

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10644

研究課題名(和文)ポリフェノールによるBcl-xLに対する作用機序の解明と新たながん治療法の開発

研究課題名(英文)The effect of polyphenols on Bcl-xL expression in colon and pancreatic cancer cells

研究代表者

高橋 広城(Takahashi, Hiroki)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授

研究者番号：30381792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：大腸がんに対する抗がん剤治療では、薬剤耐性や副作用のために継続困難となることが多い。そのため、既存の抗がん剤のみでなくポリフェノールなどの副作用の少ないnatural productの効果が期待される。ポリフェノールの抗腫瘍効果の解明はいまだ十分とはいえず、私たちはポリフェノールの抗腫瘍効果について研究を行い、アポトーシス調整蛋白であるBcl-xLとMcl-1が共同してアポトーシスを抑制することを発見した。本研究では、Bcl-xLとMcl-1の発現をがん微小環境がSTAT3/STAT5を介して制御しており、ポリフェノールによってこのシステムを制御できる可能性を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で、ポリフェノールの抗腫瘍効果を分子レベルでさらに解明することができた。その過程において、癌周囲の間質細胞と癌細胞との関係性によって抗アポトーシス蛋白が調整されていることを初めて発見した。このことによりポリフェノールの抗腫瘍効果を飛躍的に高めることが可能になると期待される。また、この現象は膵臓癌と大腸癌においてみられたことから、このメカニズムは消化器がんに普遍的であると考えられ、新たな抗がん治療法につながるものと思われる。

研究成果の概要(英文)：Anticancer drug treatment for colorectal cancer is often difficult to continue due to drug resistance and side effects. Therefore, the effect of natural products such as polyphenols is expected in addition to existing anti-cancer agents. The elucidation of the antitumor effect of polyphenols is still insufficient, and we have studied the antitumor effect of polyphenols and found that the anti-apoptotic proteins Bcl-xL and Mcl-1 cooperate to suppress apoptosis. In this study, we clarified that the cancer microenvironment regulates the expression of Bcl-xL and Mcl-1 via STAT3/STAT5 pathway, and the possibility that polyphenol regulates this system.

研究分野：消化器外科

キーワード：大腸癌 アポトーシス ポリフェノール

1. 研究開始当初の背景

ポリフェノールには、さまざまな薬理作用があり、抗酸化作用・抗炎症作用のほか抗腫瘍効果が最近報告された。このメカニズムの解明が世界中で行われているが、その作用機序はいまだに明らかではない。

Bcl-2 family 蛋白は、アポトーシス調整蛋白の一種であり、悪性腫瘍が治療抵抗性になる時にかかわっていることがわかっている。この蛋白は、その構造や機能から3種類に分類され、互いに連携しながらアポトーシスを制御している(1)。Bcl-2 family 蛋白の中でも、抗アポトーシス蛋白であるMcl-1とBcl-xLは消化器がんにおいて過剰発現していることが報告された(2)。

私たちはこれらの報告に着目し、ポリフェノールによる抗腫瘍効果の研究を一貫して行い、アポトーシス調整蛋白であるBcl-xLとMcl-1が共同してアポトーシスを抑制していることを発見した(3,4)。この過程において、ポリフェノールは常にMcl-1を抑制するが、Bcl-xLは抑制される場合と逆に活性化される場合があるという興味深い現象を見いだした。この現象は、膵臓癌と大腸癌においてみられ、細胞株に特異的な特徴であることを明らかにした。

<参考文献>

- 1) Danial NN. *Clin Cancer Res* 2007.
- 2) Backus HH, et al. *J Clin Pathol* 2002.
- 3) Takahashi H, et al. *Biochim Biophys Acta* 2011.
- 4) Takahashi H, et al. *Biochim Biophys Acta* 2013.

