

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：30108

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11598

研究課題名(和文) がん治療における免疫/栄養ハイブリットマーカーの創出と食品による新たな治療戦略

研究課題名(英文) Development of immuno/nutritional hybrid markers in cancer treatment and new therapeutic strategies using food

研究代表者

鈴木 夏子 (Suzuki, Natsuko)

北海道科学大学・薬学部・准教授

研究者番号：60535293

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)：本研究では、ラットへの分子標的薬投与後の腸管alpha defensin (DEFA)5とIgA、唾液中IgAの相関から、唾液IgAが腸管免疫の指標になるか否かを評価した。さらに、確立した系を用いて、分子標的薬による腸管免疫低下に対する食品成分の有用性を評価した。ラットへの分子標的薬の連日投与による腸管IgAと唾液IgAに相関があることが見出された。また、食品成分曝露によるDEFA5等への影響については、一部の食品成分でDEFA5発現量を増加させることを見出した。最後に、食品成分を併用することで、分子標的薬による腸管免疫低下を回復する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子標的薬は副作用の少ない経口抗がん剤として注目されているが、消化管に直接接触することから、特有の副作用である消化器症状が高頻度で発現する。本研究では、分子標的薬による腸管免疫低下を体外から測定できる可能性、さらに食品成分併用が免疫低下を回復することを明らかにした。今回の検討により、腸管免疫を体外から予測できる可能性が示された。また、市販の食品または食品成分の中には、抗がん剤の副作用に対して有効となる可能性が示された。本研究の進展は、抗がん剤による副作用予測および食品成分を考慮した治療内容の立案に貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the correlation between intestinal alpha defensin (DEFA5)5 and IgA and salivary IgA after administration of molecularly targeted drugs to rats was used to assess whether salivary IgA is an indicator of intestinal immunity. Furthermore, the established system was used to assess the usefulness of food components in reducing intestinal immunity induced by molecularly targeted drugs. Consecutive daily administration of molecularly targeted drugs to rats decreased DEFA5 mRNA but increased IgA protein expression. Salivary IgA at this time was also measured and found to be significantly reduced, as was intestinal IgA protein expression, indicating a correlation between the two. Regarding the effects of food ingredient exposure on DEFA5 and others, we found that some food ingredients increased DEFA5 mRNA expression. Finally, it was suggested that the combined use of food components may restore the intestinal immunopotential induced by molecularly targeted drugs.

研究分野：食品機能学

キーワード：分子標的薬 機能性食品 腸管免疫

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がんは日本の死亡原因の第一位を占めており、がん化学療法分野においては投与方法の簡便さから経口抗がん剤を中心とした治療法が急速に発展している。しかし、がん患者の多くに抗がん剤の副作用による腸管免疫の機能低下が指摘され、栄養状態の悪化や治療の中断が臨床で大きな問題となっている。また、抗がん剤は消化管に直接接触することから、特有の副作用である消化器症状が高頻度で発現するが、腸管免疫を含め生体反応を視野にいれて評価した報告は極めて稀である。また、栄養と免疫は密接に関わっており、食品成分の有効利用は腸管免疫の回復をもたらす治療の効果向上に繋がるが、有効な食品成分は特定されておらず、評価方法も存在しない。本研究では、唾液 IgA が腸管免疫を評価できるマーカーとなりうるか検証し、さらに腸管免疫を指標として分子標的薬による副作用を回復させる食品成分を特定することを目指した。

### 2. 研究の目的

がん治療においては、腸管粘膜障害による腸管免疫低下、さらには治療効果および栄養状態の悪化が懸念されている。近年、従来のもより副作用の少ない経口抗がん剤として分子標的薬が注目されているが、特有の副作用である消化器症状が高頻度に発現することから使用に関して課題は多い。このような背景から、免疫賦活による副作用軽減を期待し、治療と併用してサプリメントを使用するケースが増えているが、エビデンスに乏しいものも多く存在するため、併用によるリスクおよび有用な食品成分の特定が急務である。また、免疫の中心となる腸管をターゲットとした食品成分のリスク評価に関しては生体機能への影響を考慮して評価している報告は少ない。本研究では、分子標的薬が腸管免疫低下に与える影響および唾液 IgA と腸管免疫関連物質の相関から、体外から測定可能な免疫予測マーカーを創出することを目的とした。さらに、免疫指標マーカーを指標とし、食品成分の有用性についても評価した。

### 3. 研究の方法

Wister 系雄性ラットに分子標的薬を 14 日間連日経口投与し、腸管、唾液腺における免疫関連遺伝子およびタンパク質発現量の変動を Real-time PCR、Western blotting により測定した。細胞実験においては、ヒト結腸癌由来株化細胞 Caco-2 を用い、分子標的薬および食品成分添加による DEFA5 タンパク質発現量を評価した。また、これらの検討が細胞生存率に起因するものではないことを確認するため、MTT 法を用いて分子標的薬および食品成分が生存率に与える影響を確認した。その他、各遺伝子発現は Real-time PCR、タンパク質発現量は Western blotting により定量を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 分子標的薬投与がラットの腸管免疫指標に及ぼす影響

分子標的薬としてアフアチニブおよびレゴラフェニブを用い、単回投与および連日投与における腸管免疫関連指標に与える影響を評価した。その結果、2 種の分子標的薬を投与したラット回腸において、自然免疫の指標である腸管 DEFA5 の有意な減少が確認された。このことから、両薬剤による副作用に自然免疫の低下が関与することが示唆された。また、獲得免疫については、両薬剤投与において、単回投与では IgA タンパク質発現量は減少したが、連日投与では増加した。パイエル板由来 IgA については、単回投与で減少傾向、連日投与では有意な増加が確認された。以降の検討では、腸管免疫の変動がより顕著であったアフアチニブを用いた。

#### (2) Defa を介した自然免疫および獲得免疫の関連

ラットへの分子標的薬の単独投与において、自然免疫および獲得免疫の変動に同様の傾向が見られたことから、IgA 分泌性受容体 pIgR に対する DEFA5 の制御の可能性について、Caco-2 細胞を用いた DEFA5 ノックダウン実験にて評価した。その結果、Tlr4 遺伝子発現レベルは有意に低下したことから、分泌ペプチドである DEFA5 が細胞外で作用し、pIgR の上流制御経路に影響を与えている可能性が示された。また、アフアチニブ曝露により Pigr 発現量は減少し、アフアチニブ除去後においても DEFA5 および Pigr 発現量の抑制がみられたことから、アフアチニブの効果の持続が確認された。以上から、DEFA5 が、自然免疫と獲得免疫の相互作用に影響することが示唆された。

#### (3) ラットへの分子標的薬投与による唾液および腸管免疫物質の関連性評価

アフアチニブ投与による唾液および唾液腺中 IgA の変動について評価した。その結果、唾液中 IgA については、分泌濃度および速度の双方で増加することが示された。一方で、唾液腺中の IgA

は単回投与において増加し、その後は減少を示した。IgA 分泌の促進は唾液において顕著であり、腸管と同様に唾液中 IgA はアフチニブ連日投与により増加することが確認された。以上から、(1)の検討にて観察された腸管 IgA 発現の挙動は、DEFA5 と一致しなかったが、腸管 IgA の変動が唾液中の IgA に反映される可能性が示された。以上から、腸管免疫を唾液成分によって予測が可能であることが示された。

#### (4) 分子標的薬による DEFA5 の減少に対する食品成分の回復効果

アフチニブによる DEFA5 低下に対する 6 種の食品成分 (GABA、DHA、パルミトレイン酸、エピガロカテキンガレート、エクオール) の効果を検証した。食品成分の濃度は一日許容摂取量を腸液換算して算出し、細胞生存率への影響を考慮して設定した。その結果、各食品成分は、細胞生存率に影響を与えず、DEFA5 タンパク質発現を増加させることが確認された。

また、アフチニブとの併用曝露による影響を確認するため、DEFA5 の発現を指標に食薬間相互作用を検討した。その結果、GABA を除き、DEFA5 タンパク質発現の有意な回復が確認された。食品成分単独曝露で DEFA5 の増加がみられたものであっても、アフチニブとの併用では増加あるいは回復を誘導しない食品成分が存在することが確認され、DEFA5 を介した食薬間相互作用の重要性が示された。

次に、アフチニブによる DEFA5 の低下に対して回復効果が大きかったエクオールを用いて、ラット腸管における効果を検証した。その結果、アフチニブによる DEFA5 mRNA 発現量の減少をエクオールが回復することが示された。また、Pigr mRNA 発現量の減少に対しても、エクオールの併用が効果を持つことが確認された。

今後、食品成分を追加して分子標的薬による免疫低下に対する効果を検証するとともに、唾液を用いて効果を簡便に測定できる方法を構築することを目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Uemura Ippei, Takahashi-Suzuki Natsuko, Kita Fumiya, Kobayashi Masaki, Yamada Takehiro, Iseki Ken, Satoh Takashi	4. 巻 47
2. 論文標題 Regulation of Chloride Channels by Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor-Induced -Defensin 5	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 159 ~ 165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b23-00672	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 植村逸平, 高川理来, 渡辺一弘, 井関健, 佐藤隆司, 星幸子, 鈴木夏子
2. 発表標題 シーベリーエキスによる消化管を中心とした全身免疫への影響評価
3. 学会等名 第29回日本未病学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 -Defensin 5を介したEGFR-TKIによるクロライドイオンチャネルの制御
2. 発表標題 植村逸平, 北郁弥, 井関健, 佐藤隆司, 鈴木夏子
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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