○	○	○*					Lip	226
20	●*				○	○	○*					Lip	212
22	●*	○	○			○	○				○	Pn	137

● Massive carcinoma measuring more than 7 mm in its largest diameter.
 ●* Multiple carcinomas with one or more massive carcinoma(s).
 ○ Carcinoma measuring less than 7 mm in its largest diameter.
 ○* Multiple carcinomas without a massive carcinoma.
 Lip Carcinoma of the lip.
 Pn Pneumonia.

Fig. 6. Summary of the autopsy findings of D-A rats treated with 4NQO.

Wistar Furth	Tongue	Floor of mouth	Mandibular gingiva	Buccal mucosa	Maxillary gingiva	Hard palate	Pharynx	Larynx	Trachea	Esophagus	Forestomach	Others	Survival Time (days)
Male-1	○*		●		○	○	○						232
3	○		●			○	○*					Asp	246
5	●*		○		●	○	○	○	○	○		Asp	290
7		○	○		○	○	○*						217
9	○		●			○	○*	○				Asp	230
11						○	○*	○*	○				222
13	○				○	○	○	○*	○*			Asp	262
15						○	○	○				Asp	213
17		●				○	○*	○				Lymph node metastasis	231
19	○				○	○	○	○				Asp	217
21	●*		●		○	○	○	○	○			Lip	246
23	○	○*	●	○	○	○	○	○	○			Asp	230
25	●				○	○	○	○	○	○			246
27	○				○	○	○*	○*	○			Asp	229
Female-2	○			○	○	○	○*	○*	○*			Asp	273
4	○				○	○	○	○*	○	○		Asp	262
6	○		○		○	○	○	○	○*		○ diffuse	Asp	246
8	●				○	○	○*						258
10	●		●		○	○	○						217
12			●		○	○	○	○		○			230
14	○	○	○			○	○						246
16	○		○		○	○	○*	○	○		○	Asp	256
18	●		●	○	○	○	○*	○	○				230
20	●				○	○	○	○	○*			Asp	215
22	○*				●	○	○*	○	○				239
24	○		○		○	○	○	○*	○			Asp	290
26			●		○	○	○*	○					182
28					●	○	○	○				Asp	208
30	○				●	○	○*	○*	○			Asp	246

● Massive carcinoma measuring more than 7 mm in its largest diameter.
 ●* Multiple carcinomas with one or more massive carcinoma(s).
 ○ Carcinoma measuring less than 7 mm in its largest diameter.
 ○* Multiple carcinomas without a massive carcinoma.
 Lip Carcinoma of the lip.
 Asp Aspiration pneumonia.

Fig. 7. Summary of the autopsy findings of W/F rats treated with 4NQO.

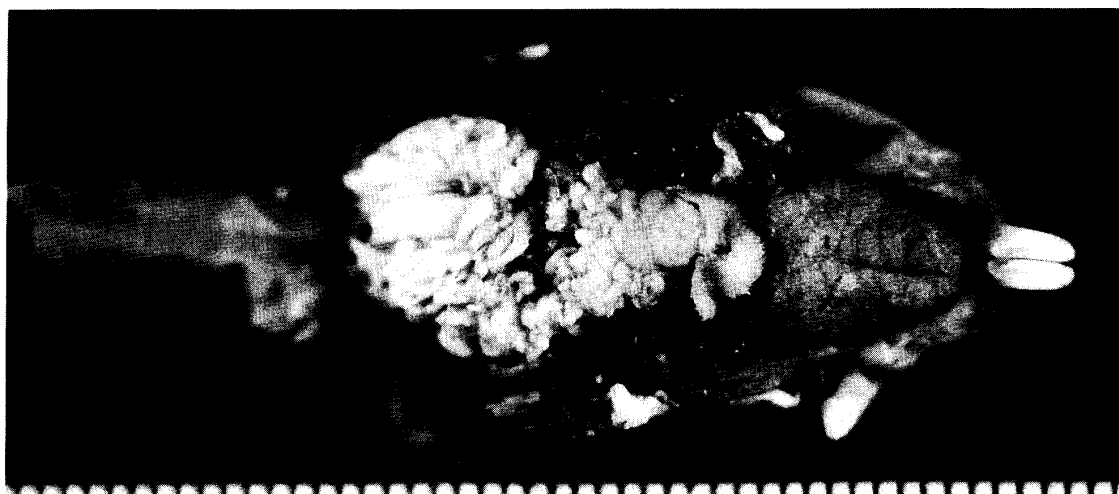


Fig. 8. A massive carcinoma of the posterior half of the dorsal aspect of the tongue of a D-A rat (D-A 19) treated with 4NQO for 126 days.

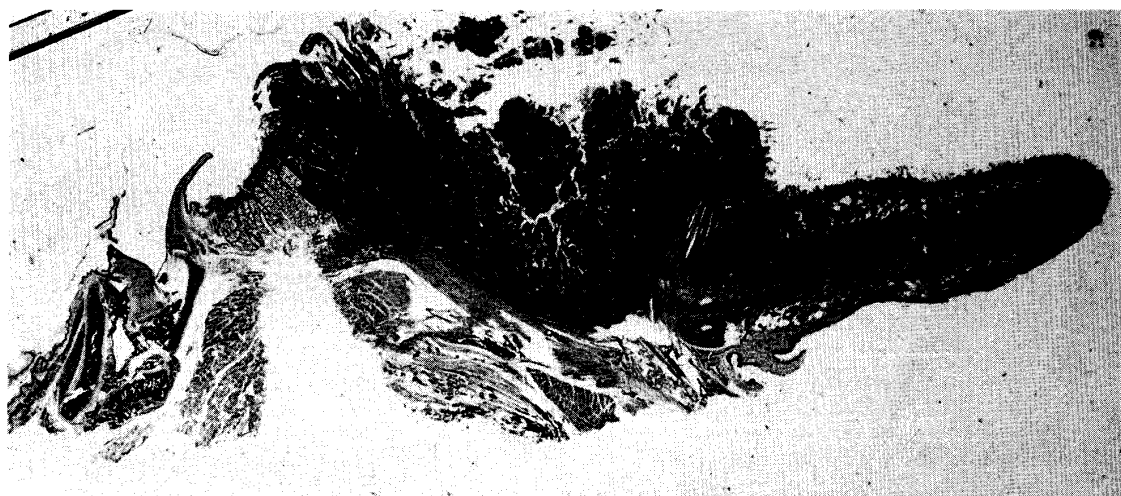


Fig. 9. Low-magnification photomicrograph of a histological section of the tongue of the case seen in Fig. 8. Deep invasion with muscular involvement is prominent. Hematoxylin-eosin, $\times 5$.

