

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17699

研究課題名(和文) 臨床応用を目指した消化器癌に対するzerumboneの抗腫瘍効果の検討

研究課題名(英文) Investigation of the antitumor effect of zerumbone on gastrointestinal cancers for clinical application

研究代表者

坪井 謙 (Tsuboi, Ken)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師

研究者番号：80592500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌細胞株を皮下移植したモデルマウスを作成し、Zerumbone(ZBN)を腹腔内投与した。コントロール群では腫瘍径は経時的に増大傾向であったが、ZBN投与群では高用量および低用量の両群において腫瘍径は有意に抑制された。しかし、ZBNの用量との関連は認めなかった。また、マウス体重に差は認めなかったが、腫瘍重量は有意に抑制された。腎重量や肝重量には群間差を認めず、ZBNによる肝腎障害は低い可能性があることが推測された。今回、予備実験的に少数のマウスでの実験であり、今後nを再検討し、再実験を予定している。また、胃癌細胞株を用いた実験についてはまだ十分な結果を得られていない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌の進展には転写因子NF- κ Bを介した炎症のメカニズムが密接に関与するが知られているが、既存の抗NF- κ B阻害薬は副作用が強いことが課題である。我々は、ハナショウガ由来の天然化合物Zerumbone(ZBN)に着目し、細胞実験において、ZBNがNF- κ Bの活性を低下させ、癌の血管新生を抑制することを報告した。しかし、消化器癌に対するZBNの動物実験の報告は少なく、その効果や副作用は未知であった。本研究で、マウスにおいてZBNは生体組織への悪影響が少なく、膵癌に対する抗癌作用を確認できた。今後、他の消化器癌でもZBNの抗癌作用を確認できれば、消化器癌の新たな治療薬の開発に寄与できると考える。

研究成果の概要(英文)：Mouse models of pancreatic cancer cell lines transplanted subcutaneously were created, and Zerumbone (ZBN) was administered intraperitoneally. In the control group, tumor diameter tended to increase over time. On the other hand, ZBN significantly suppressed tumor growth in both the high and low dose groups, but the tumor suppression effect was not related to the ZBN dose. Tumor weight was also significantly suppressed, although there was no difference in mouse body weight. There were no differences in kidney or liver weights between groups, suggesting that ZBN-induced liver and kidney damage may be low. This was a preliminary experiment using a small number of mice, and we plan to reexamine the number of mice and conduct the experiment again later. In addition, the experiment using gastric cancer cell lines has not yet yielded sufficient results.

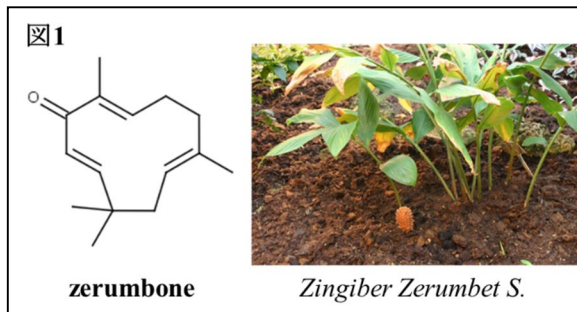
研究分野：消化器外科

キーワード：膵癌 胃癌 Zerumbone in vivo

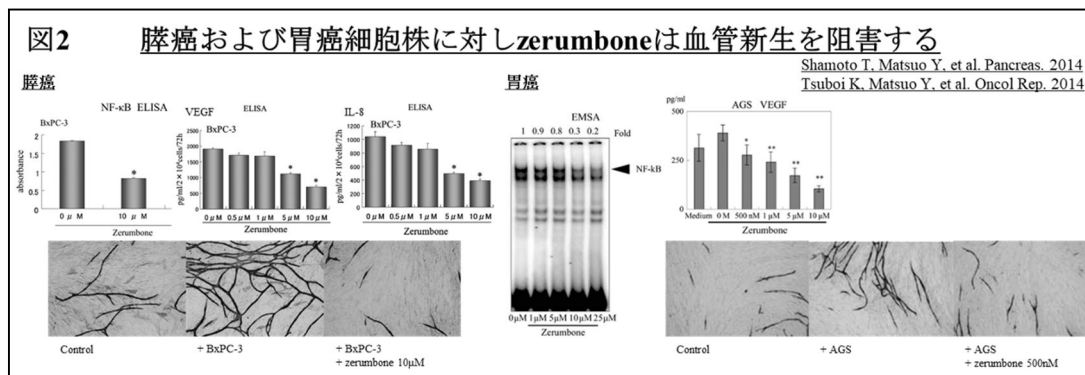
1. 研究開始当初の背景

癌と炎症には密接な関わりがあることが知られている。癌の進展には、癌を取り巻く周囲の間質細胞を含めた癌微小環境が重要な役割を担っているとされ、その相互作用には、IL-1, IL-6 および TNF といった炎症性サイトカインの関与が示唆されている。これらの炎症性サイトカインは、転写因子 NF- κ B の活性により調節を受けていることが知られており、われわれはこれまでに、NF- κ B を介した腫瘍抑制について研究を重ねてきた。

一方, zerumbone は熱帯・亜熱帯に生息する Zingiber Zerumbet Smith(和名ハナショウガ)の根から精製される天然化合物である(図1)。東南アジアでは民間療法に用いられ、日本では白ウコンとして知られている。zerumbone は抗炎症作用以外に、抗酸化、抗菌、抗アレルギー、および抗腫瘍作用など多岐にわたり報告されている。われわれは zerumbone の消化器癌に対する抗腫瘍効果を検討してきた。その結果, in vitro において zerumbone は膵癌および胃癌に対し NF-



B の活性を低下させ、その下流の血管新生因子 IL-8 および VEGF の産生を制御し、腫瘍血管新生を抑制することを世界にさきがけて報告した(図2)。しかし, NF- κ B は癌の増殖能や血管新生に関与する反面、生体では免疫反応など生命に必要な機能を有しており、例えば、すでに多発性骨髄腫で使用されている抗 NF- κ B 阻害薬 bortezomib は、骨髄抑制や神経障害、肺障害などの副作用が強いことが問題となっている。そのため、副作用の少ない新規の抗腫瘍薬の開発が望まれる。



2. 研究の目的

本研究の目的は、消化器癌移植モデルマウスに対する zerumbone の抗腫瘍効果および生体内における抗腫瘍因子を検討し、さらに、zerumbone の安全かつ有効な投与経路を検証することである。これにより、zerumbone が消化器癌に対する新たな分子標的薬の役割を果たすことを示し、今後、臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

1. zerumbone 注射実験 (in vivo)

Male athymic NCr nude mice (N=5/group)を用いて、胃癌および膵癌細胞株のマウス皮下移植モデルを作成し、zerumbone を週1回、4~6週間にわたり腹腔内投与する(図3)。

(A) 腫瘍縮小効果の検証

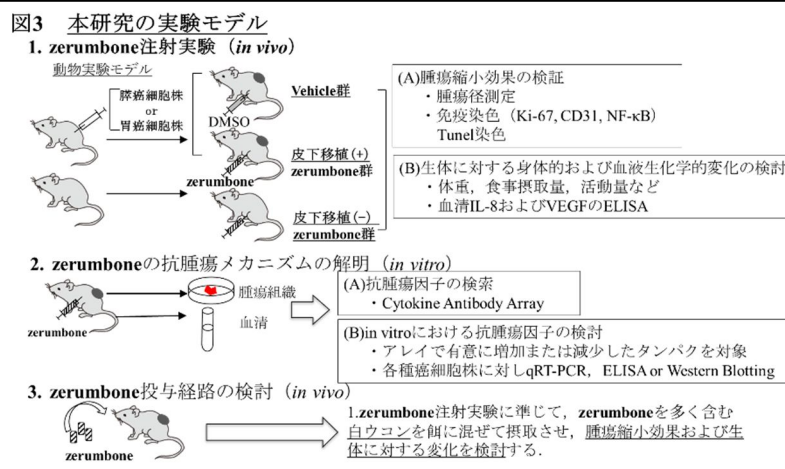
腫瘍径を経時的測定し評価する。すでに胃癌細胞株 MKN45 の皮下移植モデルに対する予備実験にて、zerumbone 皮下投与単回投与群において腫瘍径が縮小することを確認している。

また、腫瘍部の Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE)を作成し、Ki-67, 抗 CD31, 抗 NF-

B, および TUNEL 染色を行い, 増殖能, 血管新生能, NF- κ B の発現強度および apoptosis の変化を検討する.

(B) 生体に対する身体的および血液生化学的变化の検討

zerumbone 注射による体重や食餌摂取量, 活動能などの変化を観測・評価する. また, 血清中の血管新生因子 IL-8 および VEGF の変化を ELISA で検討する.



2. zerumbone の抗腫瘍メカニズムの解明 (in vitro)

(A) 抗腫瘍因子の検索

in vivo 実験で得られたマウス血清および腫瘍組織検体に対し Cytokine Antibody Array を行う. zerumbone 投与により有意に増加または減少した因子を探索する.

(B) in vitro における抗腫瘍因子の検討

(A) で同定できた因子のうち, 腫瘍増殖や血管新生に関連するタンパクについてピックアップする. これらの因子に対し, 各種癌細胞株における発現を qRT-PCR および ELISA, または Western Blotting を用いて検討する.

3. zerumbone 投与経路の検討 (in vivo)

zerumbone を多く含む白ウコンは健康食品として広く流通している. そこで, 本研究では, 胃癌および膵癌細胞株の皮下移植モデルマウスに対し, 白ウコンの経口摂取による抗腫瘍効果を検討する.

前述の「1. zerumbone 注射実験」に準じて, 腫瘍径の測定および各種免疫染色を行い, 白ウコンの摂取による腫瘍縮小効果を評価する. また, マウスの身体的変化の観察や, 血清中の血管新生因子の定量を行い, zerumbone 経口摂取による副作用や体内の血清動態について検討を行う.

4. 研究成果

膵癌細胞株を皮下移植したモデルマウスを作成し, zerumbone を腹腔内へ投与した. コントロール群では, 腫瘍径は経時的に増大傾向を認めた. 一方で, zerumbone 投与群では高用量および低用量の両群において腫瘍径は有意に抑制された. しかし, 腫瘍縮小効果と zerumbone の用量との関連は認めなかった. また, マウス体重に差は認めなかったが, 腫瘍重量は有意に抑制された. 腎重量や肝重量には群間差を認めず, zerumbone による肝腎障害は低い可能性があることが推測された. 今回, 予備実験的に少数のマウスでの実験であり, 今後この予備実験の結果からマウス匹数を再検討し, 再実験を予定している. また, 胃癌細胞株を用いた実験についてはまだ十分な結果を得られていない.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------