

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 7日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380083

研究課題名（和文） ビタミンB6の抗腫瘍作用に関する基盤研究

研究課題名（英文） Study on the antitumor effect of vitamin B6

研究代表者

加藤 範久（KATO NORIHISA）

広島大学・大学院生物圏科学研究科・教授

研究者番号：20144892

研究成果の概要（和文）：

ビタミンB6の抗腫瘍作用が他の臓器と比べて何故に大腸において顕著に現れるのか検討した結果、ビタミンB6摂取量に対する大腸のB6代謝物濃度の感受性が特に高いことで説明できることを示した。さらに、ビタミンB6に応答する遺伝子を動物や細胞レベルの実験で解析した。その結果、マスト細胞や細胞傷害性T-細胞に関連する遺伝子群の発現変動や細胞保護作用に関連する遺伝子群の発現変動を見出し、これらが抗腫瘍作用につながることを示唆した。

研究成果の概要（英文）：

This study was performed to examine why the anti-tumor effect of vitamin B6 is profound in the colon. This reason was explained by indicating the higher sensitivity of colon levels of B6-vitimers to dietary supplemental vitamin B6. Further study with animals and colon cancer cells was conducted to examine the gene expression in response to vitamin B6. The results indicated the vitamin B6 altered the expression of genes relating to mast cells and cytotoxic T-cell activity and cytoprotection, which may lead to the anti-tumor effect.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2011年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
年度			
総計	8,100,000	2,430,000	10,530,000

研究分野：栄養生化学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：ビタミンB6，抗腫瘍作用，遺伝子発現，オートファジー，炎症，大腸

1. 研究開始当初の背景

2001年に我々のグループがビタミンB6の大

腸腫瘍の発現抑制作用を発見して以来、多くの疫学的研究が行われた。そこで明らかにな

ってきたことは、ビタミン B6 の抗腫瘍作用は大腸で顕著に現れるということであった。さらに、これまで我々はビタミン B6 の抗腫瘍作用の機構として、細胞増殖や炎症、血管新生の抑制などを明らかにしてきたが、その分子機構の詳細については不明であった。

2. 研究の目的

本研究の主な目的は、何故にビタミン B6 の抗腫瘍作用が大腸に特異的に現れるのか明らかにするとともに、その抗腫瘍作用の分子機構を解明することである。さらに、ビタミン B6 の抗腫瘍作用が胃についても見られるのか予備的に検討を行った。

3. 研究の方法

(1) ビタミン B6 添加食をマウスへ摂取させ、大腸を含む様々な組織のビタミン B6 代謝物を網羅的に調べた。

(2) さらに、食餌ビタミン B6 に応答するがん関連因子についてラットやマウスの大腸におけるタンパク質発現や遺伝子発現を調べた。さらに、結腸がん細胞 HT29、及び Caco2 細胞株でもビタミン B6 添加の影響を調べた。

(3) 発がんの分子標的とされているオートファジーに対するビタミン B6 の効果について、肝がん細胞 H4-II-E 細胞や結腸がん細胞 HT29 などを用いて、オートファジーを誘発する飢餓条件下で、様々なオートファジー関連因子を解析した。

(4) 胃がんについては、胃がんの発現に対するビタミン B6 摂取の効果についても MNNG 胃がん誘発モデルラットを用いて短期の予備試験を行った。

4. 研究成果

(1) ビタミン B6 の抗腫瘍作用が大腸にて顕著であることの原因を探るために、大腸を含む多

くの臓器の B6 代謝物の測定を行い、臓器間での比較を行った。その結果、食餌 B6 摂取に対する臓器 PLP 濃度の応答が特に顕著であったのは、小腸や大腸、脂肪組織であった。このことは、他の臓器と比べて大腸癌に対するビタミン B6 摂取の影響が大きい理由を説明している。