2. 研究の目的

私たちの一連の研究成果から、Bcl-xLに対する異なる現象を分子レベルで解明することが、ポリフェノール治療の開発につながるものとの着想に至った。Bcl-xLは、転写因子であるJAK-STAT経路によってコントロールされていることが報告されている。ポリフェノールによってBcl-xLが抑制されたり活性化されたりするメカニズムは、このJAK-STAT経路が関与していると考えている。おそらくSTATの上流にみられるJAKのリン酸化および遺伝子変異の有無によって、Bcl-xLの変化が起きるものと推察している。このメカニズムを分子レベルで解明することにより、ポリフェノールの抗腫瘍効果を飛躍的に高めることが可能になると期待される。また、この現象は膵臓癌と大腸癌においてみられたことから、このメカニズムは消化器がんに普遍的であると考えられ、新たな抗がん治療法につながるものと思われる。

3. 研究の方法

(1) 膵臓癌における Bcl-2 family 蛋白発現の検討

膵臓癌細胞株 MIA PACa-2 を用いて Western Blot で Bcl-2 family 蛋白の発現を検討した。

(2) Bcl-xL の上流にみられるシグナル伝達経路の検索

STAT5 が Bcl-xL の発現を調節していることが判明しており、ポリフェノール刺激前の STAT5 のリン酸化の程度およびポリフェノールによる STAT5 の変化を Western Blot で検索する。

(3) 大腸癌組織における Bcl-xL の免疫染色

(4) 周囲微小環境との関係性の解明

大腸がん周囲に存在するがん関連間質細胞(CAF)との関係性を解明する。

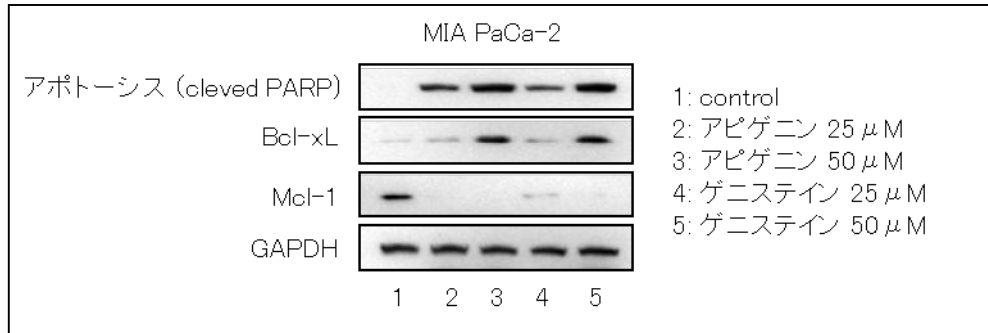
大腸癌組織周囲から CAF を採取し、各種がん細胞株と共培養を行い、Bcl-xL の変化を Western Blot で検索する。

CAF から分泌されている IL-6 がこの経路に及ぼす影響を検討する。

免疫染色を用いて大腸がんの進行度と Bcl-xL などの Bcl-2 family 蛋白の発現を検討した。さらに CAF の発現との関連について検討をした。

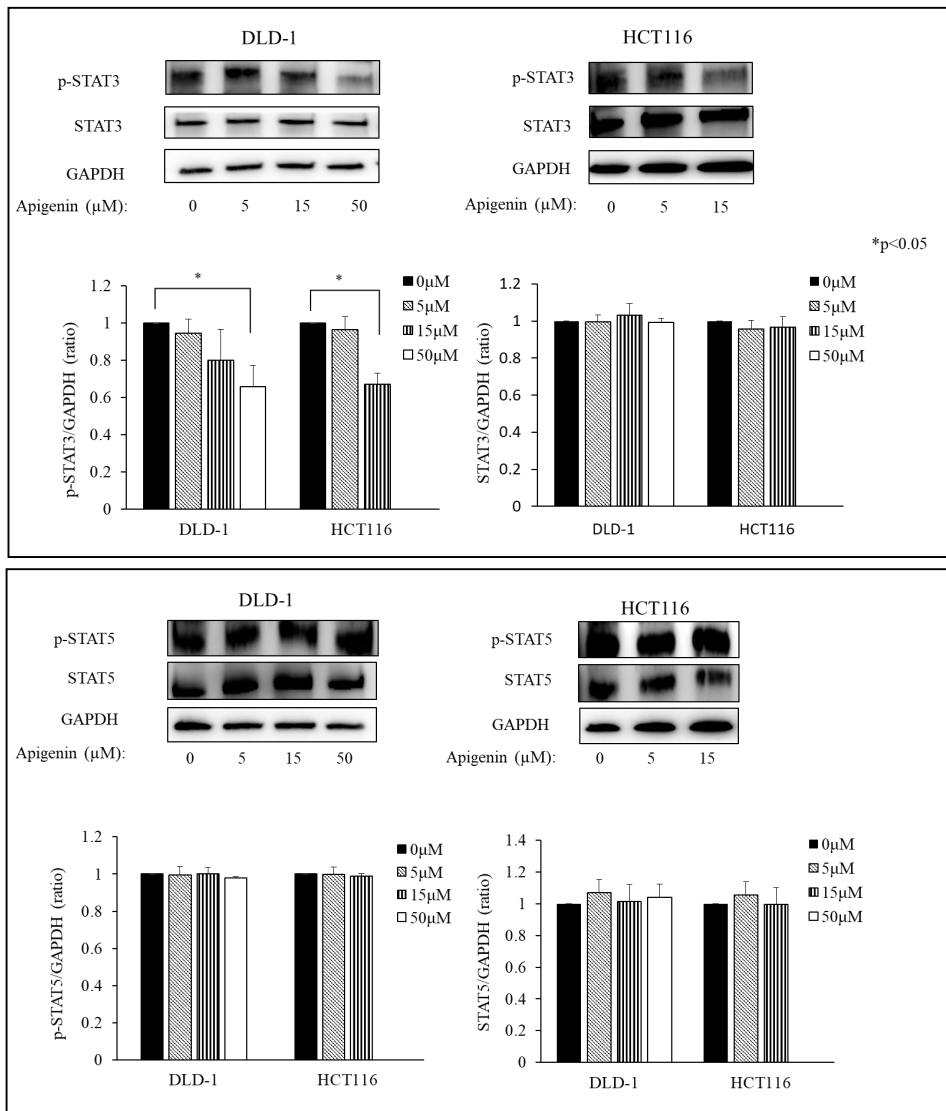
4. 研究成果

(1) ポリフェノールによる Bcl-2 family 蛋白発現の変化



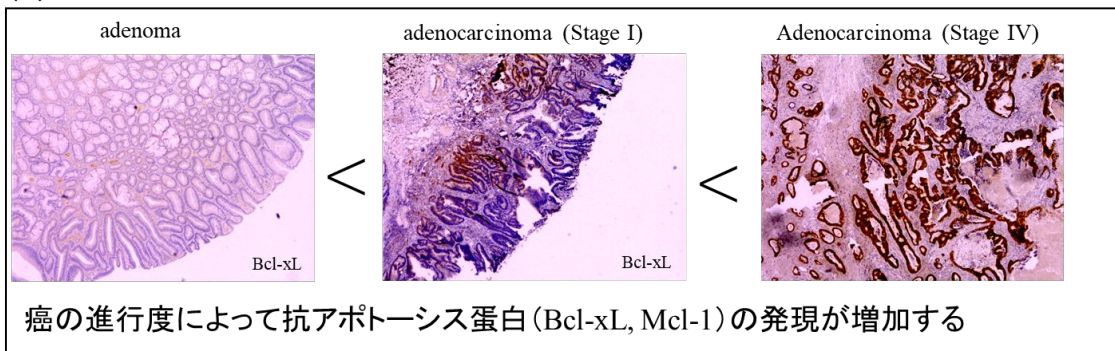
アピゲニンとゲニステインを用いて刺激することにより Mcl-1 は抑制されるが、Bcl-xL の発現は濃度依存的に亢進した。

