

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590593
 研究課題名（和文） 食品成分の併用による発癌予防効果の増強への基礎的検討
 研究課題名（英文） Investigation of combined effects of food factors
 for cancer prevention
 研究代表者
 曾和 義広（SOWA YOSHIHIRO）
 京都府立医科大学・医学研究科・准教授
 研究者番号：70315935

研究成果の概要：

食品成分の併用による発癌予防効果の増強を検討する為に、まず単独での癌細胞増殖抑制を検討した。その結果、ニンニクに含まれるdiallyl trisulfideに増殖抑制効果があることを見いだした。次に増殖抑制成分が、単独では抑制効果を示さない濃度を設定し、同じく増殖抑制成分である酪酸との併用効果を評価した。約30種類の各有効成分との併用を評価したが、十分な相加・相乗効果は見出せなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：予防医学

1. 研究開始当初の背景

食品による発癌予防に関する研究は疫学的研究を始め、臨床的研究、動物実験的研究及び細胞生物学的研究など様々なアプローチが行われてきた。疫学的研究により食事による発癌予防効果は明らかにされており、また動物実験や細胞生物学的実験から食品に含まれる成分（例：カロテノイド、フラボノイド等）による発癌予防効果も数多く証明されている。

しかしながら動物実験や細胞生物学的実験で効果が確認された食品成分が、通常の食生活において、生体内でその成分の有効

性の認められた濃度に達することは、多くの場合困難である。したがって、ヒトを対象とした疫学研究の結果と、動物や細胞を対象とした動物実験的研究や細胞生物学的研究の結果の間には量的な乖離が生じている。

この量的乖離を説明する仮説はいくつか推測されるが、我々は、食事においては常に複数の食品成分を摂取していることから、「複数の食品成分間の相互作用」が食事による癌予防効果を説明しうるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

我々は既に数多くの食品成分による発癌予防効果としての細胞増殖抑制効果やアポトーシス（細胞死）誘導効果を見だし、その作用機構も分子レベルで詳細に検討してきた。我々が従来明らかにしてきたこれらの知見を基に、細胞内の様々なシグナル伝達機構を踏まえた組み合わせを考慮することによって、相乗効果や相加効果が期待される食品成分の併用摂取による発癌予防戦略を提案する。

本研究の最終目的は、単独成分の大量摂取ではなく多成分の複合摂取により、ヒトへの介入試験において有効性と安全性に優れた被験物質の成分を提案するものである。また従来の食品成分による癌予防研究が、単独成分摂取による“医薬品的指向”であるのに対し、本研究では複合成分の併用摂取による“食事的指向”を標榜することで、より食生活に近い、すなわち疫学的研究の結果を反映する食品成分による発癌予防を実践するためのものである。

3. 研究の方法

(1) 本研究課題のテーマである“作用機構に基づいた食品成分の「論理的」併用戦略”を実施するには、“標的分子の発現調整作用に基づいた食品成分のスクリーニング”が必要となってくる。従来は細胞増殖抑制効果のある物質を見だし、そこから演繹的に標的分子を明らかにする研究を実施してきたが、本研究課題では細胞増殖抑制機構やアポトーシス誘導機構に関与する分子をあらかじめ“標的分子”として設定し（例、p21）、その発現を誘導する物質をスクリーニングする。

(2) 次に「論理的」に相互作用が期待される発癌予防効果のある食品成分の組み合わせを、上述のスクリーニングの結果見出された発癌予防効果のある食品成分に対して行い、その組み合わせ効果の検討を実施する。

4. 研究成果

食品成分の併用による発癌予防効果の増強を検討する為に、まずそれらの併用研究に供する要素成分の探索として、始めに食品成分や天然成分の単独での癌細胞増殖抑制効果を探索・検討した。

(1) その結果として、植物由来成分である cryptolepine に癌細胞増殖抑制効果のあることを見だし、その作用としては、サイクリン依存性キナーゼ (CDK) を阻害することで細胞周期の停止作用を示すCDK阻害因子p21の発現を cryptolepine が転写レベルで誘導することにあることを見いだした。（雑誌論文6）