(2) ビタミン B6 摂取により大腸粘膜のダメージと細胞増殖が抑制されることを予備的に見出していたので、その保護効果を探るため様々な Heat Shock Proteins (HSPs) の発現を調べた。その結果、当初の予想とは異なり、ビタミン B6 摂取により大腸の HSP70、及び HO-1 (HSP32) のタンパク質発現が顕著に減少していることが見出された。この減少の機構を解析するため mRNA 発現も調べたが、いずれも減少は見られず遺伝子発現では説明できなかった。さらに、ビタミン B6 摂取の大腸遺伝子発現の応答について解析を行った。その結果、マスト細胞や細胞傷害性 T-細胞の活性化に関連する遺伝子 CD8D や CCL8 の発現がビタミン B6 摂取によって抑制されることが示された。この結果は、ビタミン B6 がマスト細胞や細胞傷害性 T-細胞の活性化の抑制を介して炎症を抑制し、保護効果や発がんを抑制する可能性を示している。さらに、結腸がん細胞を用いた実験により、がん関連遺伝子を探索したところ、ビタミン B6 により発現が高まる因子として、CSTA, DDIT3, p21, GADD45B, 及び VDR が見出され、発現が抑制される遺伝子として NOX1 が見出された。これらの応答は、いずれも細胞保護効果をもたらすと同時に、抗腫瘍効果にも関連すると思われる。

(3) ビタミン B6 のオートファジー抑制作用の分子機構を解析した結果、この機構に Beclin1 のタンパク質発現の低下が関与していることを示した。さらに、関連する様々な遺伝子発現を調べた結果、BECN1 (Beclin1) と

もに、ライソゾーム(LYST, 及び MYO7A), 尿素回路関連の遺伝子(ARG1, 及び CPS1)の発現も低下していることを見出した。このことは、ビタミン B6 がオートファジーを含むタンパク質分解系全体を調節していることを示唆している。

(4)胃がんの発現に対するビタミン B6 摂取の効果についてもMNNG 胃がん誘発モデルラットを用いて短期の予備試験を行った。その結果、胃粘膜細胞の増殖を指標としてビタミン B6 摂取の効果を調べたところ、予想どおり、減少していたが、効果は僅かであった。

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 5 件)

1. Toya Keigo, Hirata Atsuko, Ohata Tomomi, Sanada Yohei, Kato Norihisa, Yanaka Noriyuki. Regulation of colon gene expression by vitamin B6 supplementation. *Mol. Nutr. Food Res.* (査読有) 56, 2012, pp641-652. DOI: 10.1002/mnfr.201100707
2. Noriyuki Yanaka, Tomomi Ohata, Keigo Toya, Mayumi Kanda, Atsuko Hirata, Norihisa Kato. Vitamin B6 suppresses serine protease inhibitor 3 expression in the colon of rats and in TNF- α -stimulated HT-29 cells. *Mol. Nutr. Food Res.* (査読有) 55, 2011, pp635-645. DOI: 10.1002/mnfr.201000282
3. Kayashima Tomoko, Tanaka Kenta, Okazaki Yukako, Matsubara Kiminori, Yanaka Noriyuki, Kato Norihisa. Consumption of vitamin B6 reduces colonic damage and protein expression of HSP70

and HO-1 in rats exposed to 1,2-dimethylhydrazine. *Oncol. Lett.* (査読有) 2, 2011, pp1243-1246. DOI: 10.3892/ol.2011.370

4. Yanaka Noriyuki, Kanda Mayumi, Toya Keigo, Suehiro Haruna, Kato Norihisa. Vitamin B6 regulates mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptor- γ target genes. *Exp. Ther. Med.* (査読有) 2, 2011, pp419-424. DOI: 10.3892/etm.2011.238
5. 加藤範久, ビタミン B6 のがん予防研究の新展開. *ビタミン* (査読有) 84, 2010, pp17-19. URL: <http://web.kyoto-inet.or.jp/people/vsojkn/journal/index.html>

[学会発表] (計 12 件)