(2) Bcl-xL の上流にみられるシグナル伝達経路の検索

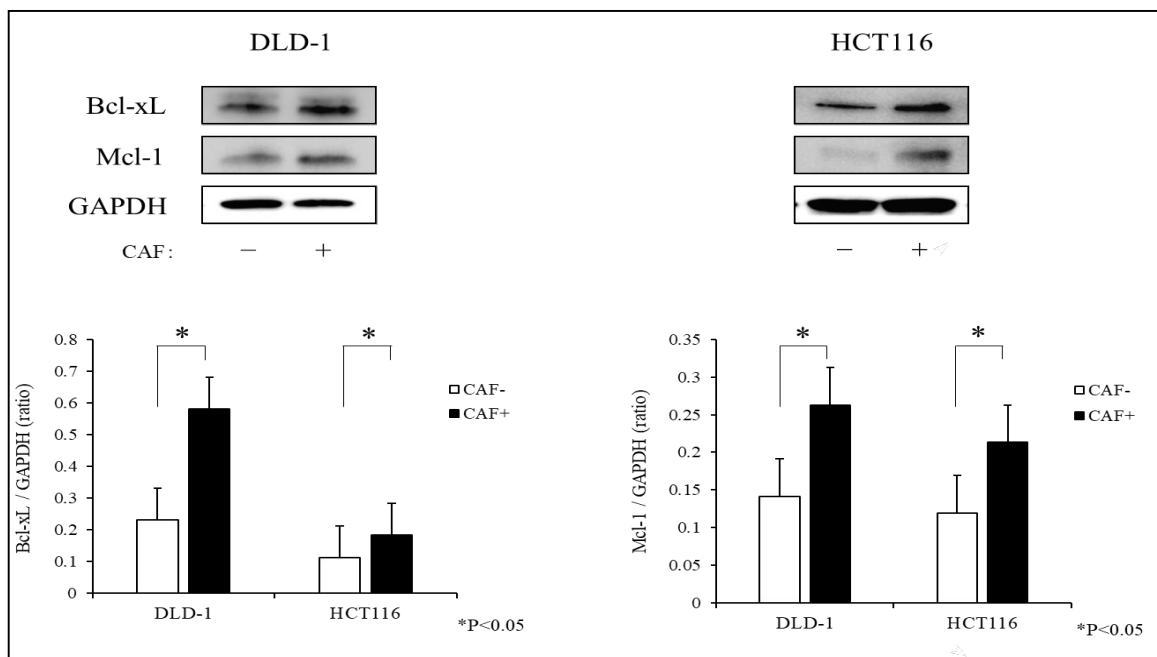


アピゲニン刺激に伴い、STAT3 のリン酸化は濃度依存的に抑制されたが、STAT5 には変化が認められなかった。

(3) 大腸癌組織における Bcl-xL の免疫染色



(4) 周囲微小環境との関係性の解明



CAF と大腸癌細胞を共培養することで Mcl-1・Bcl-xL の発現が明らかに向上した。しかし Bcl-xL の発現は DLD-1 と比較すると、HCT116 では差が乏しかった。
見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ando Nanako, Hara Masayasu, Shiga Kazuyoshi, Yanagita Takeshi, Takasu Korehito, Nakai Nozomu, Maeda Yuzo, Hirokawa Takahisa, Takahashi Hiroki, Ishiguro Hideyuki, Matsuo Yoichi, Takiguchi Shuji	4. 巻 42
2. 論文標題 Eicosapentaenoic acid suppresses angiogenesis via reducing secretion of IL-6 and VEGF from colon cancer-associated fibroblasts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 339 ~ 349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2019.7141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Hiroki, Takasu Korehito, Nakaya Seiichi, Yanagita Takeshi, Ando Nanako, Nakai Nozomu, Maeda Yuzo, Shiga Kazuyoshi, Hirokawa Takahisa, Morimoto Mamoru, Ogawa Ryo, Hara Masayasu, Matsuo Yoichi, Takiguchi Shuji	4. 巻 49
2. 論文標題 Laparoscopic extraperitoneal sigmoid colostomy using the totally extraperitoneal hernia repair technique after abdominoperineal resection for rectal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 977 ~ 980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-019-01814-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hara Masayasu, Shiga Kazuyoshi, Yanagita Takeshi, Nakai Nozomu, Ando Nanako, Takasu Korehito, Maeda Yuzo, Nagasaki Takaya, Hirokawa Takahisa, Matsuo Yoichi, Ishiguro Hideyuki, Takahashi Hiroki, Takiguchi Shuji	4. 巻 49
2. 論文標題 No inflammatory benefit obtained by single-incision laparoscopic surgery for right hemicolectomy compared with conventional laparoscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 621 ~ 628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-019-01777-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imafuji Hiroyuki, Matsuo Yoichi, Ueda Goro, Omi Kan, Hayashi Yuichi, Saito Kenta, Tsuboi Ken, Morimoto Mamoru, Koide Shuji, Ogawa Ryo, Hara Masayasu, Takahashi Hiroki, Takiguchi Shuji	4. 巻 41
2. 論文標題 Acquisition of gemcitabine resistance enhances angiogenesis via upregulation of IL78 production in pancreatic cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 3508 ~ 3516
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2019.7105	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sawai Hirozumi, Kurimoto Masaaki, Koide Shuji, Kiriya Yuka, Haba Shin, Matsuo Yoichi, Morimoto Mamoru, Koide Hajime, Kamiya Atsushi, Yamao Kenji	4. 巻 20
2. 論文標題 Invasive Ductal Carcinoma Arising in Mucinous Cystic Neoplasm of Pancreas: A Case Report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Case Reports	6. 最初と最後の頁 242 ~ 247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12659/AJCR.914092	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Michihiro, Morimoto Mamoru, Kato Akihisa, Hayashi Kazuki, Naitoh Itaru, Miyabe Katsuyuki, Matsuo Yoichi	4. 巻 50
