

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：31101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05930

研究課題名(和文) 栄養成分を用いた副作用の少ない癌細胞増殖抑制法の開発

研究課題名(英文) Development of inhibitory method against cancer cell growth with few side effects using nutritional ingredients

研究代表者

福井 雅之 (FUKUI, Masayuki)

青森大学・薬学部・教授

研究者番号：60392502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)： TRAILという分子は正常細胞に影響せず、がん細胞特異的に細胞死を誘導することができる。しかし、がん細胞のなかにはTRAILが誘導する細胞死に対して感受性が低いものも存在する。本研究では、ヒトが日常摂取する不飽和脂肪酸により、TRAIL単独では細胞死を誘導できないがん細胞に対して、TRAILが誘導するがん細胞特異的な細胞死誘導効果を上昇させることを明らかにしようとした。その結果、不飽和脂肪酸で乳がん細胞を処理することにより乳がん細胞に発現する細胞死を調節する分子であるBcl-2ファミリータンパク質の発現量が変化することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不飽和脂肪酸によってTRAIL感受性を誘導できる細胞株と誘導できない細胞株の応答の違いを明らかにすることで、がん細胞の薬剤耐性獲得メカニズムを明らかにすることができ、新しい抗腫瘍薬の標的候補の探索に繋がる。また、これまでの抗腫瘍薬は正常細胞にも影響し副作用を示すものが多く、患者のQOL低下が問題となる。不飽和脂肪酸の様な栄養成分でがん細胞の細胞死感受性を上昇させ、抗腫瘍薬の投与量を下げることができる。抗腫瘍薬の副作用の影響を低減することは、患者のQOLの向上が期待できる。

研究成果の概要(英文)： A molecule called TRAIL can specifically induce cell death in cancer cells without affecting normal cells. However, some cancer cells are less sensitive to TRAIL-induced cell death. In this study, we tried to clarify that the unsaturated fatty acids that humans ingest on a daily basis increase the cancer-cell-specific cell death induced by TRAIL against cancer cells in which TRAIL alone cannot induce cell death. As a result, we found that the treatment of breast cancer cells with unsaturated fatty acids changed the expression level of Bcl-2 family proteins, which are molecules that regulate cell death.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：アポトーシス 不飽和脂肪酸 がん細胞

## 1. 研究開始当初の背景

TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) レセプターは主にはがん細胞特異的に発現しており、TRAIL はがん細胞特異的に細胞死を誘導することが知られている。しかし、がん細胞のなかには TRAIL が誘導する細胞死に対して感受性が低いものも多く存在する。がん細胞株、ヒトがん組織切片を用いた多くの実験から、多くのがん細胞は TRAIL レセプターである DR4 と DR5 両方、或は一方を発現する事が示された。DR4 と DR5 の mRNA は正常な組織においても検出されるが、タンパクレベルでの発現は損傷細胞、感染細胞、腫瘍細胞に限られる (Ichikawa, Nat Med, 2001; Brincks, J Immunol, 2008)。これらの事から TRAIL/DR を介したシグナル伝達のはん細胞特異的にアポトーシスを誘導し、正常細胞に対する傷害は低く抑えられると期待される。しかし、多くの乳がん細胞は TRAIL が誘導するアポトーシスに対して抵抗性を示す (Keane, Cancer Res, 1999)。TRAIL のアポトーシス誘導メカニズムは、TRAIL と DR4/5 の結合により結果としてカスパーゼ 8 の活性化を誘導する。カスパーゼ 8 がさらに下流のエフェクターカスパーゼを活性化し、アポトーシスが誘導される。TRAIL/DR を介したがん細胞特異的な細胞死誘導は我々の体が自然に持つ抗腫瘍機構として非常に重要である。しかしながら、乳がんを含め高い悪性度を持つがん細胞は通常、TRAIL/DR を介した細胞死誘導に感受性が低い場合が多い。こうしたがん細胞においても DR4 と DR5 は細胞表面に発現しており、高濃度のリガンドを作用させる事により細胞死を誘導する事は依然として可能である事が報告されている (Ashkenazi, Nat Rev Cancer, 2002; Pollack, Clin Cancer Res, 2001; Qin, Nat Med, 2001)。

## 2. 研究の目的

これまでに我々は、ヒトが日常摂取するビタミン C や不飽和脂肪酸 (PUFA: polyunsaturated fatty acid) が細胞内 ROS の蓄積を誘導する事でがん細胞の増殖抑制を示し、細胞死を誘導することを明らかにしてきた。そこで本研究では、PUFA の摂取と TRAIL 投与を併用することにより、TRAIL 単独では細胞死を誘導できないがん細胞に対して、TRAIL が誘導するがん細胞特異的な細胞死誘導効果を上昇させる事を証明する。さらにその TRAIL 高感受性誘導機構を解析する。これらを明らかにすることで、PUFA と TRAIL の併用が TRAIL 抵抗性のがん細胞に対し、副作用の少ない治療法となる事を示す。

日本では女性の癌の中で患者数の最も多いのが乳がんであり、20 人に 1 人の女性が乳癌を発症するという統計がある。8 人に 1 人が乳がんを発症するという米国に比べると日本人の乳がん発症率は低く抑えられているが、食文化の欧米化に伴い近年日本人女性の乳がん発症率は増加傾向にあり、今後さらに増加する事が予想される。また先に述べたように、乳がん細胞の多くは TRAIL が誘導する細胞死に抵抗性を示す場合が多く、進行した乳がんを治療する有効な手段も乏しい事からこうした癌を抑制する新規の治療法の開発は重要かつ緊急な課題である。乳がんのみならずその他の癌に対しても TRAIL に対する感受性を上昇させる事が出来れば、正常細胞に対する副作用の少ない有効ながん治療に繋がる事が期待できる

## 3. 研究の方法

*In vitro* 実験系において、PUFA/TRAIL の併用処理によって相乗的な細胞死誘導が引き起こされるメカニズムをレセプター誘導経路、ミトコンドリア誘導経路に関わる分子に焦点をあてて解明する。

ヒト乳がん細胞株を用いて、コントロール、TRAIL 単独処理群、PUFA 単独処理群、TRAIL/PUFA 併用処理群を調整し、ウェスタンブロット法、定量的 RT-PCR 法、酵素活性アッセイ等を用いてアポトーシス誘導経路に関わる分子の発現量や活性がどのように変化するかを検討した。TRAIL 誘導アポトーシスを増強するターゲット分子が同定できれば、特異的な阻害剤や siRNA を用いてその分子の作用を抑制し、併用処理による相乗効果が抑えられる事を確認する。

## 4. 研究成果

PUFA と TRAIL を併用することで、TRAIL 単独処理よりも細胞死を強く誘導できることが確認できた。ただし、複数の乳がん細胞株を用いて検討した結果、細胞株によって PUFA による TRAIL 感受性を誘導できる細胞株と変化の見られない細胞株が存在することが明らかとなった。

PUFA 処理による TRAIL 感受性が上昇する仕組みを明らかにするため、TRAIL レセプターである DR4 と DR5 の遺伝子発現量を定量的 RT-PCR 法で検討した結果、DR4 と DR5 ともに PUFA 処理により発現が上昇する傾向が見られた。また、アポトーシスの調節因子である Bcl-2 ファミリータンパク質の遺伝子発現量についても RT-PCR 法で検討した。その結果、アポトーシス誘導に働く分子については発現量の変化が見られなかったが、アポトーシス抑制に働く分子のいくつかは発現量が有意に低下していた。これらのことから、PUFA は一部の乳がん細胞に対しては、TRAIL

受容体の発現量を上昇させると共にアポトーシス抑制に働く Bcl-2 タンパク質の発現を低下させることがわかった。このことは、TRAIL 低感受性を示す乳がん細胞に対して PUFA は感受性を回復させ、TRAIL による増殖抑制効果を上昇させることが期待される。今後 PUFA が乳がん細胞中に発現するアポトーシス関連分子に及ぼす影響をより詳細に解析することにより、乳がん細胞だけでなく TRAIL 抵抗性を示すがん細胞に細胞死を誘導する方法の開発につながると期待できる。

本研究を実行する際に、様々な抗腫瘍効果を示す薬剤と天然物由来の成分を用いて、その増殖抑制効果を比較検討した。予想に反して、ポリフェノールの一種であるレスベラトロールは、最も一般的な化学療法薬として用いられているパクリタキセルの抗腫瘍効果を減弱させた。そのメカニズムとして、レスベラトロールは、SIRT1、FOXO 転写因子を介して HER3 の発現上昇を誘導することが明らかとなった。これらのことから、食品に含まれる成分は組み合わせにより、薬剤の有する抗腫瘍効果を高めたり、逆に低下させたりすることが明らかとなった。そこで、これらの成分を用いてがんの治療効果を高めるためには、食品に含まれる成分がどの様にかん細胞に影響し、性状を変化させるかを詳細に検討しないといけないことが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fukui M, Choi HJ, Wang P, Zhu BT.	4. 巻 28
2. 論文標題 Mechanism underlying resveratrol's attenuation of paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells: Role of the SIRT1-FOXO1-HER3 signaling pathway.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Treat Res Commun.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ctarc.2021.100386.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kurane T, Matsunaga T, Ida T, Sawada K, Nishimura A, Fukui M, Umemura M, Nakayama M, Ohara N, Matsumoto S, Akaike T, Matsuzaki G, Takaesu G.	4. 巻 36
2. 論文標題 GRIM-19 is a target of mycobacterial Zn <sup>2+</sup> metalloprotease 1 and indispensable for NLRP3 inflammasome activation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FASEBJ.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.202101074RR.	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	金光 兵衛  (KANEMITSU Hyoei)  (00265084)	国際医療福祉大学・薬学部・教授     (32206)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------