

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861383

研究課題名(和文) グルコシルセラミドの腫瘍増殖抑制効果

研究課題名(英文) Inhibitory effects of dietary glucosylceramides in squamous cell carcinoma

研究代表者

矢間 敬章 (Yazama, Hiroaki)

鳥取大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30444631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：細胞膜に多く存在するスフィンゴ脂質から代謝されるセラミドを用いて、頭頸部癌に対する抗腫瘍効果を検討した。ヒト舌癌細胞異種移植モデルマウスを作成し、グルコシルセラミドを経口摂取させたところ、腫瘍発育の抑制効果を確認した。そのメカニズムとして、血管新生を促すVEGFやVEGFレセプター、HIF1- α のシグナル発現の抑制が影響している可能性を示唆した。その他癌浸潤・転移および癌新生におけるセラミドの抗腫瘍効果についても検討を進めている。

研究成果の概要(英文)：We found that dietary glucosylceramides isolated from rice bran (Glu-Cer), known as a health food, had anti-tumor activity in HNSCC xenograft model, and extended mouse survival time in comparison with vehicle control. Then, we found that oral administration of Glu-Cer inhibited angiogenesis and significantly decreased SCCKN growth in the xenograft model. In tumor-invaded areas, VEGF and HIF-1 α in tumor cells, as well as VEGF receptor-2 in endothelial cells decreased after treatment. Dietary Glu-Cer increased serum levels of sphingosine-based ceramides compared to the control. In SCCKN and UV-22 cells, C6-ceramide suppressed the expressions of pro-angiogenic signals in vitro. These results might suggest that sphingosine-based ceramide suppresses the growth of head and neck tumors due to the inhibition of pro-angiogenic signals. And we have already started to examine some mechanisms about tumor invasion and metastasis.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：頭頸部癌 抗腫瘍効果 セラミド

1. 研究開始当初の背景

悪性新生物に対する治療の研究は、様々なものが検討されている。そのうち抗癌剤治療はひとつの有効な治療手段である。抗癌剤の殺細胞効果は、癌細胞のアポトーシス誘導によることが知られている。近年、様々なストレスによるアポトーシスのシグナル伝達機構の解析によって、スフィンゴ脂質・セラミドの細胞内アポトーシス誘導メディエーターとしての役割が認識されてきている。セラミドは、グリコシルセラミド合成酵素やスフィンゴミエリン合成酵素などの酵素により調節されている。しかし、抗癌剤を使用する際の問題のひとつに、連用による癌細胞の耐性化がある。抗癌剤に対する耐性機構は、セラミド代謝機構の中でセラミド量が抑制される場合に成立すると考えられている。たとえば、抗癌剤を用いてヒト白血病細胞 HL-60 細胞にアポトーシスを誘導すると細胞内セラミド量の増加が見られるが、多剤耐性化した HL-60 細胞では、逆にセラミドが低下していたという結果が報告されている。そのため、セラミド代謝酵素群の制御を介して細胞内のセラミド量を増強させることが、癌における抗癌剤耐性克服への新たな分子標的治療に活路を開くものとして期待されている。現在のところ、MS123 およびグルコシルセラミドなどセラミドを誘導する薬剤が開発され研究が進んでいる。また、白血病細胞以外に大腸癌細胞においてもセラミドによるアポトーシス誘導が抗腫瘍効果を示していることが報告されてきている。我々は頭頸部扁平上皮癌のモデルマウスを作成し、腫瘍抑制効果について検討を重ねてきた。そして、グルコシルセラミドが頭頸部扁平上皮癌細胞において腫瘍増殖抑制効果を示す可能性を実証し、共同研究者の藤原らが 2010 年に論文報告した。そこで、セラミドがどのようなメカニズムで腫瘍抑制効果を生じるのかを解明することが、今後の課題である。

使用するグルコシルセラミドは、穀物をはじめとする食物に含まれる構成要素であり、これを使用した研究では有害事象は報告されておらず、安全でかつ長期間使用し続けることが可能な薬剤となりうる可能性が示唆される。すでに申請者らもマウスにおいてグルコシルセラミドの毒性試験を終了し、安全性に問題がないことが判明している。もしグルコシルセラミドが抗腫瘍効果を持ち、実用化されるのであれば、副作用の懸念も同時に払拭されうる。

2. 研究の目的

経口摂取したグルコシルセラミドが抗腫瘍効果を持つためには、グルコシルセラミドが消化管より消化吸収され、セラミドとして機能することが必要になる。現在消化にてスフィンゴシンとして吸収される可能性も考えられており、それが実際のセラミドとして再合成されて作用するのかは現在不明である。またセラミド自体が腸管免疫を刺激することで免疫賦活が起こり、抗腫瘍効果をもたらすことも考えられる。

