

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09537

研究課題名(和文)ワサビ由来天然化合物6-MITCの子宮体癌に対する抗腫瘍作用の研究

研究課題名(英文) Research of antitumor effects of 6-MITC, a natural compound derived from wasabi, on endometrial cancer

研究代表者

布施谷 千穂 (Fuseya, Chiho)

信州大学・学術研究院医学系・助教

研究者番号：50447736

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)：本研究では本わさび由来の天然化合物6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (6-MITC) の子宮体がんに対する抗腫瘍効果を検討した。6-MITCは濃度依存的に子宮体がん細胞株の増殖能・細胞生存能を低下させ、アポトーシスを誘導した。一方、HUVECなどの正常細胞に対する増殖抑制効果は乏しかった。6-MITCは抗癌剤シスプラチンの効果を相乗的に増強した。子宮体がん細胞を移植したヌードマウス異種移植腫瘍での検討では、6-MITC経口投与は腫瘍の増大を有意に抑制し、アポトーシス誘導作用を示した。さらに6-MITC経口投与によりNK細胞活性の増強が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮体がん患者は急速に増加しているが、現在、薬物療法の中心である細胞障害性抗がん剤や免疫チェックポイント阻害剤などの分子標的薬は、特有で重篤な有害事象を引き起こす可能性がある。このため、副作用の少ない治療薬の開発が望まれる。今回検討している長野県の特産品であるわさび由来の6-MITCは、子宮体がんに対する副作用の少ない治療薬の候補に成り得ると考えられる。6-MITCは、これまで他癌種での抗腫瘍作用が報告されているが、NK細胞活性の増強作用は報告されておらず、本研究が初めての報告である。がん細胞への直接作用だけでなく、免疫系を介した作用も有している可能性があり、有望な新規薬剤候補になり得る。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the antitumor effects of 6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (6-MITC), a natural compound derived from Japanese horseradish, Wasabi, on endometrial cancer. 6-MITC decreased the cell proliferation and survival abilities of endometrial cancer cell lines in a concentration-dependent manner by inducing apoptosis. On the other hand, it had a limited effect on inhibiting the growth of normal cells such as HUVEC. 6-MITC synergistically enhanced the effects of the anticancer drug cisplatin. We performed studies using xenograft tumors subcutaneously implanted with endometrial cancer cells on nude mice. Oral administration of 6-MITC significantly suppressed tumor growth and induced apoptosis. Furthermore, oral administration of 6-MITC enhanced NK cell activity in nude mice.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮体がん 6-MITC イソチオシアネート ワサビ 天然化合物 アポトーシス ナチュラルキラー細胞

1. 研究開始当初の背景

我が国の子宮体癌新規罹患患者数・死亡者数は急速に増加を続けており、最近30年間で4倍以上に増加している(国立がん研究センターがん対策情報センター)。現在、子宮体癌治療に使用できる薬剤は限られており、新規薬物療法の開発は急務である。抗がん剤はもとより、近年開発が進められている分子標的薬も特有の副作用を示すものが多い。そこで古来より摂取され安全性の高いと予想される天然化合物や生薬における抗腫瘍効果が注目されている。

6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (6-MITC) は、日本原産で長野県の特産品でもある本ワサビから抽出される天然化合物であり、抗炎症作用や抗酸化作用などが報告されている。抗腫瘍作用については乳癌細胞や悪性黒色腫細胞での報告を認めるものの、子宮体癌に対する抗腫瘍効果は未だ報告されていない。一方で、類似のイソチオシアネート(ITC)である玉ねぎ由来の allyl isothiocyanate (AITC)、プロッコリー由来の 4-(methylsulfinyl) butylisothiocyanate (4-MITC) でも抗腫瘍効果が報告されており、6-MITC でもこれらの ITC 類と同等以上の抗腫瘍効果を示す可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では本ワサビ由来の 6-MITC の子宮体癌細胞への抗腫瘍作用やその作用機序を、培養細胞やマウス異種移植腫瘍を用いて検討することを目的とする。またその効果を同様の ITC 類である、AITC や 4-MITC とともに検討していく。

3. 研究の方法

1) 培養細胞を用いた検討

子宮体がん細胞株 Ishikawa、HEC265、HEC108、KLE、HEC1B と、正常細胞としてヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)、不死化子宮内膜腺上皮細胞 (EM-E6/E7/hTERT2) を用いた。薬剤としては 6-MITC、AITC、4-MITC をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して使用した。各濃度の 6-MITC などの薬剤を培養液に添加し、72 時間後の細胞増殖能・生存能を WST-1 assay で検討した。また各種タンパク発現は Western blotting で検討した。

2) マウス異種移植腫瘍を用いた検討

ヌードマウス腰部皮下の右側に Ishikawa、左側に HEC1B を移植し、異種移植腫瘍を形成させた。6-MITC を各投与スケジュール、用量で経口投与し、週 2 回の腫瘍径測定や体重測定を行った。移植 5 週後にマウスを安楽死させ、異種移植腫瘍を摘出し、腫瘍体積や重量を測定した。さらに摘出腫瘍の組織切片を作成し、免疫染色を行った。

