

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590939

研究課題名(和文)紫外線による大腸がん制御に関する研究

研究課題名(英文)Study for anti-cancer effect of ultraviolet-C on colon cancer

研究代表者

足立 政治 (ADACHI, Seiji)

岐阜大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤講師

研究者番号：50467205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：大腸がんの早期発見による死亡率減少が期待されているが、我々は今までに短波長紫外線(UV-C)が、大腸がん予防に有用である知見を得ている。今回、プラチナ製剤とUV-Cを併用することで細胞増殖抑制効果およびRTKの脱感作作用の増強すること(Kawaguchi J, Mol Cancer 2012)、膵がん細胞においてUV-Cが膵がん細胞遊走能を抑制し、細胞周期抑制を導くこと(Kawaguchi J, Oncol Rep 2012)、さらにarseniteが膵がん細胞遊走能および細胞周期抑制を導くことを見出した(Horibe Y, Oncol Lett in press)。

研究成果の概要(英文)：Because most colorectal cancers (CRC) evolve from colorectal adenomas, early detection and resection of colorectal adenoma enable us to evade the death from CRC. We have previously reported that ultraviolet-C (UV-C) induces CRC cell proliferation by desensitization of EGFR, which leads oncogenic signaling in these cells. In this study, we newly found that the combination of low dose cisplatin and low dose UV-C synergistically exerted anti-cancer effect by down-regulating RTK, such as EGFR and HER2. Moreover, we found that UVC inhibits PDGF-BB-induced migration by suppressing the Akt-GSK3 pathway in pancreatic cancer cells. In addition, we reported that arsenite inhibits PDGF-BB-induced migration by suppressing Akt pathway in pancreatic cancer cells. Hence, UV-C as well as arsenite could be a useful tool for the treatment of the patients with some types of pancreatic cancer without adverse effect on normal pancreatic cells.

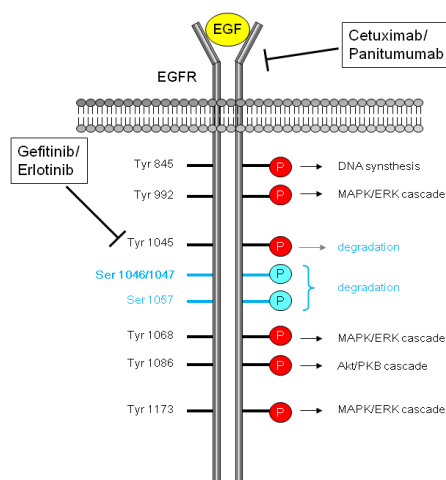
研究分野：消化器がん予防

キーワード：紫外線 大腸がん 膵がん ヒ素 細胞周期 細胞遊走能

1. 研究開始当初の背景

日本における大腸がんの発生率は食生活の欧米化により年々増加しており、男女ともにがんによる死因の上位を占めている。大腸がんを含む各種がんでは受容体型チロシンキナーゼ(RTK)の一つである上皮成長因子(EGF)受容体(EGFR)の発現異常が報告されている。一般にはEGFRはチロシン(Tyr)の自己リン酸化が契機となって細胞増殖シグナルが伝達されることが知られている(図1)。一方セリンやスレオニンのリン酸化により

図1 EGFRの主なリン酸化部位と分子標的治療薬



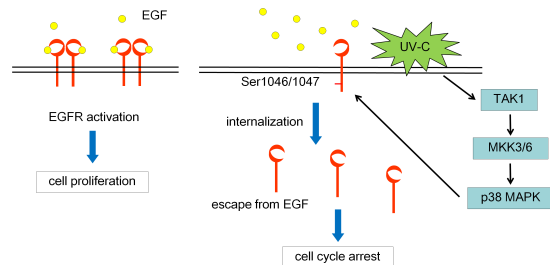
EGFRの分解(脱感作)が起こる。

最近になり我々は、(-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)により p38 MAPK を介した EGFR の 1046/1047 番目のセリン残基のリン酸化が起き、EGFR は細胞膜から細胞質内に internalization (内在化) を起こす、つまり脱感作されることを見出した(図1)。さらに、heat shock protein (HSP)90 阻害剤や anisomycin も同様の機序により EGFR の脱感作を引き起こすことを見出している。つまり、これらは p38 MAPK の活性化あるいは EGFR のセリン 1046/1047 のリン酸化が、広く EGFR の脱感作に重要であることを示唆するものである。