DNA 合成の際 Thymidine と競合して DNA 鎖に取り込まれることが知られている bromodeoxyuridine (BrdU)⁸⁵⁻⁸⁷⁾ を腹腔内に投与し、舌粘膜上皮細胞における BrdU の核内取り込みを調べたところ、両系統の間で明らかな差があることがわかった。すなわち 4NQO を投与すると両系ラットともに BrdU を取り込んだ核数は 4NQO を投与指定内対照ラットに比較して有意に増加するものの、D-A ラットは W/F ラットにくらべると増加ははるかに高いのである (Fig. 12, 13, 14)。同様

に舌粘膜上皮細胞中の核分裂像の数⁸⁸⁾にも BrdU の取り込みと同様の傾向を示し、両系ラット間に有意差がみられた (Fig. 15)。これらのことから 4NQO に対する舌粘膜上皮細胞の感受性には D-A ラットと W/F ラットの間はかなり明確な系統差があると結論して差し支えないと思われる。

次に現在われわれは両系統のラットを交配して F1-hybrid ラットを作成して同様の方法を用いて上部消化管癌を作成している。まだ予備実験が終わった段階で



Fig. 10. Dorsal aspect of the tongue without a carcinoma in a W/F rat (W/F 15) treated with 4NQO for 213 days.

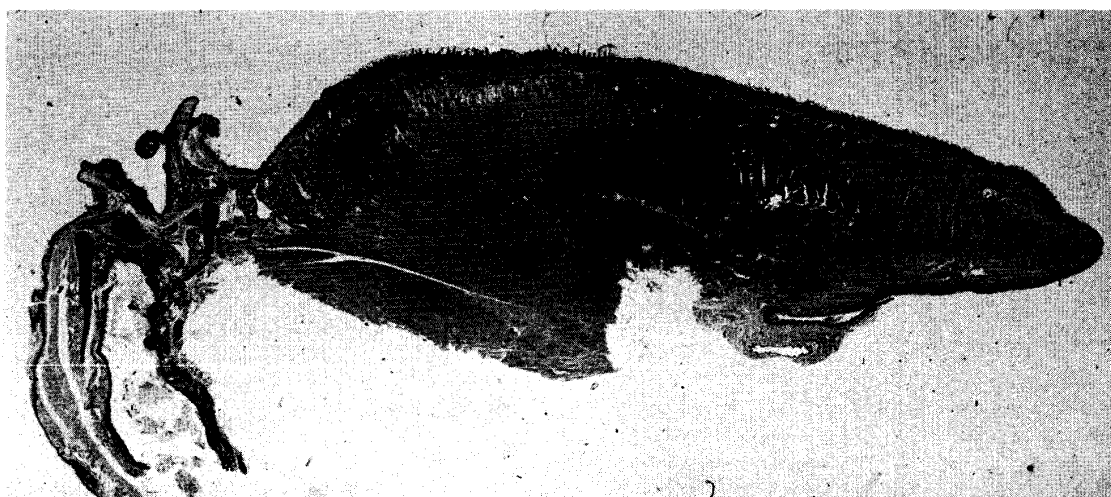


Fig. 11. Low-magnification photomicrograph of a histological section of the tongue of the case seen in Fig. 10. There is no detectable carcinoma in the tongue. Hematoxylin-eosin, $\times 5$.

確実なことはいえないが、F1 ラットについては生存期間は延長するものの、舌については塊状癌を作る傾向が強い（頻度：81%）。即ち生存期間を無視すれば（生存期間単独で舌癌発生の感受性の高低を云々できないことは明らかである）、舌癌発生の感受性は F1 ラットにおいては D-A ラットに近似しているといえそうである。すなわち発癌傾向は優性遺伝を示すのではないかと推定している。今後さらに F1 ラットのデータを増やすとともに、Backcross-hybrid ラットや F2-hybrid

ラットについての検索を行って遺伝様式を明らかにする予定である。

さて、4NQO 誘発ラット舌癌発生に対する感受性の系統差をもたらす要因については現在までのところ全く未明である。先に述べたように、4NQO は細胞内で 4HAQO に還元され、これが核膜を通過して核内 DNA のピリン体と結合して 4HAQO-DNA 付加体を形成することが癌化に密接に関連していると考えられる。そこで舌粘膜上皮細胞の胞体内における 4NQO 還元酵素

Table 3: Massive Carcinomas of the Tongue in Seven Strains of Rats Treated with 4NQO

Strain	Sex	No. of rats (Total)	No. of rats with carcinoma(s) (Total)	No. of rats with massive carcinoma(s) (Total)	No. or rats without a carcinoma (Total)
Dark-Agouti	M	12 (23)	12 (23, 100%)	10 (20, 87%)	0 (0, 0%)
	F	11	11	10	0
Long-Evans/stm	M	12 (22)	12 (22, 100%)	7 (10, 45%)	0 (0, 0%)
	F	10	10	3	0
Sprague-Dawley	M	12 (24)	12 (24, 100%)	8 (15, 62%)	0 (5, 0%)
	F	12	12	7	0
ACI/Ms	M	28 (41)	28 (41, 100%)	24 (32, 78%)	0 (0, 0%)
	F	13	13	8	0
Fischer 344	M	12 (24)	12 (24, 100%)	9 (19, 79%)	0 (0, 0%)
	F	12	12	10	0
Donryu	M	11 (23)	11 (23, 100%)	6 (14, 61%)	0 (0, 0%)
	F	12	12	8	0
Wistar/Furth	M	14 (29)	10 (22, 76%)	3 (7, 24%)	4 (7, 24%)
	F	15	12	4	3

Table 4: Comparison of the Number of Rats with or without Massive Carcinoma(s) of the Tongue between Dark-Agouti and Wistar/Furth Strains

	Dark-Agouti	Wister/Furth	Total
With Massive Carcinoma(s) of the Tongue	20	7	27
Without a Massive Carcinoma of the Tongue	3	22	25
Total	23	29	52

Chi-square test: $P < 0.01$

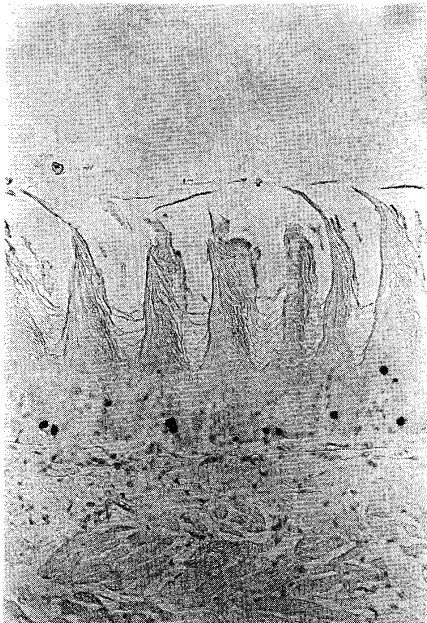


Fig. 12. Distribution of BrdU-incorporating nuclei in the dorsal epithelium of the tongue of a control D-A rat (D-A 63) without 4NQO-treatment. The cells with BrdU-positive nuclei represent S-phase cells. Immunostaining for BrdU using monoclonal antibody (mouse IgG) against BrdU, $\times 35$.