申請者らは米糠よりグルコシルセラミドを高純度化して抽出することに成功しており、これをセルロースに溶解してマウスに経口摂取させることで、血中グルコシルセラミド濃度が上昇することを確認している。引き続いてグルコシルセラミドの薬物動態や代謝経路、作用機序などの分子メカニズムに関する検証が必要である。また、抗腫瘍効果のひとつとして、癌細胞の増殖に必須である血管新生誘導についての影響や、血管誘導に関連するシグナルやレセプターの動向を調べ、多角的な癌抑制効果の可能性について検討する。

3. 研究の方法

頭頸部癌に対しての抗腫瘍効果を検討するために、免疫不全の特徴を持つ NOD/SCID

マウスを使用したヒト舌癌細胞 (SCCKN 株) の異種移植モデルを作成し、グルコシルセラミド投与の有無が腫瘍発育のサイズに影響するかどうかを観察した。また、形成された腫瘍を摘出し、その組織標本から血管新生の状態や血管誘導に関係するシグナルおよびレセプターの発現状況を免疫染色で評価した。血管誘導のシグナルおよびレセプターについては Western blot 法にて定量も行った。その他、移植モデルマウスから採血した血漿を質量分析器にかけ、スフィンゴ脂質の血中濃度を測定した。

4. 研究成果

グルコシルセラミド投薬中は腫瘍発育が抑制された。投薬終了後さらに 14 日間経過観察したモデルマウスは腫瘍が退縮せず、やや増大傾向を見せた。腫瘍組織免疫染色において、コントロール群では腫瘍内への血管侵入が見られたが、グルコシルセラミド投与群の血管新生は抑制されていた。また血管内皮増殖因子・血管内皮増殖因子受容体-2・低酸素誘導因子-1 の蛋白発現もグルコシルセラミド投与群で抑制されていた。グルコシルセラミド投与群で、血液中には食物由来のセラミド分画は増加しておらず、生合成されたセラミド分画のみ有意に増加が見られた。*in vitro* では C6-セラミドにより、SCCKN 細胞と血管内皮細胞双方に血管内皮増殖因子・血管内皮増殖因子受容体-2・低酸素誘導因子-1 の発現抑制効果を示した。このような結果から、経口摂取したグルコシルセラミドが直接腫瘍増殖を抑制するのではなく、一度消化吸収された後に生体内でセラミドが再合成され、腫瘍の血管形成を促すシグナルを抑制し、腫瘍増殖を阻害している可能性があると考えられた。

今回明らかにした結果から、グルコシルセラミドによる頭頸部癌増殖制御機構を明

らかにしただけでなく、これまで不明であったグルコシルセラミドの代謝吸収過程の一端を明らかにしており、腫瘍学および臨床薬理学分野において明らかに学術水準を高めたものと思われる。

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 1 件)

Hiroaki Yazama, Kazuyuki Kitatani, Kazunori Fujiwara, Misaki Kato, Mayumi Hashimoto-Nishimura, Katsuyuki Kawamoto, Kensaku Hasegawa, Hiroya Kitano, Alicja Bielawska, Jacek Bielawski, Okazaki Toshiro. Dietary glucosylceramides suppress tumor growth in a mouse xenograft model of head and neck squamous cell carcinoma by the inhibition of angiogenesis through an increase in ceramide. *Int J Clin Oncol.* , 2015 Jun; 20(3): 438-46. doi: 10.1007/s10147-014-0734-y. 査読あり。

[学会発表](計 4 件)

矢間敬章、藤原和典、北野博也、岡崎俊朗、竹内裕美：米糠由来グルコシルセラミドの抗腫瘍効果。第 117 回日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会、2016 年 5 月 18 日～21 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

Hiroaki Yazama, Kazunori Fujiwara, Toshiro Okazaki, Hiroya Kitano. Inhibitory effects of dietary glucosylceramides in squamous cell carcinoma. BIT 's 8th Annual World CANCER CONGRESS-2015, 5/14 ~ 5/17, 2015. Beijing International Convention Center (Beijing, China)

矢間敬章、藤原和典、北野博也、岡崎俊朗：米糠由来グルコシルセラミドの抗腫瘍効果。セラミド研究会、2014 年 10 月 30 日～31 日、

東京ユビキタス協創広場 CANVAS(東京都中央区)

矢間敬章、藤原和典、北野博也、岡崎俊朗：
ヒト舌癌移植モデルマウスにおける米糠由来グルコシルセラミドの血管新生抑制効果。
STC 研究会、2014 年 7 月 18 日～19 日、山中温泉河鹿荘ロイヤルホテル(石川県加賀市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

矢間 敬章 (YAZAMA, Hiroaki)

鳥取大学・医学部感覚運動医学講座・耳鼻

咽喉頭頸部外科学分野・特任助教

研究者番号：30444631