一方、日光に含まれる短波長紫外線

(UV-C)は一般には DNA 障害を起こすことから皮膚がんの原因物質であるとされているが、一方では強い殺菌作用を有することから、がん治療に応用する試みも散見される。しかしその殺菌作用は DNA 障害に伴うものと考えられてきた。今までに我々は DNA 障害とは独立して、UV-C が p38 MAPK の活性化を介した EGFR のセリン残基のリン酸化による EGFR の脱感作により、EGF からの刺激を回避させる働きを有することも見出している(図2)。

図2 UV-Cによる抗がん作用のメカニズム



2. 研究の目的

UV-C は新規抗がん剤としての可能性を有すると思われ、抗がん作用の詳細なメカニズムを解析し、さらにマウスモデルでの実証を行うとともに、最終的にはヒト大腸がん臨床応用を行いたいと考えた。

3. 研究の方法

(1) ヒト大腸がん細胞株における UV-C の脂質ラフトへの影響と抗がん効果発揮に至る経緯に関する検討

我々は今までに緑茶カテキンの一つである EGCG の持つ抗がん作用メカニズムの解析を行い、EGCG が EGFR の活性化の場である脂質ラフトの面積を減少させることを報告した (Adachi S et al., *Cancer Res* 2007)。脂質ラフトは様々な RTK の活性化の場であるとされており、UV-C はこの脂質ラフトに何らかの影響を与えていると考えている。そ

ここで DiIC₁₆-Triton-X (TX)100 solubility assay による脂質ラフトの可視化を行い、高性能蛍光顕微鏡を用いて UV-C による影響を検討する。

(2) ヒト大腸がん移植実験モデルにおける UV-C 照射の有効性についての検討

我々は SW480 を含む 4 種類の大腸がん細胞株において、UV-C が膜表面の EGFR を内在化させ脱感作させること、さらに細胞増殖抑制およびアポトーシス誘導効果を引き起こすことを報告してきた (Adachi S et al., *J Biol Chem* 2011)。これらの現象が *in vivo* でも起こるのかを検討するため、SW480 を移植したヌードマウスモデルを用い、UV-C の大腸がん細胞増殖抑制効果を EGFR の局在の観点から検討する。UV-C 照射は UVC 500 UV Crosslinker (GE Healthcare)を用いて皮膚切開したヌードマウスの腫瘍に直接照射する。(担当：足立)

(3) UV-C 照射を経内視鏡的アプローチで可能とするデバイスの開発

国内の内視鏡処置器具メーカー数社と共同研究により、臨床の現場で利用可能なデバイスの開発を行う。

(4) ヒト血液への UV-C 照射によるがんの転移抑制の有効性の検討

大腸がんでは浸潤転移の有無が生命予後を決定する重要な因子であることから、血液中に浮遊するがん細胞に対し、UV-C 照射を行うことで、大腸発癌モデルマウスの転移抑制・生命予後延長効果があるかを検討する。

健常マウスの血液への UV-C 照射実験

健常なマウスに対して、UV-C 照射の安全性(有害事象、副作用)について検討する。

マウス大腸発癌モデルの血液に対する UV-C 照射実験

大腸発癌モデルとして DSS/AOM 投与による腸炎由来大腸発癌モデル、遺伝子背景 (*Apc*^{Min/+}マウス使用)に基づいた腸管発癌モデルを用いて発がん抑制実験を行う。