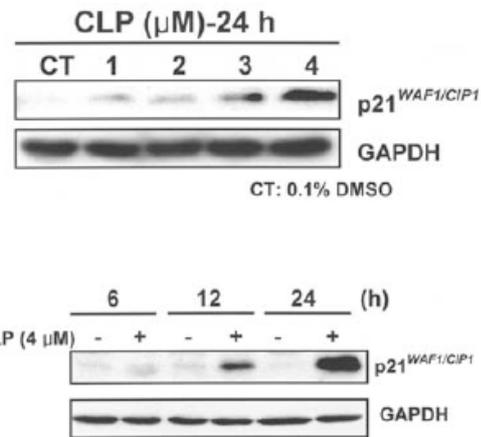


図1：cryptolepine (CLP) によるp21誘導（雑誌論文6より引用）

(2) また、発癌予防効果研究においては動物実験研究が必須と考え、まず既にp21や、抗腫瘍性リガンドであるTRAILのレセプター分子であるDR5の発現を誘導することが知られていた食品成分であるsulforaphaneを用いて *in vitro* 及び *in vivo* での抗腫瘍効果を検討した。その結果、sulforaphane は *in vivo* だけでなく、*in vivo* においても癌細胞の増殖抑制効果を示すことを確認した。（雑誌論文5）

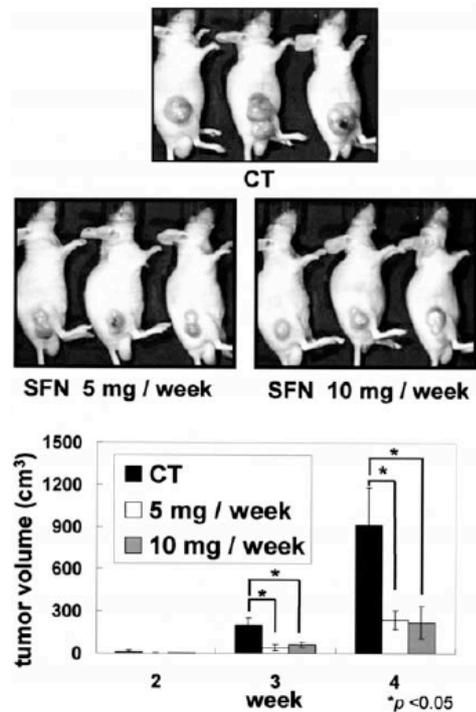


図2：sulforaphane (SFN) による *in vivo* で

の抗腫瘍効果（雑誌論文5より引用）

(3) また、疫学研究及び動物実験研究により発癌予防効果が知られているAllium野菜（ニンニク、タマネギ）に注目し、それらに含まれる有機硫黄化合物の一種である diallyl trisulfide (DATS) に、細胞周期をM期で停止させることによる癌細胞増殖抑制効果があることを見いだした。また、この効果は、DATSにより細胞内で産生される reactive oxygen species (ROS) 産生に依存しており、従来のM期停止を誘導する抗癌剤のような微小管の重合・脱重合への作用とは異なることを確認した。更に、このROS産生依存性M期停止は、正常細胞で認められず、癌細胞あるいはtransformされた細胞でのみ生じることも確認した。（学会発表1,2,6,7）

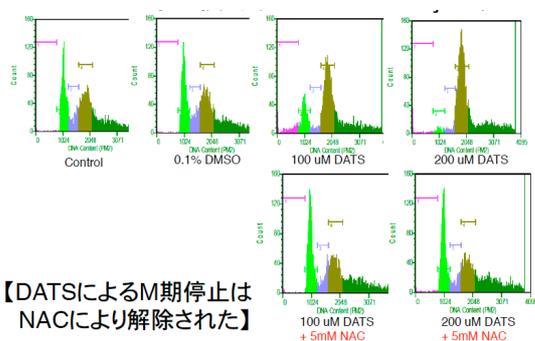


図3：diallyl trisulfide (DATS) によるM期停止とNAC処理によるその解除（学会発表7より引用）

(4) 食品成分や天然成分の単独での癌細胞増殖抑制効果をスクリーニング的に評価し、癌細胞増殖抑制効果を示す有効成分を選択した。次に、それらの有効成分が単独では十分な増殖抑制を示さない濃度（IC50）を設定し、同じく癌細胞増殖抑制効果を示す成分であり、多様な遺伝子発現に変化を及ぼすヒストン脱アセチル化酵素阻害作用を有する酪酸と組み合わせることで、その併用効果の評価した。約30種類の各有効成分と酪酸との併用をそれぞれ評価したが、十分な増殖抑制効果を示す相加・相乗効果は見出せなかった。