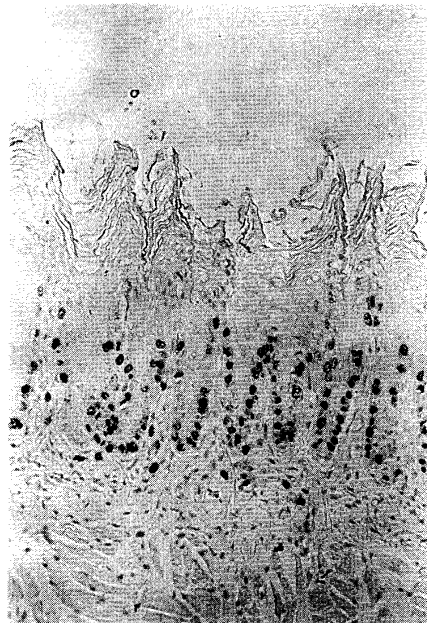


Fig. 13. Distribution of BrdU-incorporating nuclei in the dorsal epithelium of the tongue of a D-A rat (D-A 75) treated with 4NQO for 4 weeks. A much higher incorporation rate of BrdU is noted in this case in comparison with the control of Fig. 12. Immunostaining for BrdU, $\times 35$.

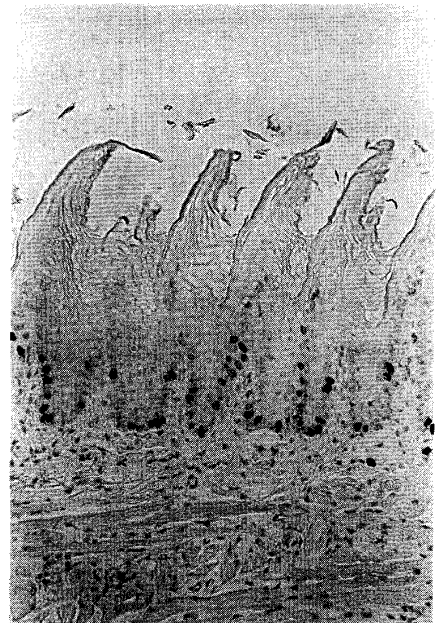


Fig. 14. Distribution of BrdU-incorporating nuclei in the dorsal epithelium of the tongue of a W/F rat (W/F 43) treated with 4NQO for 4 weeks. Note the less numbers of positive nuclei than in Fig. 13. Immunostaining for BrdU, $\times 35$.

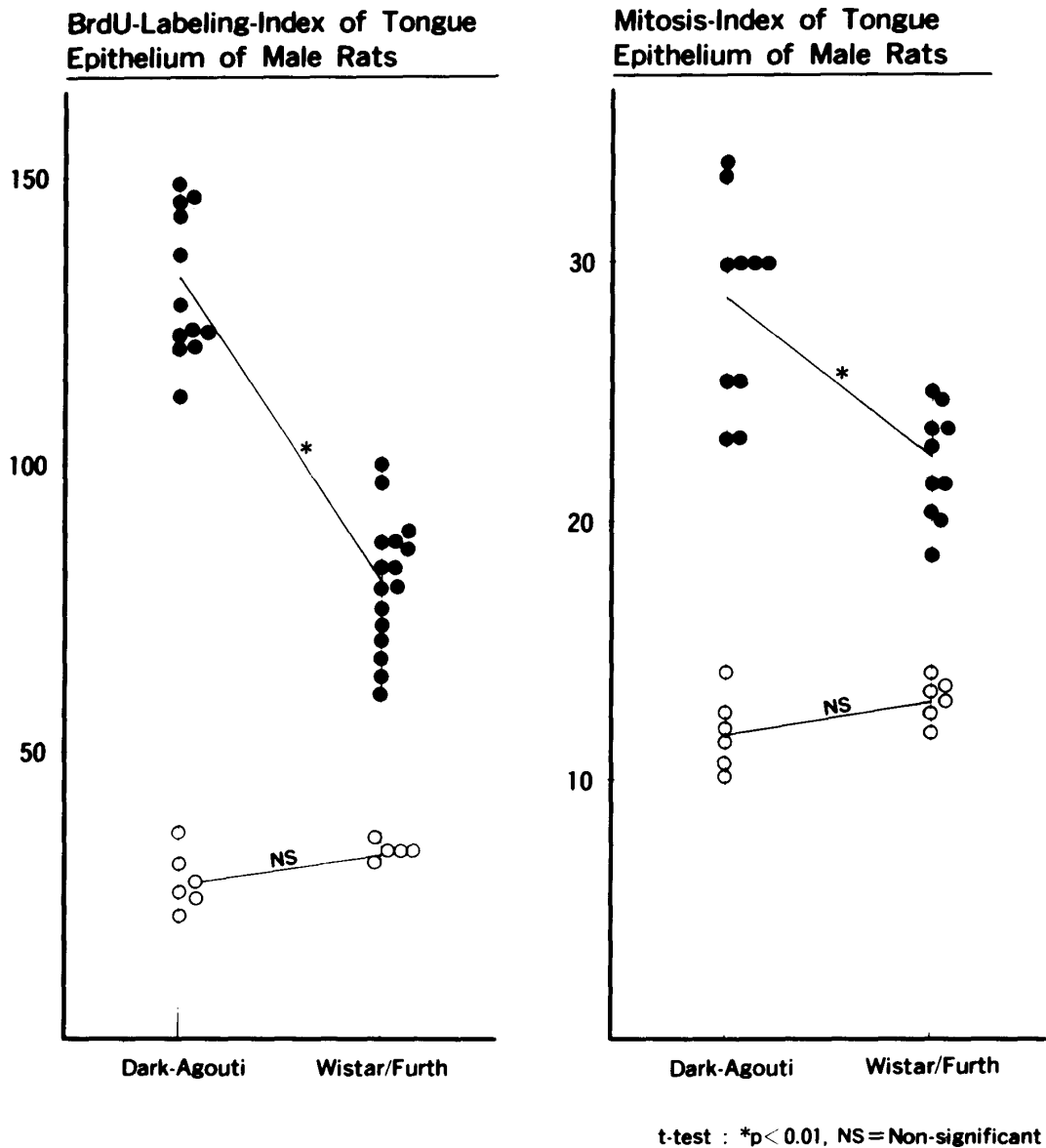


Fig. 15. BrdU-labeling (left)-, and Mitosis (right)-Indices of the surface epithelium of the tongues of D-A and W/F rats with or without 4NQO-treatment for 4 weeks. The Indices are expressed in terms of the number of epithelial cells in 1 mm. length of the tongue surface. Both Indices are statistically significantly different between the two treated rat strains and also between the treated rats and the non-treated rats of each strain.

活性に上記2系統のラットで差がみられるのかどうかを検討する必要がある。現在これについての実験プロトコールを作成中である。さらに、4 HAQO-DNA 付加体形成に両系統間に差があるかどうかを検討すべき

である。現在われわれは愛知がんセンター生化学部の多田万里子博士から抗 4 HAQO-DNA 付加体ウサギ IgG⁴⁵⁾ の恵与を得て、免疫組織化学的検索を行っているが、それによると 4 NQO 水溶液を飲料水として投与するわ

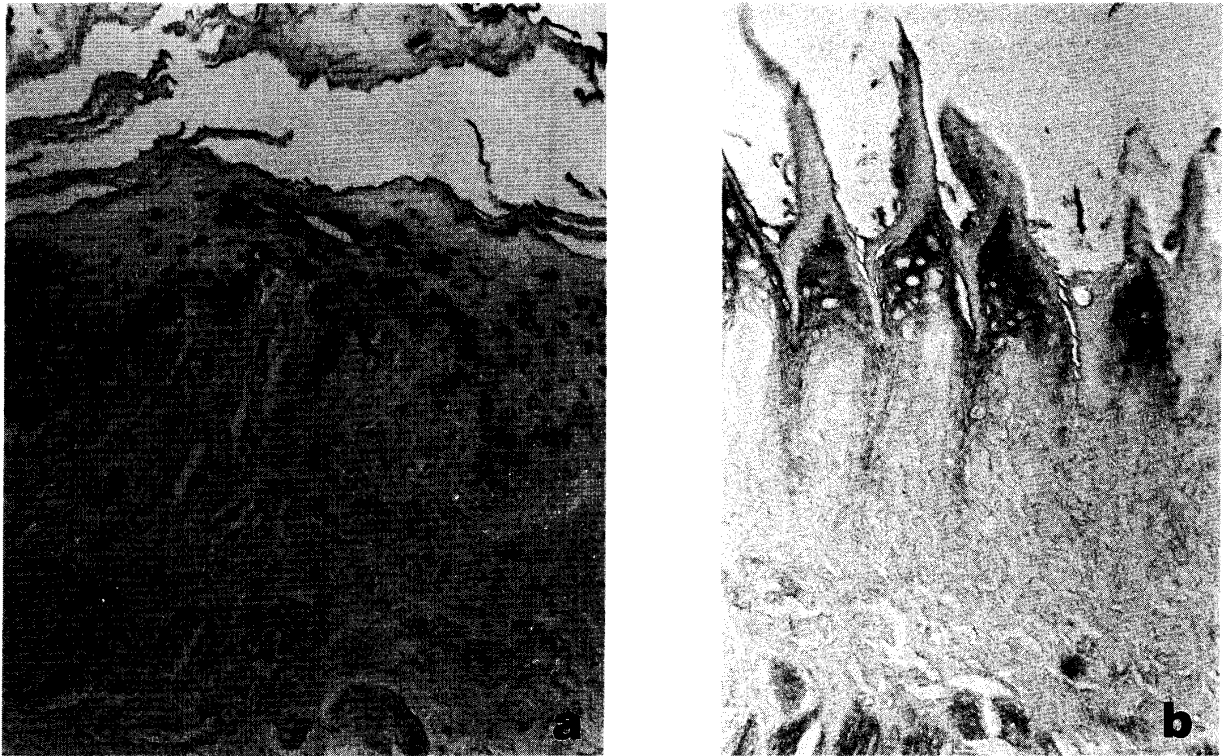


Fig. 16. Distribution of cells with nuclei positive for 4HAQO-DNA adducts in the tongue epithelium showing dysplastic changes of a D-A rat (D-A 147) treated with 4NQO for 114 days (left : a) and in a control D-A rat (D-A 121) without 4NQO-treatment (right : b). Immunostaining using anti-4HAQO-DNA adduct-rabbit IgG, $\times 35$.

れわれの方法でラットの舌粘膜上皮細胞の核内に 4 HAQO-DNA 付加体が形成されることが明らかになった (Fig. 16 a, b)。

次に考えなければならないことは付加体形成によって生じた DNA- 損傷の修復能に両系ラット間に差があるかどうかということである。これについても適当な実験系を組み立てる必要があると思われる。

4 NQO 誘発舌癌好発性の D-A ラットはアジュバント関節炎をきたしやすい系統としてオーストラリアで開発され日本へ導入されたものである⁸⁹⁾。アジュバント関節炎は当然免疫学的機構のかかわりの下で発症すると考えられるので、4 NQO 誘発舌癌の発生や発育にも免疫学的機構が強いかかわっている可能性が考えられる。現在生後48時間以内に胸腺を摘出した D-A 系および W/F 系のラットについて、先と同様の方法で発癌実験を行っているところである。もし胸腺摘出と 4 NQO 誘発舌癌発生との相関関係がはっきりすれば、免疫機構と発癌とのかかわりに何らかの示唆が与えられるだろう。さらにこれとは別にラットの MHC であ

る RT-1 のパプロタイプを調べてみることで系統差をもたらす要因についての何らかの手懸かりが得られるかも知れない⁹⁰⁾。

癌細胞にしばしば染色体異常がみられ、また種々の発癌因子によって染色体異常が引き起こされることから、染色体異常と発癌とは何らかの因果関係があることは否めない事実である。近年細胞性癌遺伝子が数多く発見され染色体上にマッピングされたことによっていくつかの染色体異常を伴う悪性腫瘍と細胞性癌遺伝子との関係がクローズアップされてきた。例えば、慢性骨髄性白血病におけるマーカー染色体である Ph¹ 染色体⁹¹⁾ は22番目の染色体の長腕の1部が9番目の染色体の長腕の1部と相互転座 [t(9; 22)(q34; q11)] することによって形成される。c-abl 癌遺伝子領域を含んだ9番目の染色体の1部が転座した結果、c-abl 癌遺伝子の遺伝子活性の発現が増幅されることが明らかにされ、これが慢性骨髄性白血病の発生要因として重要な意味を持ってきている⁹²⁾。われわれは Donryu 系ラットに発生した 4 NQO 誘発舌癌から継代培養系

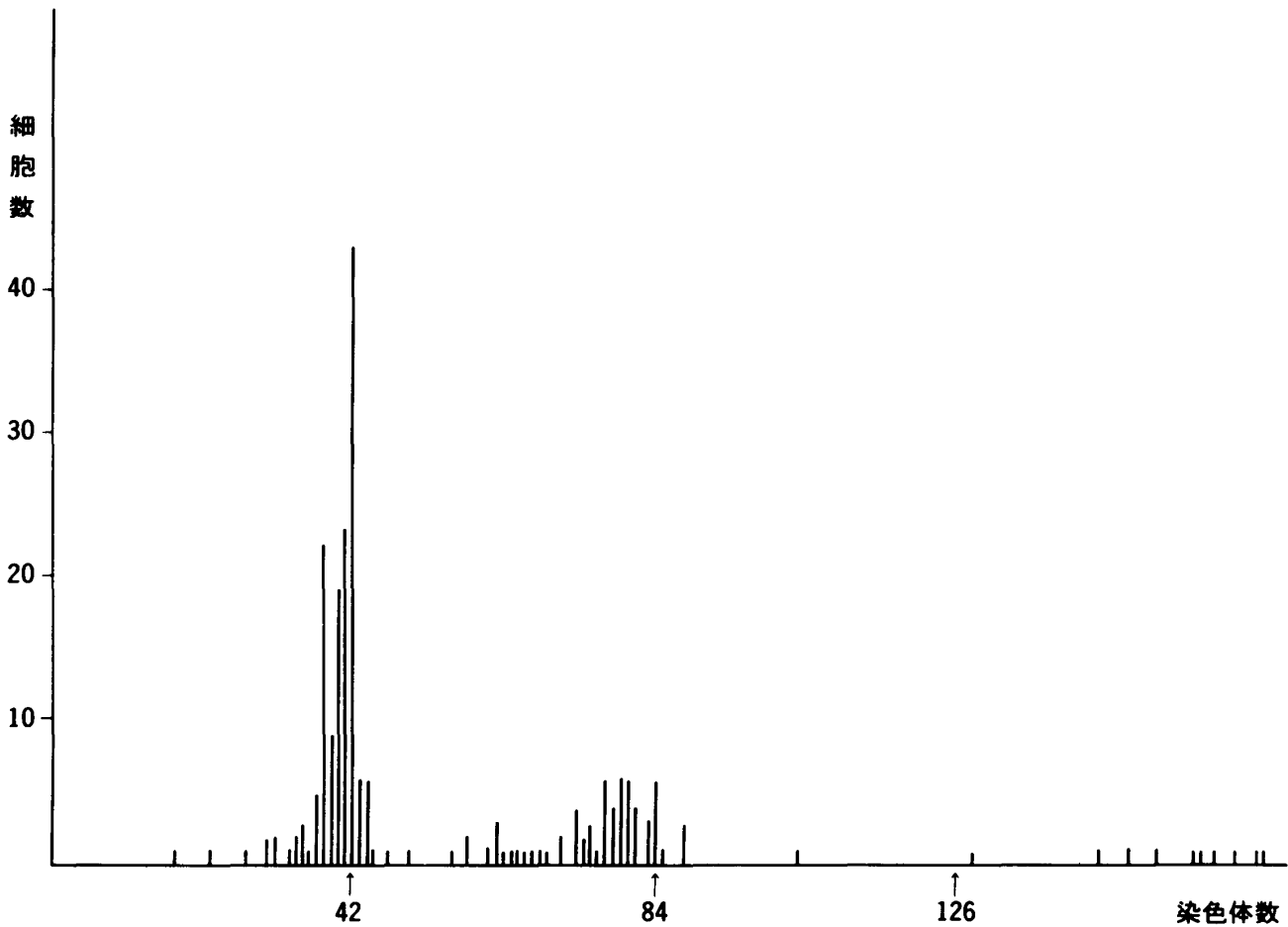


Fig. 17. Distribution of the numbers of chromosomes of the cultured cells from a 4NQO-induced squamous cell carcinoma of the tongue of a Donryu rat.

に移すことが成功した癌細胞での分析では、染色体数は高度のばらつきがみられるものの (Fig. 17)⁹³⁾、明瞭なマーカー染色体はこれまでのところ見出すことはできなかった。

近年ヒト口腔癌の癌遺伝子についてかなり詳細な研究が進められている⁹⁴⁾。4NQO誘発癌についても癌遺伝子に関する広般な検索が必要であると思われる。

しかしながら、上で述べた染色体の異常にしても、癌遺伝子についても完成した癌細胞での解析が基になっている。これらの解析結果と発癌に対する感受性や抵抗性の遺伝的背景を今のところ同一に論ずることはできない。将来それらの相互関係が解明されなければならないが、それに至るまでには気の遠くなるほどの膨大なデータの積み重ねが必要であろう。

おわりに

癌は遺伝しないことは自明の理であるが、癌になりやすさは(癌に患りやすい体質と言い換えても良いが)遺伝する。これらはヒトから得られた数多くの臨床的および疫学的データと、動物実験でうず高く積み上げられたデータが証明している。

生命は水と光、熱、放射線、無機物質などの環境から複雑な相互作用によって誕生したものである。しかもその環境は発癌要因そのものであるともいえる。加えて長年月をかけて進化した生物のあるものはウィルスの如き微生物となって発癌要因の中に介入し、発癌機構に干渉してきた。生命体はしかしその誕生の初期の段階から発癌要因に対する防御機構を身に付けて、これら発癌要因に抵抗してきたに違いない。この意味でわれわれヒトを含めた生物には発癌に対する抵抗性あるいは逆にいえば感受性が存在し、これが遺伝的に

規定されてきたのであろう。

口腔癌については、ヒトでは発生頻度の低さから、動物ではこれまで良い実験モデルが確立されなかったこともあって発癌におよぼす遺伝的背景についての解析が遅れていた。しかし最近になってヒトについては口腔癌と HLA との相関関係が少しずつ明らかにされてきた。また、実験的には 4NQO 誘発ラット口腔癌のモデルが確立された。今度はたとえ遅々とはあるにしても、ヒトにおいても実験動物においてもこの分野での精度の高いデータが少しずつ積み上げられてくるであろう。その意味で展望は開けてきたといえる。

謝 辞

本論文作成にあたって鹿児島大学歯学部口腔病理学教室の教室員諸氏の御教示御協力をいただきました。また本教室に所属するゼミ生諸氏の実験協力をいただきました。培養技術については歯科放射線学教室の河野一典学士の御指導御協力を得ました。

4NQO 誘発ラット口腔癌発癌実験は埼玉県立がんセンター研究所病理部志佐 湊博士との共同研究によるものです。また実験をはじめにあたり東北歯科大学口腔外科学教室の大根光朝教授から示唆に富んだ多くの御教示御忠告をいただきました。