4. 研究成果

大腸がん治療の標準的薬物であるプラチナ製剤と UV-C を併用することで細胞増殖抑制効果および EGFR, HER2 を含む RTK の脱感作作用の増強がみられることが分かった(9)。また膵がん細胞において UV-C が膵がん細胞遊走能を抑制させ、細胞周期関連タンパクの抑制を導くことを見出した(8)。さらに arsenite が膵がん細胞遊走能および細胞周期関連タンパクの抑制を導くことを見出し、論文報告した(7)。

また内視鏡治療に関する臨床論文を発表した(1~6, 10~12)。

以上から UV-C による抗がん作用のメカニズムの解析は一層進んだが、臨床応用にはさまざまな課題が残されていると考える。今後も *in vivo* での UV-C の抗がん作用メカニズムの解析を継続したいと考えている。

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 12 件)

1. Horibe Y, Adachi S, Yasuda I, Yamauchi T, Kawaguchi J, Saito K, Shimizu M and Moriwaki H. Anti-cancer effect of arsenite on cell migration, cell cycle and apoptosis in human pancreatic cancer cells. ***Oncol Lett*** *in press* (査読有)
2. Goto N, Tsurumi H, Takami T, Futamura M, Morimitsu K, Takata K,

- Sato Y, Yoshino T, Adachi S, Saito K, Yamakawa M. Cytokeratin-positive Fibroblastic Reticular Cell Tumor With Follicular Dendritic Cell Features: A Case Report and Review of the Literature. *Am J Surg Pathol*. 2015;39::573-80. (査読有)
3. Adachi S, Okuno M, Horibe Y, Ono T, Goto N, Nakamura N, Iwama M, Yamauchi O, Saito K. Stenosis in small intestine late after cardiopulmonary arrest. *Shokakibyō Gakkai Zasshi* 2014;111:2319-25 (査読有)
 4. Mabuchi M, Iwashita T, Yasuda I, Okuno M, Uemura S, Nakashima M, Doi S, Adachi S, Shimizu M, Mukai T, Tomita E, Moriwaki H. Endoscopic Papillary Large Balloon Dilation as a Salvage Procedure for Basket Impaction During Retrieval of Common Bile Duct Stones. *Dig Dis Sci*. 2014;59:220-3.(査読有)
 5. Okuno M, Iwashita T, Yasuda I, Mabuchi M, Uemura S, Nakashima M, Doi S, Adachi S, Mukai T, Moriwaki H. Percutaneous transgallbladder rendezvous for enteroscopic management of choledocholithiasis in patients with surgically altered anatomy. *Scand J Gastroenterol*. 2013;48:974-8. (査読有)
 6. Okuno M, Adachi S, Nakamura N, Yamauchi O, Saito K, Hirose Y, Ibuka T, Yasuda I, Moriwaki H. A case of advanced gastric cancer with liver abscesses. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*. 2013;110:869-74. (査読有)
 7. Doi S, Yasuda I, Mukai T, Iwashita T, Uemura S, Yamauchi T, Nakashima M, Adachi S, Shimizu M, Tomita E, Itoi T, Moriwaki H. Comparison of long-term outcomes after endoscopic sphincterotomy versus endoscopic papillary balloon dilation: a propensity score-based cohort analysis. *J Gastroenterol*. 2013;48:1090-6. (査読有)
 8. Iwashita T, Yasuda I, Uemura S, Doi S, Yamauchi T, Kawaguchi J, Toda K, Adachi S, Moriwaki H. Infected mediastinal cyst following endoscopic ultrasonography -guided fine-needle aspiration with rupture into the esophagus. *Dig Endosc*. 2012;24:386. (査読有)
 9. Kawaguchi J, Adachi S, Yasuda I, Yamauchi T, Nakashima M, Ohno T, Shimizu M, Yoshioka T, Itani M, Kozawa O, Moriwaki H. Cisplatin and ultra-violet-C synergistically down-regulate receptor tyrosine kinases in human colorectal cancer cells. *Mol Cancer*. 2012;12:45. (査読有)
 10. Kawaguchi J, Adachi S, Yasuda I, Yamauchi T, Yoshioka T, Itani M, Kozawa O, Moriwaki H. UVC irradiation suppresses platelet-derived growth factor-BB-induced migration in human pancreatic cancer cells. *Oncol Rep* 2012;27:935-9. (査読有)
 11. Iwashita T, Yasuda I, Doi S, Ando N, Nakashima M, Adachi S, Hirose Y, Mukai T, Iwata K, Tomita E, Itoi T, Moriwaki H. Use of Samples from Endoscopic,

Ultrasound-Guided, 19-Gauge,
Fine-Needle Aspiration in Diagnosis of
Autoimmune Pancreatitis. *Clin
Gastroenterol Hepatol.* 2012;10:316-22.
(査読有)

12. Yasuda I, Goto N, Tsurumi H, Nakashima M, Doi S, Iwashita T, Kanemura N, Kasahara S, Adachi S, Hara T, Shimizu M, Takami T, Moriwaki H. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy for diagnosis of lymphoproliferative disorders: Feasibility of immunohistological, flow cytometric, and cytogenetic assessments. *Am J Gastroenterol* 2012;107:397-404. (査読有)

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 第 45 回日本膵臓学会総会 2014 年 7 月 11 日～12 日 北九州国際会議場(福岡県・北九州市)
膵がん治療における紫外線療法の有用性について
足立政治、安田一朗、河口順二、山内貴裕、中島賢憲、齋藤公志郎、森脇久隆
2. 第 99 回日本消化器病学会総会 2013 年 3 月 21 日 城山観光ホテル(鹿児島県・鹿児島市)
膵がん細胞に対する亜ヒ酸による抗腫瘍効果について
山内貴裕、足立政治、安田一朗、河口順二、森脇久隆
3. JDDW2012 (第 54 回日本消化器病学会大会)2012 年 10 月 10 日 神戸国際展示場(兵庫県・神戸市)
膵がん治療における gemcitabine と紫外線(UV-C)の併用効果について
足立政治、安田一朗、河口順二、山内貴

- 裕, 中島賢憲, 齋藤公志郎, 森脇久隆
4. 第 98 回日本消化器病学会総会 2012 年 4 月 19 日 京王プラザホテル(東京都・新宿区)
短波長紫外線(UV-C)照射による大腸がん制御機構について
足立政治、安田一朗、中島賢憲、山内貴裕、河口順二、小澤修、森脇久隆
5. 第 98 回日本消化器病学会総会 2012 年 4 月 19 日 京王プラザホテル(東京都・新宿区)
膵がん細胞に対する短波長紫外線(UV-C)とジェムシタピン併用による腫瘍増殖抑制およびアポトーシス誘導効果
山内貴裕、足立政治、安田一朗、河口順二、中島賢憲、小澤修、森脇久隆
6. 第 98 回日本消化器病学会総会 2012 年 4 月 19 日 京王プラザホテル(東京都・新宿区)
大腸がん細胞に対する短波長紫外線(UV-C)と低用量 cisplatin の併用効果
河口順二、足立政治、安田一朗、山内貴裕、中島賢憲、小澤修、森脇久隆
7. DDW 2012 San Diego (米国) 2012 年 5 月 13 日
Cisplatin and ultra-violet-C synergistically down-regulate receptor tyrosine kinases in human colon cancer cells
Kawaguchi J, Adachi S, Yasuda I, Yamauchi T, Nakashima M, Ohno T, Shimizu M, Moriwaki H.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

足立 政治 (ADACHI, Seiji)

岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：50467205

(2)研究分担者

安田 一郎 (YASUDA, Ichiro)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：00377673