異種移植腫瘍のホストであるヌードマウスの安楽死の際に脾臓を摘出し、NK 細胞を含む細胞分画を抽出し、NK 細胞の細胞障害能を LDH Cytotoxicity Detection Kit (Takara Bio) で測定した。マウスを用いた実験計画は、施設の動物実験委員会に承認され、法令を遵守して施行した。

4. 研究成果

1) 6-MITC の子宮体がん細胞株に対する抗腫瘍効果

全ての子宮体がん細胞株に対し、6-MITC は濃度依存性に生存細胞を減少させ、IC50 は 9.6 μM (Ishikawa) から 17.6 μM (HEC1B) を示した。一方、HUVEC や EM-E6/E7/hTERT2 に対しては、50 μM までで十分な生存細胞減少作用を示さなかった[1]。

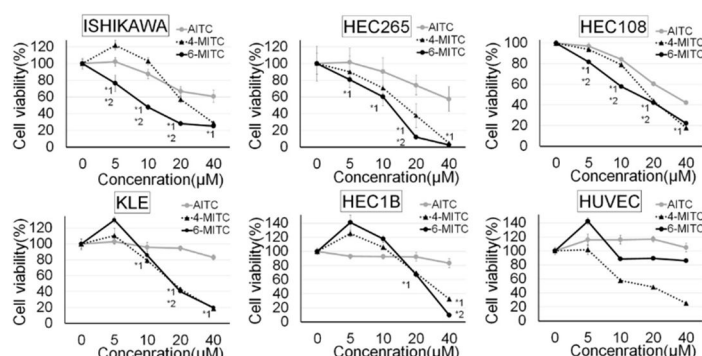


図1: 各種子宮体がん細胞およびHUVECの細胞生存能に対する各種ITCの作用。6-MITCはAITCより強く、4-MITCと同等以上に子宮体がん細胞の生存能抑制作用を示した。(参考文献[1]のFigure 1より抜粋)

1) また、4-MITC との比較においても、6-MITC は同等以上に生存細胞を減少させた[1]。

さらに抗癌剤シスプラチンとの併用においては、全ての細胞株において、単独では腫瘍障害作用をほとんど示さない濃度である 6-MITC 5 μM で、CDDP の腫瘍障害作用を、相乗的に強く増強した[1]。

6-MITC の効果のメカニズムとして、アポトーシス誘導について検討したところ、IC50 値が低い Ishikawa、HEC265、HEC108 では、6-MITC 投与により抗アポトーシス蛋白である BCL2 の発現

減少とアポトーシス蛋白である Cleaved-caspase3 (C-caspase3) 発現増強が観察され、アポトーシスが誘導されていることが示された[1](図2)。一方、IC50 値が最も高値であった HEC1B では C-caspase3 発現増強は認められなかった[1]。

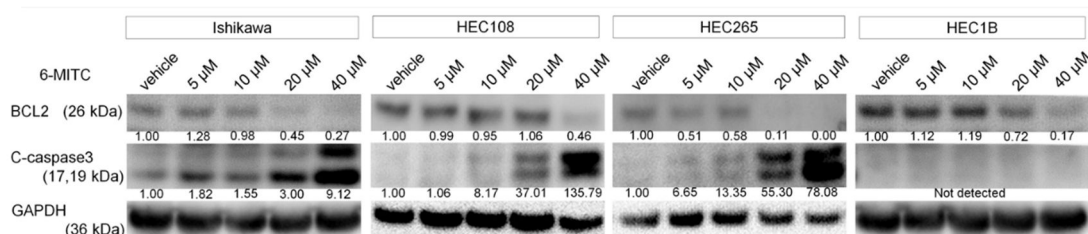


図2：各種子宮体がん細胞における抗アポトーシスタンパクBCL2とアポトーシス関連蛋白C-caspase3の発現。Ishikawa, HEC108, HEC265ではC-caspase3の発現増強からアポトーシスが誘導されているが、HEC1BではC-caspase3の発現増強が観察されず、アポトーシスが誘導されていない。(参考文献[1]のFigure 2より抜粋)

2) 異種移植腫瘍を用いた 6-MITC の抗腫瘍効果の検討

In vitro 実験で、6-MITC の IC50 値が低い Ishikawa と高い HEC1B を用いた。ヌードマウス腰部皮下の右側に Ishikawa、左側に HEC1B を移植し、溶媒のみ投与の Control 群と 6-MITC 2μmol/kg、4μmol/kg 連日経口投与群で比較検討を行ったところ、4μmol/kg 群で Control と比較して有意に両細胞由来の腫瘍増大が抑制されたこと、4μmol/kg 群で体重減少もなく、明らかな副作用が認められなかったことから、以後は 4μmol/kg を Control として用いることとした。

摘出腫瘍の免疫染色による検討では、Ishikawa、HEC1B ともに用量依存的に Ki67 陽性率の低下と C-caspase3 発現増強を認め、4μmol/kg では有意差を認めた。In vitro と異なり、HEC1B でもアポトーシスが誘導されていると考えられたことから、ヌードマウスでも存在する NK 細胞の関与の有無を検討することとした。

次に同様に Ishikawa、HEC1B を移植したマウスに、移植 4 週間前から 6-MITC 4μmol/kg を投与した Preceding 群、移植後に 6-MITC 投与を開始した Treatment 群では、どちらも Control に比較して腫瘍増大を抑制した[1](図3)。

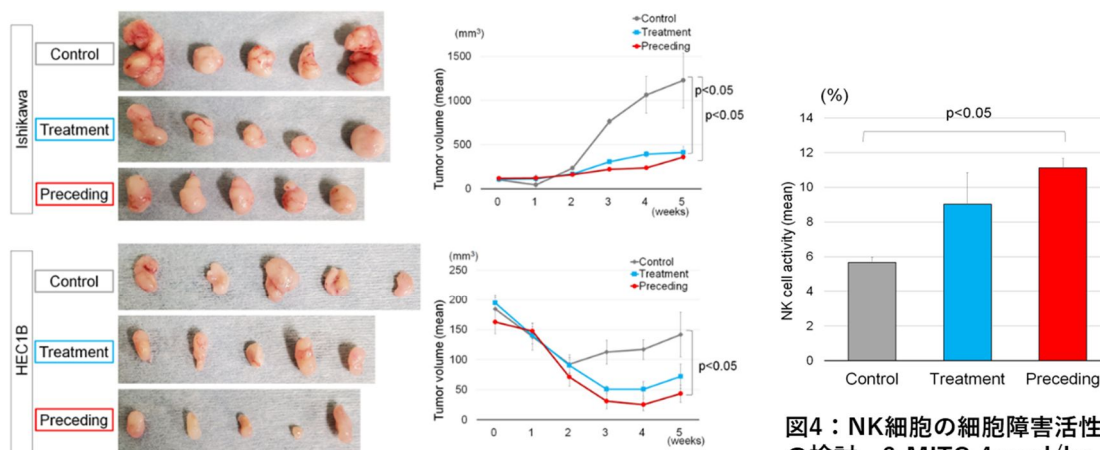


図3：マウス異種移植腫瘍に対する6-MITC 4μmol/kg連日経口投与の抗腫瘍効果の検討。癌細胞移植4週間前から投与を開始したPreceding群は移植後から投与を開始したTreatment群より腫瘍増大を強く抑制した。(参考文献[1]のFigure 4より抜粋)

図4：NK細胞の細胞障害活性の検討。6-MITC 4μmol/kg 連日経口投与はNK細胞活性を増強した。(参考文献[1]のFigure 4より抜粋)

NK 細胞の細胞障害活性は、6-MITC 経口投与により増強が観察され、特に移植 4 週間前から投与の Preceding 群では有意差が認められた[1](図4)。このことが、HEC1B の異種移植腫瘍でのアポトーシス誘導に関連している可能性が考えられた。

以上から、6-MITC は、がん細胞へのアポトーシス誘導や増殖抑制作用、NK 細胞活性増強を介し、子宮体がんに対し、抗腫瘍効果を示すと考えられた。

【参考文献】

- [1] Ono M, Miyamoto T, Fuseya C, et al. Anti-tumor effect of Wasabi component, 6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate, against endometrial carcinoma cells. *Discov Oncol.* 2023; 14: 9.

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 1件）

1. 著者名 Ono Motoki, Miyamoto Tsutomu, Fuseya Chiho, Asaka Ryoichi, Ando Hirofumi, Tanaka Yasuhiro, Shinagawa Manaka, Yokokawa Yusuke, Takeuchi Hodaka, Horiuchi Akiko, Shiozawa Tanri	4. 巻 14
2. 論文標題 Anti-tumor effect of Wasabi component, 6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate, against endometrial carcinoma cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Discover Oncology	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12672-023-00617-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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 小野 元紀, 宮本 強, 浅香 亮一, 横川 裕亮, 品川 真奈花, 田中 泰裕, 塩沢 丹里
2. 発表標題 ワサビ由来天然化合物6-MITCはNK細胞活性化を介して子宮体癌細胞の増殖を抑制する
3. 学会等名 第64回 日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小野元紀、宮本強、浅香亮一、品川真奈花、田中泰裕、竹内穂高、塩沢丹里
2. 発表標題 ワサビ由来天然化合物6-MITCは子宮内膜癌細胞異種移植腫瘍に対してNK細胞活性増強を介した抗腫瘍効果を有する
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021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
研究分担者	浅香 亮一 (Asaka Ryoichi) (00623688)	信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・助教 (13601)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	小野 元紀 (Ono Motoki) (10816432)	信州大学・医学部附属病院・助教（診療） (13601)	
研究分担者	塩沢 丹里 (Shiozawa Tanri) (20235493)	信州大学・学術研究院医学系・教授 (13601)	

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