愛知県がんセンター研究所生化学部の多田万里子博士から抗 4HAQO-DNA 付加抗体の御恵与をいただきました。

本研究は文部省科学研究費補助金に負う所が大きい。記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) 森脇和郎：発癌に關与する宿主の遺伝的要因。実験医学 3: 167-168, 1985.
- 2) Knudson, Jr., A. G.: Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 68: 820, 1971.
- 3) Knudson, Jr., A. G.: Genetics and etiology of human cancer. Adv. Human Genet. 8: 1-66, 1977.
- 4) King, M.: Genetic influences in breast cancer susceptibility in "high-risk" families. Natl. Cancer Inst. Breast Cancer Tash. Force Intercom. 9: 13 (abstract), 1980.
- 5) Smith, P. J., Greene, M. H., & Adams, D., Paterson, M. C.: Abnormal responses to the carcinogen 4-nitroquinoline 1-oxide of cultured fibroblasts from patients with dysplastic nevus syndrome and hereditary cutaneous malignant melanoma. Carcinogenesis 4: 911-916, 1983.
- 6) Barfknecht, R. T., & Little, J. B.: Abnormal sensitivity of skin fibroblasts from familial polyposis patients to DNA alkylating agents. Cancer Res. 42: 1249-1254, 1982.
- 7) Akamatsu, N., Miyaki, M., Suzuki, K., Ono, T., & Sasaki, M. S.: Mechanism of increased susceptibility to 4-nitroquinoline-1-oxide in cultured skin fibroblasts from patients with familial polyposis coli. Mutation Res. 120: 173-180, 1983.
- 8) Cleaver, J. E.: Devective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. Nature 218: 652-656, 1968.
- 9) 武部 啓：色素性乾皮症の分子機構と異質性。人類遺伝学雑誌 22: 129-136, 1977.
- 10) Smith, P. J., Paterson, M. C.: Defective DNA repair and increased lethality in ataxia telangiectasia cells exposed to 4-nitroquinoline-1-oxide. Nature 287: 747-749, 1980.
- 11) Paterson, M. C., Smith, B. P., Lohman, P. H. M., Anderson, A. K., & Fishman, L.: Defective excision repair of X-ray damaged DNA in human (ataxia telangiectasia) fibroblasts. Nature 260: 444-446, 1976.
- 12) German, J.: DNA repair defects and human disease. In Hanawalt, P. C., Friedberg, E. C., & Fox, C. F. eds. DNA Repair mechanisms. Academic press, New York. pp625-631, 1978.
- 13) Swift, M.: Fanconi's anemia in the genetics of neoplasia. Nature 233: 370-373, 1971.
- 14) Burnet, F. M.: The concept of immunological surveillance. Progr. exp. Tumor Res. 13: 1-27, 1970.
- 15) Kemnitz, J., Cremer, J., Gebel, M.: Uysal, A., Haverich, A., & Georgii, A.: T-cell lymphoma after heart transplantation. Amer. J. Clin. Pathol. 94: 95-101, 1990.
- 16) Silberman, S., Migliorati, C. A., Lozada-Nur, F., Greenspan, D., & Conant, M. A.: Oral findings in people with or at high risk for

- AIDS: A study of 375 homosexual males. *J. Amer. Dent. Assoc.* 112: 187-192, 1986.
- 17) Kersey, J.H., Spector, B.D., & Good, R. A.: Primary immunodeficiency diseases and cancer; The immunodeficiency-cancer registry. *Int. J. Cancer* 12: 333-347, 1973.
- 18) Kellermann, G., Kellermann, M. L., Shaw, C. R.: Genetic variation of aryl hydrocarbon hydroxylase in human lymphocytes. *Amer. J. Hum. Genet.* 25: 327-331, 1973.
- 19) Asamoto, M., Tsuda, H., Kato, T., Ito, N., Masuko, T., Hashimoto, Y., & Nagase, S.: Strain differences in susceptibility to 2-acetylaminofluorene and phenobarbital promotion of hepatocarcinogenesis: Immunohistochemical analysis of cytochrome P-450 isozyme induction by 2-acetylaminofluorene and phenobarbital. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 1041-1046, 1989.
- 20) Lilly, F.: The inheritance of susceptibility to the Gross leukemia virus in mice. *Genetics.* 53: 529-539, 1966.
- 21) Lilly, F.: The effect of histocompatibility-2 type on response to the Friend leukemia virus in mice. *J. Exp. Med.* 127: 465-473, 1968.
- 22) Usuki, K., Sonoda, S., Osame, M., Yashiki, S., Takahashi, K., Matsumoto, M., Sawada, T., Tsuji, K., Tara, M., & Igata, A.: HLA haplotype-linked high immune responsiveness against HTLV-1 in HTLV-1-associated myelopathy: Comparison with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Ann. Neurol.* 23: S143-150, 1988.
- 23) Gupta, P. C., Pindborg, J. J., & Mehta, F. S., Comparison of carcinogenicity of betel quid with and without tobacco: an epidemiological review. *Ecol Dis.* 1: 213-219, 1982.
- 24) Reichart, P. A., Mohr, U., Srisuwan, S., Geerlings, H., Theetranont, C., & Kangwanpong, T.: Precancerous and other oral mucosal lesions related to chewing, smoking and drinking habits in Thailand. *Community Oral Epidemiol.* 15: 152-160, 1987.
- 25) 国芳秀晴: 口腔悪性腫瘍患者における HTLV-1 の浸淫と免疫抑制機能に関する研究. *日口外誌.* 35: 1373-90, 1989.
- 26) Stewart, R. E., & Prescott, G. H.: Oral facial genetics. C. V. Mosby Comp. Saint Louis, 1976.
- 27) Gorlin, R. J., Pindborg, J. J., & Michael Cohen, Jr, M.: Syndromes of the head and neck, 2nd ed. McGraw-Hill Book Comp, New York, 1976.
- 28) Goodman, R. M., & Gorlin, R. J.: Atlas of the face in genetic disorders, 2nd ed. C. V. Mosby Comp, Saint Louis, 1977.
- 29) 米川博道: 化学発癌剤に対する感受性: 系統差と遺伝. *実験医学* 3: 547-552, 1985.
- 30) Bralow, S. P., Gruenstein, M., & Meranze, D. R.: Host resistance to pyloric adenocarcinomatosis in three strains of rats ingesting N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Oncology (Basel)* 27: 168-180, 1973.
- 31) Ohgaki, H., Kawachi, T., Matsukura, N., Morino K., Kiyamoto M., & Sugimura T.: Genetic control of susceptibility of rats to gastric carcinoma. *Cancer Res.* 43: 3663-3667, 1983.
- 32) Ohgaki, H.: Genetic control of susceptibility of rats to gastric carcinoma. *Cancer Res.* 43: 3663-3667, 1983.
- 33) Shisa, H., & Hiai, H.: Genetically determined susceptibility of Fischer 344 rats to propyl nitrosourea-induced thymic lymphoma. *Cancer Res.* 45: 1483-1487, 1985.
- 34) Ohgaki, H., Tomihari, M., Sato, S., Kleihues P., & Sugimura, T.: Differential proliferative response of gastric mucosa during carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in susceptible ACI rats, resistant Buffalo rats, and their A hybrid F1 cross. *Cancer Res.* 48: 5275-5279, 1988.
- 35) Masuda, R., Yoshida, M. C., & Sasaki, M.: Gene expression of placental glutathione S-transferase in hereditary hepatitis and spontaneous hepatocarcinogenesis of LEC rats. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 1024-1027, 1989.
- 36) Asamoto, M., Tsuda, H., Kagawa, M., & de Camargo, J. L. V.: Strain differences in susceptibility to 2-acetylaminofluorene and

- phenobarbital promotious of rat hepato-carcinogenesis in a medium-term assay system: Quantitation of glutathione S-transferase P-positive foci development. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 939-944, 1989.
- 37) Wiklund, J., Rutledge, J., & Gorski, J.: A genetic model for the inheritance of pituitary tumor susceptibility in F344 rats. *Endocrinology* 109: 1708-1714, 1981.
- 38) Naito, M., Ito, A., & Aoyama, H.: Genetics of susceptibility of rats to trigeminal schwannomas induced by neonatal administrations of N-ethyl-N-nitrosourea. *J. Natl. Cancer Inst.* 74: 241-245, 1985.
- 39) Gould, M.N.: Inheritance and site of expression of genes controlling susceptibility to mammary cancer in an inbred rat model. *Cancer Res.* 46: 1199-1202, 1986.
- 40) Weisburger, J.H., Conrad Jones, R., Barnes, W.S. & Pegg, A.E.: Mechanisms of differential strain sensitivity in gastric carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 79: 1304-1310, 1988.
- 41) Isaacs, J.T.: Inheritance of a genetic factor from the Copenhagen rat and the suppression of chemically induced mammary adenocarcinogenesis. *Cancer Res.* 48: 2204-2213, 1988.
- 42) Nagase, S., Shimamura, K., & Shumiya, S.: Albumin-deficient rat mutant. *Science* 205: 590-591, 1979.
- 43) Takahashi, M., Shumiya, S., Maekawa, A., Hayashi, Y., & Nagase, S.: High susceptibility of an analbuminemic congenic strain of rats with an F344 genetic background to induced bladder cancer and its possible mechanism. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* 79: 705-709, 1988.
- 44) Kakizoe, T., Sugimura, T.: Chemical carcinogenesis in analbuminemic rats. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* 79: 775-784, 1988.
- 45) Salley, J.J.: Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the Syrian hamster. *Dent. Res.* 33: 253-262, 1954.
- 46) Levy, B.M.: The experimental production of carcinoma of the tongue in mice. *J. Dent. Res.* 37: 950, 1958.
- 47) Fujino, H., Chino, T., & Imal, T.: Experimental production of labial and lingual carcinoma by local application of 4-nitroquinoline N-Oxide. *J. Natl. Cancer Inst.* 35: 907-918, 1965.
- 48) Herrold, K.M.: Odontogenic tumors and epidermoid carcinomas of the oral cavity. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.* 25: 262-272, 1968.
- 49) Denda, A., Mori, Y., Yokose, Y., Uchida, K., Murata, Y., Makiko, T., Tsutumi, M., & Konishi Y.: 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide metabolism and DNA adducts in the early stage of tumorigenesis in rats: Comparison of target organ pancreas with nontarget organ liver. *Chem Biol Interact.* 56: 125-143, 1985.
- 50) 大根光朝: 発癌剤溶解飲料水・経口投与によるラット口腔粘膜癌とその発生過程. *医学のあゆみ*, 116: 939-940, 1981.
- 51) 大根光朝, 大森清弘, 立川哲彦, 村松英昭, 小林朗男, 関川一嘉, 望月 彰, 高木多加志, 桜田義徳: 発癌剤 4-nitroquinoline 1-oxide 溶解飲料水, 経口投与による口腔扁平上皮癌発生実験. *日口科誌* 27: 685-700, 1981.
- 52) 大根光朝, 村島博志, 氏家和子, 武本 泰, 佐藤敬, 山田史学, 高牛 宏, 横田充宏: 4NQO 水溶液飲料水投与方法による舌癌発生実験——とくに短期間投与の影響について. *日口科誌* 35: 132-136, 1986.
- 53) Ikenaga, M., & Takebe, H.: Actions of 4-nitroquinoline 1-oxide on eucaryotic cells: Molecular and cellular studies. *Carcinogenesis Vol 6: The nitroquinoline* edited by Sugimura, T., pp 65-91, Raven Press, New York, 1981.
- 54) Kuroki, T.: *in vitro* carcinogenesis by 4-nitroquinoline 1-oxide and related compounds. *Carcinogenesis Vol 6: The nitroquinoline* edited by Sugimura, T., pp 93-115, Raven Press, New York, 1981.
- 55) Nakahara, W., Fukuoka, F., & Sugimura, T.: Carcinogenic action of 4-nitroquinoline-

- oxide. Gann (癌) 48: 129-137, 1957.
- 56) Wallenius, K., & Lekholm, U.: Oral cancer in rats induced by the water-soluble carcinogen 4-nitroquinoline N-oxide. Odontol. Rev. 24: 39-48, 1973.
- 57) 山口全一: 実験的皮膚腫瘍に関する研究. 日皮会誌 86: 249-268, 1976.
- 58) Fisker, A. V., & Karring, T.: Cell population kinetics in rat palatal epithelium created with the carcinogen 4-nitroquinoline N-oxide (4NQO). J. Oral Pathol. 10: 408-416, 1981.
- 59) Fisker, A. V., West, M. J., Philipsen, H. P., & Andersen, A. H.: Quantification of oral epithelial hyperplasia in rats after topical application of the carcinogen 4-nitroquinoline T-oxide. Acta Odontol. Scand. 48: 125-131, 1990.
- 60) Konishi, Y., Maruyama, H., Mii, Y., Miyauchi, Y., Yokose, Y., & Masuhara, K.: Malignant fibrous histocytomas induced by 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in rats. J. Natl Cancer Inst. 68: 859-865, 1982.
- 61) Konishi, Y., Mii, H., Maruyama, H., & Masuhara, K.: Malignant fibrous histiocytoma. Amer. J. Pathol. 115: 469-472, 1984.
- 62) Igbal, Z. M., Majdan, M., & Epstein, S. S.: Evidence of repair of DNA damage induced by 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in guinea pig pancreatic slices in vitro. Cancer Res. 36: 1108-1113, 1976.
- 63) Kulkarni, M. S., Angerman-Stewart J., & Anderson, M. W.: Detection of *in vivo* DNA repair syntheses in mouse liver and lung induced by treatment with benzo (a) pyrene or 4-nitroquinoline 1-oxide. Cancer Res. 44: 1547-1550, 1984.
- 64) Ito, T., Kitamura, H., Inayama, Y., & Kanisawa, M.: Pulmonary adenoma and endocrine cell hyperplasia in Syrian golden hamster treated with 4-nitroquinoline 1-oxide. Acta Pathol. Jpn. 38: 1097-1104, 1988.
- 65) Karube, T., Katayama, H., Takemoto, K., & Watanabe, S.: Induction of squamous metaplasia, dysplasia and carcinoma in situ of the mouse tracheal mucosa by inhalation of sodium chloride mist following subcutaneous injection of 4-nitroquinoline 1-oxide. Jpn. J. Cancer Res. 80: 698-7001, 1989.
- 66) Sugimura, T., Okabe, K., & Endo, H.: The metabolism of 4-nitroquinoline 1-oxide. I. Conversion of 4-nitroquinoline 1-oxide to 4-aminoquinoline 1-oxide by rat liver enzymes. Gann 56: 489-501, 1965.
- 67) Sugimura, T., Okabe, K., Nagao, M.: The metabolism of 4-nitroquinoline 1-oxide a carcinogen. II An enzyme catalyzing the conversion of 4-nitroquinoline 1-oxide to 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in rat liver and hepatomas. Cancer Res. 26: 1717-1721, 1966.
- 68) 吉村英敏, 古賀信幸, 和田郁夫, 多間由美子, 黒木 淳: 3-Methylcholanthrene 型 PCB 前処理ラットにおける 4-Nitroquinoline N-oxide の還元活性上昇について. 福岡医誌 74: 217-221, 1983.
- 69) Tada, M., & Tada, M.: Main binding sites of the carcinogen, 4-nitroquinoline-1-oxide in nucleic acids. Biochim. Biophys. Acta 454: 558-566, 1976.
- 70) Ikenaga, M., Takebe, H., Ishii, Y.: Excision repair of DNA base damage in human cells treated with the chemical carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide. Mutat. Res. 43: 415-427, 1977.
- 71) Bailleul, B., Galiéque, S., & Loucheux-Lefebvre, M. H.: Adducts from the reaction of 0, 0'-diacetyl or 0-acetyl derivatives of the carcinogen 4-hydroxy aminoquinoline 1-oxide with purine nucleosides. Cancer Res. 41: 4559-4565, 1981.
- 72) Tada, M., Kohda, K. H., & Kawazoe, Y.: Biomimetic preparation and structure determination of QG, one of the quinoline-DNA base adducts formed in cells treated with 4-nitroquinoline 1-oxide. Gann 75: 976-984, 1984.
- 73) Morita, T., Ikeda, S., Minoura, Y., Kojima, M., & Tada, M.: Polyclonal antibodies to DNA modified with 4-nitroquinoline 1-oxide: Application for the detection of 4-nitroquinoline 1-oxide-DNA adducts in vivo.

- Jpn. J. Cancer Res. (Gann) 79: 195-203, 1988.
- 74) Qin, X., Nakatsuru, Y., Tada, M., & Ishikawa, T.: Species and organ differences in DNA adduct formation and repair after treatment with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide. Jpn. J. Cancer Res. 81: 613-619, 1990.
- 75) Takebe, H., Furuyama, J., Miki, Y., Kondo, S.: High sensitivity of xeroderma pigmentosum cells to the carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide. Mutat. Res. 22: 87-91, 1972.
- 76) Ahmed, F. E., & Setlow, R. B.: DNA excision in repair proficient and deficient human cells treated with a combination of ultraviolet radiation and acridine mustard (ICR-170) or 4-nitroquinoline 1-oxide. Chem.-Biol. Interact. 29: 31-42, 1980.
- 77) Zelle, B., & Bootsma, D.: Repair of DNA damage after exposure to 4-nitroquinoline-1-oxide in heterokaryous derived from xeroderma pigmentosum cells. Mutat. Res. 70: 373-381, 1980.
- 78) Mirzayans, R., Waters, R.: DNA damage and its repair in human normal or xeroderma pigmentosum fibroblasts treated with 4-nitroquinoline 1-oxide or its 3-methyl derivative. Carcinogenesis 2: 1359-1362, 1981.
- 79) Walker, I. G.: Alkaline sucrose sedimentation analysis as an indicator of repair capability of xeroderma pigmentosum fibroblasts for 4-nitroquinoline-1-oxide damage. Carcinogenesis 2: 691-5, 1981.
- 80) Dollery, A. A., Melvin, W. T., Keir, H. M., & Harris, W. J.: Repair of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced DNA damage in normal human cells and cells from classical and variant xeroderma pigmentosum. Mutat. Res. 112: 33-46, 1983.
- 81) 難波正義: 培養ヒト2倍体細胞の4-nitroquinoline 1-oxide 処理後のDNA障害修復能の加齢による変化. シンポジウム老化の基礎研究(第3回)講演記録12-20(1976): 田内久, 黒田行昭: 細胞の老化第10章 細胞老化の要因. 共立出版KKより引用, 東京, 1981 (pp 157-188).
- 82) 北野元生, 志佐 湊, 4NQO 誘発ラット上部消化管腫瘍発生の系統差, 性差, 年齢差, 並びに病理所見. 日本癌学会総会記事 48: 39(抄録), 1989.
- 83) 北野元生, 志佐 湊: ラット上部消化管粘膜の4NQOに対する感受性についての性差および系統差: 6系統のラットについての生存期間, 病理形態像, Mitosis Index, およびBrdU Labelling Indexの比較. 日病会誌 79: 203(抄録), 1990.
- 84) Kitano, M., Urago, A.: Strain difference of susceptibility to 4NQO-induced tongue carcinoma of rat. Program & Abstracts of 5th Biennial Congress of International Association of Oral Pathologists: P. 48 (Abstract), 1990.
- 85) Goz, B.: The effects of incorporation of 5-halogenated deoxyuridines into the DNA of eukaryotic cells. Pharmacol. Rev. 29: 249-272, 1978.
- 86) Gratzner, H. G.: Monoclonal antibody of 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. Science 218: 474-475, 1982.
- 87) Hayashi, Y., Koike, M., Matsutani, M., & Hoshino, T.: Effects of fixation time and enzymatic digestion on immunohistochemical demonstration of bromodeoxyuridine in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. J. Histochem. Cytochem. 36: 511-514, 1988.
- 88) Karring, T., Løe, H.: The reliability of various mitotic index systems in assessing mitotic activity in stratified squamous epithelium. J. Periodont. Res. 7: 271-282, 1972.
- 89) Tsukano, M., Nawa, Y., & Kotani, M.: Characterization of low dose induced suppressor cells in adjuvant arthritis in rats. Clin. Exp. Immunol. 53: 60-66, 1983.
- 90) 名取 孝: ラット主要組織適合抗原とその応用. 代謝 17(臨時増刊号): 2091-2099, 1980.
- 91) Baikie, A. G., Court-Brown, W. M., Buckton, K. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., & Tough, I. M.: A possible specific chromosome abnormality in human chronic myeloid leukemia, Nature 188: 1165-1166, 1960.
- 92) de Klein, A., von Kessel, A. G., Grosveld, G., Bartram, C. R., Hagemeijer, A., Bootsma, D.,

- Spurr, N.K., Heisterkamp, N., Groffen, J., & Stephenson, J.R.: A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. *Nature* 300: 765-767, 1982.
- 93) Kawano, K., Kitano, M., Hamamoto, S., Noikura, T., Urago, A., & Nakamura, K.: Establishment and characterization of 4NQO-induced tongue carcinoma cell line of rat. *Tissue Culture in Dentistry* 26: 23-25, 1989.
- 94) Saranath, D., Panchal, R. G., Nair, R., Mehta, A. R., Sanghavi, V., Sumegi, J., Klein, G., & Deo, M. G.: Oncogene amplification in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 430-437, 1989.