

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：34104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2011

課題番号：20590610

研究課題名（和文） 食品中非栄養素の機能性と安全性に関する基礎的研究

研究課題名（英文） Investigation on function and safety of non-nutrients in food

研究代表者

里見 佳子 (SATOMI YOSHIKO)

鈴鹿医療科学大学・薬学部・教授

研究者番号：90270678

研究成果の概要（和文）：

ワカメなどに含まれる海産カロテノイドであるフコキサンチンの前立腺がん細胞増殖抑制作用が示された。フコキサンチンは、*gadd45a* 遺伝子の発現と細胞周期の G1 期での停止を誘導した。それらには、タンパク質リン酸化酵素 SAPK/JNK が促進的に関与しており、フコキサンチン-SAPK/JNK-GADD45-G1 アレストの経路が示唆された。一方、フコキサンチンは、異物代謝酵素 CYP1A1、1A2、3A4 の酵素活性を抑制することが示された。フコキサンチンは、発がん性物質に対する防御作用と薬物の作用増強作用がある可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

Fucoxanthin inhibited the growth of prostate cancer cells. Growth-inhibitory effects were accompanied by the induction of *gadd45a* and G1 arrest, and SAPK/JNK activation. Fucoxanthin inhibited the activities of CYP1A1/2 and CYP3A4, suggests that fucoxanthin may protect against pro-carcinogen toxicity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：食品衛生学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：カロテノイド、G1 アレスト、GADD45、MAPK、P450、抗腫瘍作用、アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

食品中に含まれる非栄養素については、近年食品の第3の機能を担う因子として注目されて来ており、機能性食品の開発が進められて来ていた。そのため、それらの有効性や安全性が新たな食品衛生上の問題となって来ていた。個々の成分については、細胞レベル、

動物実験レベルでの解析が多数行なわれ、一部については介入試験や臨床研究も実施されていた。しかし多くの食品中非栄養素について、ヒトレベルで明確に有効性が確認されている成分は、少なくともがん予防に関してはほとんど無いと言える状況であった。また、ヒトへの応用において重要である安全性や

作用機序についても、解析が充分ではなかった。発がん予防に有効と考えられていたβ-カロテンの介入試験で肺がんが増加すると言う否定的な結果が出たのは、その1例と言える。

2. 研究の目的

食品中非栄養素の中で、疫学研究などより古くからその有効性は言われているが、近年その問題点も見つかってきていたカロテノイドについて、その機能と安全性を明らかにすることを目的とした。カロテノイドの中では、フコキサンチンを主に取り上げた。フコキサンチンはワカメなどの海藻に多く含まれており日本人は比較的多く摂取しているが、解析はあまりされていなかった。機能については、がん予防を目標に、抗腫瘍作用について解析することとした。安全性については、抗酸化物質であるカロテノイドは pro-oxidant として作用する場合もあるが、本研究では P450 誘導について検討することとした。P450 は異物代謝に重要な役割を担っているが、発がん物質の活性化に関与していることも知られており、前述のβ-カロテンの否定的な結果には P450 誘導が関与していることが推定されていることから、P450 誘導の有無を解析することとした。

3. 研究の方法

(1) 機能性について

① 実験系は、ヒト前立腺がん細胞 DU145、LNCap およびヒト肝臓がん細胞 HepG2 を用いた。

② カロテノイドとしては、フコキサンチン (図1) を中心に、いずれも海産カロテノイドであるハロシンチアキサンチン、ペリディニンを用いた。

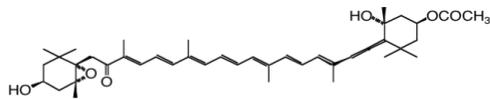


図1 フコキサンチンの構造

③ 既に、フコキサンチンは肝臓がん細胞において、GADD45-MAPK-G1 アレスト経路を介して抗腫瘍作用を発現していることがわかってきたため、細胞周期の解析、遺伝子発現に対する影響の網羅的解析を行なった。発現が変動するものとして抽出された遺伝子の関与を見るために RNA 干渉法を用いた。また、細胞内情報伝達に関わる MAPK 経路への影響について特異的阻害剤を用いて解析した。そして、遺伝子発現-MAPK-細胞周期の一連の経

路を解析した。

(2) 安全性について

① 生体の場合、ほとんどまず肝臓を経由すると考えられるため、実験系として肝臓がん細胞 HepG2 を用いた。

② カロテノイドは、(1)で用いたカロテノイド以外に出来るだけ多くについて解析した。

③ P450 酵素群の活性に対する影響を、P450-Glo Assay System、EROD 活性測定法、Vivid CYP450 Screening Kit を用いて、細胞レベルおよび *in vitro* で解析した。

4. 研究成果

(1) 機能性について

① フコキサンチンは、前立腺がん細胞 DU145 およびホルモン感受性の異なる LNCap 細胞の増殖を抑制した。そして、G1 アレストを起こすこと、G1 アレスト誘導には GADD45A が関与していること、また MAPK のうち SAPK/JNK の活性化が関わっていることが示された。つまり、フコキサンチンは前立腺がん細胞において、SAPK/JNK-GADD45-G1 アレスト経路を介して細胞増殖抑制作用を発現していることが示された (図 2)。肝臓がん細胞においては、フコキサンチンは同じく GADD45A を介して G1 アレストを起こすという結果が得られていたが、MAPK については、p38MAPK 抑制的関与を介しているという異なる結果であった。つまり、同じカロテノイドでも細胞種により異なる経路を介して作用していることが示された。

DU145 and LNCap

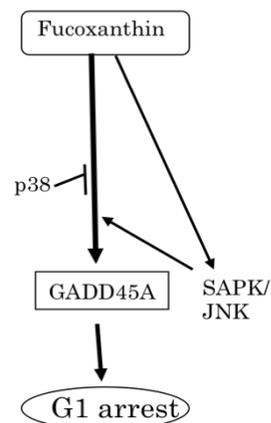


図2

② ハロシンチアキサンチン (図3) が、肝臓がん細胞 HepG2 において、p38MAPK-GADD45-G1 アレスト経路を介して作用していることが

示された。p38MAPK は、フコキサンチンと同じく抑制的に関与していた。つまり、フコキサンチンとハロシンチアキサンチンは、ほぼ同様の作用であることがわかった。ハロシンチアキサンチンとフコキサンチンは、片方の側鎖以外は同じ構造をしており、構造と作用の関連が示唆された。

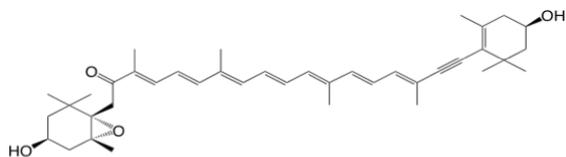


図3 ハロシンチアキサンチンの構造

③ ペリディニン (図4) が、肝臓がん細胞において、G1 アレストも起こすが、高濃度ではアポトーシスを誘導することが示された (図5)。フコキサンチンは高濃度でもアポトーシスは起こさなかったことから、ペリディニンとフコキサンチンの作用点は異なることが示唆された。ペリディニンとフコキサンチンの構造の大きな違いはブテノライド構造であり、この構造がペリディニンの作用と関連していることが考えられた。

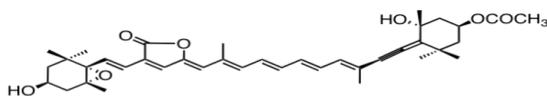


図4 ペリディニンの構造

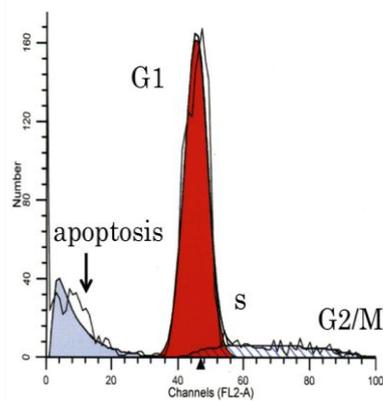


図5 ペリディニンによるアポトーシス誘導

以上の結果より、フコキサンチンは前立腺がん細胞の増殖をホルモン感受性に関わらず抑制することがわかった。フコキサンチンの抗腫瘍作用の機序として、MAPK-GADD45-G1 アレスト経路があることをはじめて明らかにした。また、関与する MAPK の種類や関与の仕方は、細胞種により異なることがわかった。一方、ハロシンチアキサンチンやペリディニ

ンの作用解析から、作用の類似点や相違点が明らかとなり、構造活性相関を示唆する結果が得られた。今後は、MAPK の活性化がどのように起きているか、またカロテノイドのどの構造が重要かを解析することによりカロテノイドの作用の全体像を明らかにしていくことが出来ると考えられる。

(2) 安全性について

フコキサンチンとハロシンチアキサンチンは CYP1A1 の発現は誘導するが、その酵素活性は抑制することが示された (図6)。フコキサンチンは、さらに CYP1A2、CYP3A4 の活性も抑制することがわかった。その阻害様式はいずれも混合型であり、CYP1A1 と CYP3A4 に対する抑制作用が強いことが示された。フィトエンやβ-カロテンなど、いくつかの他のカロテノイドには酵素活性抑制作用は見られなかった。以上より、フコキサンチンは発がん物質が CYP1A1/2 により活性化されることを抑制するが、一方で CYP3A4 により代謝される薬物の作用を増強する可能性があることがはじめて示された。この結果は、今後ヒトへの応用を考える場合に特に重要である。

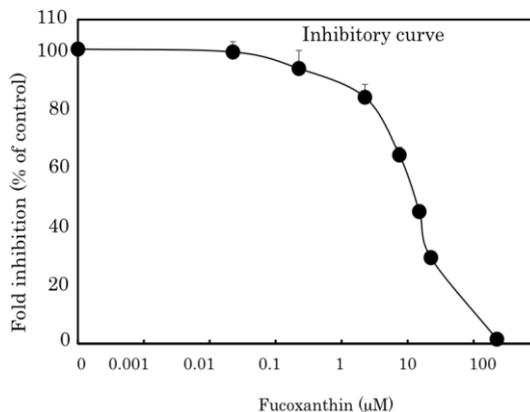


図6 フコキサンチンのCYP1A1酵素活性抑制作用

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 Satomi Y., Inhibitory effect of halocynthiaxanthin on the growth of HepG2 cells. Carotenoid Sci., 査読有、16, 2012, in press.

② Satomi Y., Fucoxanthin induces Gadd45A expression and G₁ arrest with SAPK/JNK activation in LNCap human prostate cancer

cells. Anticancer Res., 査読有、32, 2012, 807-814.

③ Satomi Y., Inhibitory effect of fucoxanthin and halocynthiaxanthin on CYP1A1 activity. Carotenoid Sci., 査読有、15, 2011, 47-48.

④ Satomi Y. and Nishino H., Implication of mitogen-activated protein kinase in the induction of G1 cell cycle arrest and *gadd45* expression by the carotenoid fucoxanthin in human cancer cells. Biochimica et Biophysica Acta, 査読有、1790, 2009, 260-266.

〔学会発表〕(計 10 件)

① 里見佳子、海産カロテノイドであるフコキサンチンの CYP1A1 酵素活性抑制作用、第 84 回日本生化学会大会、2011 年 9 月 22 日、京都。

② 里見佳子、ハロシンチアキサンチンのがん細胞増殖抑制作用、第 24 回カロテノイド研究談話会、2010 年 9 月 14 日、徳島。

③ 里見佳子、フコキサンチンにより発現が変動する遺伝子の網羅的解析、日本薬学会第 130 年会、2010 年 3 月 30 日、岡山。

④ 里見佳子、フコキサンチンは CYP1A1 の発現を誘導するが、その酵素活性は抑制する、第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 3 日、横浜。

⑤ 里見佳子、フコキサンチンによる GADD45A 誘導機序；細胞種による違いについて、第 67 回日本癌学会学術総会、2008 年 10 月 28 日、名古屋。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

里見 佳子 (SATOMI YOSHIKO)
鈴鹿医療科学大学・薬学部・教授
研究者番号：90270678

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：