(5) 今後の展望としては、単独の食品成分による発癌予防効果の分子機構の解明は十分に実施できたと考えられるが、約30種類の各食品成分と酪酸による併用での評価では、十分な相加・相乗効果は得られなかったことから、今後は更なる食品成分の追加、組み合わせの検討、そして複数成分の組み合わせによる併用効果の評価することで、研究目的にかなう成果の創出が望まれる。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 6件）

① Sugiyama H, Kumamoto T, Suganami A, Nakanishi W, Sowa Y, Takiguchi M, Ishikawa T, Tamura Y, Insight into estrogenicity of phytoestrogens using in silico simulation, Biochemical and Biophysical Research Communications, 379(1)、2009、139-14、査読有

② Kong D, Aoki S, Sowa Y, Sakai T, Kobayashi M, Smenospongine, a sesquiterpene aminoquinone from a marine sponge, induces G1 arrest or apoptosis in different leukemia cells., Marine Drugs, 6(3)、2008、480-488、査読有

③ Takagi K, Sowa Y, Cevik OM, Nakanishi R, Sakai T, CDK inhibitor enhances the sensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer cells., International Journal of Oncology, 32(3)、2008、1105-1111、査読有

④ 曾和義広、酒井敏行、発癌の分子機構に基づいた癌の“分子標的予防”研究、医学のあゆみ、227(2)、2008、147-148、査読無

⑤ Matsui TA, Murata H, Sakabe T, Sowa Y, Horie N, Nakanishi R, Sakai T, Kubo T, Sulforaphane induces cell cycle arrest and apoptosis in murine osteosarcoma cells in vitro and inhibits tumor growth in vivo., Oncology Reports, 18(5)、2007、1263-1268、査読有

⑥ Matsui TA, Sowa Y, Murata H, Takagi K, Nakanishi R, Aoki S, Yoshikawa M, Kobayashi M, Sakabe T, Kubo T, Sakai T, The plant alkaloid cryptolepine induces p21^{WAF1/CIP1} and cell cycle arrest in a human osteosarcoma cell line., International Journal of Oncology, 31(4)、2007、915-922、査読有

〔学会発表〕（計 7件）

① 曾和義広 他、ニンニク成分 diallyl trisulfideによるROSを介したヒト大腸癌細胞増殖抑制機構の解析、分子予防環境医学研究会、平成21年1月23日、東京

② 曾和義広 他、ニンニク成分 diallyl trisulfideによるROSを介したヒト大腸癌細胞増殖抑制機構の解析、日本フードファクタ

一学会、平成 20 年 11 月 17 日、東京

③ Sowa Y. et al.、Identification of p15^{INK4b}-inductive compound, as a novel MEK 1/2 inhibitor、日本癌学会、平成 20 年 10 月 28 日、名古屋

④ 曾和義広 他、CDK 阻害因子 p15^{INK4b} 誘導化合物の探索と新規 MEK 阻害剤としての同定が
ん分子標的治療研究会、平成 20 年 6 月 26 日、東京

⑤ 高木浩一 他、CDK 阻害剤による 5-FU 感受性増強効果に関する検討、がん分子標的治療研究会、平成 20 年 6 月 26 日、平成 20 年 6 月 26 日、東京

⑥ 曾和義広 他、ニンニク成分 diallyl trisulfide による ROS を介した癌細胞増殖抑制機構の解析、がん予防大会、平成 20 年 5 月 23 日、福岡

⑦ 曾和義広 他、ニンニク成分 diallyl trisulfide による ROS を介した癌細胞増殖抑制機構の解析、日本衛生学会、平成 20 年 3 月 30 日、熊本

〔図書〕(計 2 件)

① 曾和義広、シーエムシー出版、バイオ医薬の開発技術とシーズ、2009、29-39

② 曾和義広 他、サイエンスフォーラム、アンチエイジング・ヘルスフード、2008、261-267

〔その他〕

ホームページ

<http://www2.kpu-m.ac.jp/~pubmed/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

曾和 義広 (SOWA YOSHIHIRO)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号：70315935