2. 論文標題 Recanalization of postoperative biliary disconnection with intraductal cholangioscopy-assisted forceps retrieval of rendezvous guidewire	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endoscopy	6. 最初と最後の頁 E338 ~ E339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-0667-7751	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maeda Yuzo, Takahashi Hiroki, Nakai Nozomu, Yanagita Takeshi, Ando Nanako, Okubo Tomotaka, Saito Kenta, Shiga Kazuyoshi, Hirokawa Takahisa, Hara Masayasu, Ishiguro Hideyuki, Matsuo Yoichi, Takiguchi Shuji	4. 巻 52
2. 論文標題 Apigenin induces apoptosis by suppressing Bcl-x1 and Mcl-1 simultaneously via signal transducer and activator of transcription 3 signaling in colon cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 1661 ~ 1673
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4308	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kenta Saito, Yoichi Matsuo, Hiroyuki Imafuji, Tomotaka Okubo, Yuzo Maeda, Takafumi Sato, Tomoya Shamoto, Ken Tsuboi, Mamoru Morimoto, Hiroki Takahashi, Hideyuki Ishiguro, Shuji Takiguchi	4. 巻 109(1)
2. 論文標題 Xanthohumol inhibits angiogenesis by suppressing nuclear factor- B activation in pancreatic cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 132-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hara M, Nagasaki T, Shiga K, Takahashi H, Takeyama H.	4. 巻 47(4)
2. 論文標題 High serum levels of interleukin-6 in patients with advanced or metastatic colorectal cancer: The effect on the outcome and the response to chemotherapy plus bevacizumab.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Surg Today	6. 最初と最後の頁 483-489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-016-1404-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishiguro Hideyuki, Okubo Tomotaka, Kuwabara Yoshiyuki, Kimura Masahiro, Mitsui Akira, Sugito Nobuyoshi, Ogawa Ryo, Katada Takeyasu, Tanaka Tatsuya, Shiozaki Midori, Mizoguchi Koji, Samoto Yosuke, Matsuo Yoichi, Takahashi Hiroki, Takiguchi Shuji	4. 巻 8
2. 論文標題 NOTCH1 activates the Wnt/ -catenin signaling pathway in colon cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 60378 ~ 60389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.19534	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Masaki, Ozawa Yoshiyuki, Ohta Kengo, Sekiguchi Tomoya, Omata Shingo, Urano Misugi, Matsuo Yoichi, Shibamoto Yuta	4. 巻 42
2. 論文標題 Usefulness of 3D balanced turbo-field-echo MR sequence evaluating the branching pattern of the intrahepatic bile ducts: comparison with drip infusion CT cholangiography	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Abdominal Radiology	6. 最初と最後の頁 1888 ~ 1895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00261-017-1093-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松尾洋一、森本 守、坪井 謙、社本智也、齊藤健太、今藤裕之、林 祐一、上田悟郎、小林勝正、高橋 広城、石黒秀行、瀧口修司	4. 巻 75(4)
2. 論文標題 化学療法抵抗性膵癌におけるCXCL12-CXCR4シグナルの重要性	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 肝胆膵	6. 最初と最後の頁 777-783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 坂本宣弘、高橋広城、田中達也、社本智也、小林勝正、瀧口修司	4. 巻 72
2. 論文標題 虚血性腸疾患の腹腔鏡・開腹手術における術中腸管血流評価	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 手術	6. 最初と最後の頁 293-298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 前田杏梨、高橋広城、前田祐三、鈴木卓弥、仲井希、柳田剛、志賀一慶、廣川高久、原賢康、小川了、松尾洋一、瀧口修司
2. 発表標題 大腸癌における抗アポトーシス効果とCAFとの関連性
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会, 2020年8月
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田杏梨、高橋広城、前田祐三、鈴木卓弥、仲井希、柳田剛、志賀一慶、廣川高久、原賢康、小川了、松尾洋一、瀧口修司
2. 発表標題 大腸癌微小環境においてCAFと関連した抗アポトーシス蛋白変化の検討
3. 学会等名 第75回日本消化器外科学会総会, 2020年12月
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋広城, 佐川弘之, 柳田 剛, 仲井 希, 志賀一慶, 廣川高久, 小川 了, 原 賢康, 松尾洋一, 瀧口修司
2. 発表標題 ロボット支援手術保険適応から見据える消化器外科手術の未来
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会, 2019年7月19日(東京)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋広城, 柳田剛, 仲井希, 前田祐三, 志賀一慶, 廣川高久, 小川了, 原賢康, 松尾洋一, 瀧口修司
2. 発表標題 ロボット支援腹腔鏡下側方郭清術(RALLND)の導入とその定型化
3. 学会等名 第74回日本大腸肛門病学会学術集会, 2019年
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松尾洋一, 林 祐一, 今藤裕之, 齋藤健太, 社本智也, 坪井 謙, 森本 守, 高橋広城, 石黒秀行, 瀧口修司
2. 発表標題 膵癌微小転移の制御を目的とした新規分子標的薬の開発
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会, 2018年7月12日(鹿児島)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前田祐三, 高橋広城, 柳田 剛, 仲井 希, 安藤菜奈子, 志賀一慶, 廣川高久, 原 賢康, 石黒秀行, 松尾洋一, 瀧口修司
2. 発表標題 TumorProgressionに伴うBcl-2ファミ リー蛋白の変化とそれらをターゲットとした治療の有効性の検討
3. 学会等名 第51回制癌剤適応研究会, 2018年3月23日(岐阜)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田祐三, 高橋広城, 原 賢康, 廣川高久, 志賀一慶, 安藤菜奈子, 柳田 剛, 仲井 希, 石黒秀行, 松尾洋一, 瀧口修司
2. 発表標題 STAT3/Bcl-xL/Mcl-1シグナルを介したApigeninによる大腸がんアポトーシス誘導効果の検討
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会, 2018年4月5-7日(東京)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田祐三, 高橋広城, 柳田 剛, 安藤菜奈子, 志賀一慶, 廣川高久, 原 賢康, 石黒秀行, 松尾洋一, 瀧口修司
2. 発表標題 IL-6/STAT3シグナルを介したapigeninによる大腸がんアポトーシス誘導効果
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会, 2018年7月11-13日(鹿児島)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田祐三, 高橋広城, 原 賢康, 志賀一慶, 佐藤崇文, 大久保友貴, 齊藤健太, 柳田 剛, 安藤菜奈子, 今藤裕之, 佐本洋介, 竹山廣光
2. 発表標題 大腸癌における抗アポトーシス蛋白を標的とした治療の検討
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高橋広城, 原 賢康, 松尾洋一, 石黒秀行, 小川 了, 志賀一慶, 柳田 剛, 竹山廣光
2. 発表標題 腹腔鏡下直腸切断術における腹腔鏡下後腹膜経路ストーマ造設法
3. 学会等名 第15回日本消化器外科学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 前田祐三、高橋広城、原 賢康、志賀一慶、柳田 剛、大久保友貴、齊藤健太、安藤菜奈子、今藤裕之、佐本洋介、石黒秀行、松尾洋一、瀧口修司
2. 発表標題 大腸癌におけるBcl-xLとMcl-1をターゲットとした治療法の開発
3. 学会等名 第15回日本消化器外科学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 前田祐三、高橋広城、原 賢康、志賀一慶、安藤菜奈子、柳田 剛、今藤裕之、佐本洋介、大久保友貴、齊藤健太、石黒秀行、松尾洋一、佐藤幹則、瀧口修司
2. 発表標題 大腸癌におけるApigeninのアポトーシス誘導効果についての検討
3. 学会等名 第72回日本大腸肛門病学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高橋広城、原 賢康、柳田 剛、竹山廣光
2. 発表標題 内視鏡手術で覆らなかった直腸切断術におけるストーマ造設法の常識
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高橋広城、松尾洋一、石黒秀行、原 賢康、小川 了、志賀一慶、柳田 剛、瀧口修司
2. 発表標題 腹腔鏡下直腸切断術における後腹膜経路ストーマ造設法の開発
3. 学会等名 第79回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	前田 祐三 (MAEDA Yuzo) (10770258)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教 (23903)	
研究分担者	松尾 洋一 (MATSUO Yoichi) (40381800)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究分担者	原 賢康 (HARA Masayasu) (80528860)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	