1. Matsubara Kiminori, Kato Norihisa, Inhibitory effect of vitamin B6, pyridoxal 5'-phosphate on lymphangiogenesis. Advances and Controversies in B-Vitamins and Choline, 2012年3月6日, Leipzig, Germany
2. Sofya Suidasari, Okazaki Yukako, Zaki Utama, Zhang Peipei, Ohsaki Aimi, Yanaka Noriyuki, Tomotake Hiroyuki, Kato Norihisa, Effect of dietary vitamin B6 on colonic luminal environment in rats. 2011 International Conference on Food Factors, 2011年11月21日, Taipei, Taiwan
3. Kato Norihisa, Molecular mechanisms of anti-tumor effect of vitamin B6. 2011 International Conference on Food Factors, 2011年11月20日, Taipei, tqiwan
4. ソフィア スイダサリ, カボ マシシ, 矢中規之, 加藤範久, ビタミンB6摂取に対する組織 PLP, 及び S1P 濃度の応答. 第 43 回日本栄養・食糧学会 中四国支部大会,

- 2011年11月7日, 高知
5. 加藤範久, ビタミン B6 による遺伝子発現変動の解析. 第426回ビタミンB研究協議会, 2011年11月5日, 大津
 6. Kato Norihisa, Anti-tumor Effect of Dietary vitamin B6 and its mechanisms. International Conference on Cofactors 03, 2011年7月14日, Turku, Finland
 7. Okazaki Yukako, Zaki Utama, Sofya Suidasari, Zhang Peipei, Ohsaki Aimi, Yanaka Noriyuki, Tomotake Hiroyuki, Sakaguchi Ei, Kato Norihisa, Consumption of vitamin B6 modulates colonic luminal environment in rats fed a high-fat diet. International Conference on Cofactors 03, 2011年7月13日, Turku, Finland
 8. 加藤範久, ビタミン B6 摂取に応答する大腸遺伝子発現のDNA microarray解析. 第424回ビタミンB研究協議会, 2011年6月3日, 広島
 9. Masisi Kabo, Sofya Suidasari, 矢中規之, 加藤範久, ビタミン B6 摂取量に対するマウス各臓器B6代謝物の応答の比較. 日本栄養・食糧学会大会, 2011年5月14日, 東京
 10. 真田洋平, 矢中規之, 末廣春奈, 久本高央, 平田敦子, 西村英紀, 加藤範久, Vitamin B6 の摂取が脂肪組織の遺伝子発現に及ぼす影響. 2011年度日本農芸化学会大会, 2011年3月27日, 京都
 11. 平田敦子, 真田洋平, 末廣春奈, 大畑智美, 矢中規之, 加藤範久, azoxymethane 誘発大腸腫瘍モデルマウスの初期病変に関わる新規標的因子の同定, および抗癌活性を有する vitamin B6 の予防効果に関する解析. 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会合同大会, 2010年12月10日, 神戸

12. 大畑智美, 矢中規之, 平田敦子, 真田洋平, 末廣春奈, 鳥家圭伍, 加藤範久, ビタミン B6 摂取による大腸における遺伝子発現調節作用. 2010年度日本農芸化学会大会, 2010年3月29日, 東京

[図書] (計2件)

1. Kato Norihisa, Wageningen Academic Publishers, Role of vitamin B6 in skin health and diseases. Chapter 4, Handbook of diet, nutrition and the skin. ed. by Victor R. Reedy, 2012, pp59-66.
2. 加藤範久, 朝倉書店. II. 3. ビタミン B6. 新しい機能-疾病との関係. ビタミン総合事典. ビタミン学会編集. 2010, pp235-237.

[その他]

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/nutri/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 範久 (KATO NORIHISA)
 広島大学・大学院生物圏科学研究科・教授
 研究者番号: 20144892

(2) 研究分担者

矢中 規之 (YANAKA NORIYUKI)
 広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授
 研究者番号: 70346526

松原 主典 (MATSUBARA KIMINORI)
 広島大学・教育学研究科・准教授
 研究者番号: 90254565

(3) 連携研究者

()

研究者番号: