

令和元年5月30日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09258

研究課題名(和文) 進行癌の予防と治療補完療法の研究：発症前診断法及び癌抑制機構再活性化の検討

研究課題名(英文) Study of the prevention and complementary treatment of advanced cancer:  
Examination of presymptomatic diagnosis and reactivation of cancer suppression  
mechanism

研究代表者

田中 朝雄 (TANAKA, Tomoo)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：50192175

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：1. セプチン4の血中計測による超早期発見の普及促進を目指し、2019年3月末日までにのべ1,170名の測定を実施し、検査陽性者に大腸内視鏡検査を共同研究者などに依頼し、早期大腸癌や大腸ポリープ、腺腫、カルチノイドを発見・摘出した。  
2. 中国の天然ハーブ薬、槐耳の抗癌効果が臨床研究としてテストされ、確認された。その効果は副作用も毒性もないことが証明され、その分子基盤が明確に示された。槐耳は細胞内の破壊された転写制御の救済能力を示し、その結果、転写遺伝子発現の質と量が劇的に変化した。遺伝子発現の活性化が最初に観察され、多くの伝達経路、特にNF kappa-B経路で遺伝子サイレンシングをもたらした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1. 癌の超早期発見技術、セプトフォー血中測定は、溶液を混ぜるだけで、全て自動操作で1回の測定が10秒で行われるため、非常に簡易であり、市販可能である。  
2. 槐耳による癌の代替補完療法の臨床研究でのRNAシーケンシング解析の結果、今後非常に市場が沸騰する次世代診断・検査の最先端技術を、理想に近い形で提供できる。従来の臨床検査は年間数千万件/検査以上行われているが、次世代診断・検査では多くて数万～30 数万件程度。ただし単価の相違により、市場規模は桁違いで、検査価格は、従来の臨床検査は数米ドル～数十米ドルに比し、次世代診断・検査は1,000 米ドル以上が大半で、膨大な成長が見込まれる。

研究成果の概要(英文)：1. In order to promote the spread of ultra-early detection by blood measurement of Septin 4 using molecular fluorescence measuring instrument MF20, a total of 1,170 persons were tested by the end of March 2019. The colon endoscopic treatments were performed to the persons positive by the test, and early colon cancer, colon polyps, adenoma and carcinoid among them were removed.

2. The anti-cancer effects of Huaier (*Trametes robiniophila* Murr), Chinese natural herbal medicine, has been confirmed and tested as clinical research. The efficacy without any side effects and toxicity were proved, and molecular basis of which was clearly noted. Huaier showed extraordinary ability and capability to rescue disrupted transcriptional control in the cells which resulted in drastic alteration of transcribed gene expression in quality and quantity. Activation of gene expression was first observed resulted in gene silencing in many signaling pathways, especially in NF kappa-B pathways.

研究分野：代替補完医療

キーワード：癌 診断 治療 代替補完療法 カイジ 新規腫瘍マーカー セプチン4

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

2050年には癌死は撲滅できると報告された通り、多くの癌が予防できるようになってきた。AIDS (白血病)、ピロリ菌 (胃癌) のような感染症はもちろん、大腸内視鏡的的確なタイミングでの活用は、胃癌・大腸癌等の積極的予防措置となってきた (NEJM, 2012 & 2013)。個人的癌リスクも、家系・職業的ストレス蓄積への考慮により予測できる事例が多く、適切なライフスタイルにフィードバックさせていくことが日常化している。質の高い栄養状態の確保により、ヒトの寿命は高齢化の一途をたどり、現在人口の25%を超える60代以降の日本国民における、良好な健康状態の維持・管理の効率的な実践が国の急務となっている。国家の保障する国民医療費のうち、癌対策・癌治療に関わる負担は多大なものがあり、癌の簡便な予防策の普及と発症した場合の効果的治療法の普及が、癌という疾病の与える社会経済的、患者の精神的負担の解決となる。ここで、内視鏡下手術など、患者に負担をかけない癌治療は誰もが望むところであるが、頻回の施

	Male			Female		
	Positive	No. examined	Pos. ratio (%)	Positive	No. examined	Pos. ratio (%)
術は、癌誘発の危険を伴うことも報告されており、内視鏡施術の頻度とタイミングについては、有効な判定基準が求められている。本研究では、内視鏡施術の有効なタイミングを正しく設定する有効マーカーとし						
Sum	115	576	20	80	419	19
20's	0	11	0	1	13	8
30's	17	52	33	5	30	17
40's	21	94	22	20	68	29
50's	29	129	22	21	87	24
60's	40	207	19	25	164	15
70's	7	73	10	7	52	13
80's	1	10	10	1	5	20

て、既に効果が立証されているセブチン4 (Tanaka, T. et al., 2010., Tanaka, M., et al., 2002) 血液検査 (表) の有効性を検討し、内視鏡施行後の治癒判定も含め、その結果の臨床病理学的検討を行う。元来、セブチン4は癌患者ごとの変異がなく、正常状態ではゼロ点であるため、診断マーカーとしての有意性が非常に高い (Tanaka, T. et al., 2010.)。この検査技術は、1.血液検査、2.高い再現性、3.使用時の試薬・技術の安全性、4.使用部材の保存安定性、5.計測後の廃棄物質の環境安全性を満たす。この計測系は体内癌細胞の百万個以上の集積を検知し、癌という疾病、すなわち新生血管造成を伴う腫瘍化以前のストレス蓄積状態の検出が可能である。本研究では、他マーカーとの比較対照により、その有用性の時期・範囲を詳細に検討するものである。セブチン4の抽出と診断法に用いる方法論は日本独自のものであり、研究代表者他による特許も含め、現在日本が世界の先駆となっているものである。

ここで、本質的な癌対策を考慮するとき、予防のみならず、既に発症している進行癌患者への対策も併せ持つことが必須である。また、長寿高齢化により、癌再発リスクは5年どころか10年以上に延長して考慮せざるを得ず、完治と判定できる治療後の年数が延びる一途となり、患者の不安は払拭されない。米国FDAにおいては、治療薬がない疾病に対し、マーカー計測は無意味であるという声明さえ発表された。1980年代以降、ゲノムプロジェクトによるヒト遺伝子完全解析が完遂し、21世紀を迎えて、分子標的医薬が普及したが、癌対策は未だ目的を達していない。患者の遺伝子解析により適性と認められても、実際の有効例はその15%に過ぎず、その有効価値も平均余命のわずか数ヶ月の延命効果程度で、患者の心身的消耗、経済的負担による家計の逼迫は甚だしいものがある。既に1日1.2Mb、2日で一人分のゲノム全解析が可能となった本申請当時でさえ (特注費用900万円程度)、患者の薬効予測は天気予報ほどの価値がないと言及されている (3rd Europe BioMarker Summit, 9-10 Oct. 2013)。また、免疫補助療法にしても、一人当たり数百万円から1億円という費用がかかりながら、目的達成には未だ遠く及んでいない。抗癌作用として、免疫力の増強が最も大きな効果をもたらすことは広く知られているが、その安全で長期間に及ぶ作用導入法は未だ確立されていない。本研究では、この問題の解決として、昨今欧米でも検討が進んでいる伝統医療 (traditional medicine) いわゆる本草綱目を用いた補完療法 (Complementary and Alternative Medicine) の臨床実地における顕著な免疫賦活効果とその作用機序を分子遺伝学的に検討する。用いるのは、中国本土・韓国・ロシア等で古来より用いられてきた茸類カイズ (槐耳、*Trametes robiniophila* Murr) 菌糸体の主成分であるグルカン、多糖類・糖タンパク質の混合体 PS-T (Polysaccharide *Trametes robiniophila* Murr) である。日本では、1970年代に類似成分カワラタケ (*Trametes versicolor*, strain CM101) 菌糸体が大腸癌の抗癌剤補助、免疫賦活剤として導入された (クレスチン) が、期待された効果は小さく、その成分と服用量の検討が未だ不十分であることが報告されている。他にも、

- ・ ロシア産 Chaga (*Inonotus obliquus*)、ソルジェニツイン著「癌病棟」に明記
- ・ 中国本土産 槐耳 (*Trametes robiniophila murr*, 日本名カイズ、中国及び海外での英字論文での一般表記 Huaier、中国での抗癌剤登録番号 Z-20000109)
- ・ 中国北部・韓国産 冬虫夏草 (*Cordyceps sinensis*)

等の生薬成分の免疫賦活効果、結果としての抗癌作用が注目されている。これら伝統療法に用

いられる物質群は、どれも生体毒性が認められず、他の治療法と併用、もしくは単独にて顕著な臨床改善例が報告されている。効果は量と服用期間に依存し、腫瘍縮退と患者の全身状態の改善をもたらし、ひいては患者 QOL の飛躍的向上をもたらしている。

## 2. 研究の目的

本研究では、進行癌発症予防としてのセブチン4の血中計測によるストレス蓄積等に起因する癌細胞集積の早期検出効果を検討し、2) 特に大腸癌の内視鏡施術による治療効果、3) 治療前後のセブチン4計測モニター効果を検証し、癌予防の実際を検証する。さらに4) 1970年代より補完療法として使用されてきた **グルカン**、種々の多糖類・糖タンパク質混合物質を主成分とする **PS-T**

(**PolySaccharide *Trametes robiniophila* Murr**)

服用における免疫賦活・癌抑制機構発現の分子遺伝学的解析を行い、生体内作用機序を明らかにすることを目的とする。

ここで特記すべきことは、現在、便潜血検査は検査人口の1.5%程度が陽性になるように感受性を設定されており、検出率が実際の癌リスク人口30% (45~65歳の年齢層) に比較して低すぎるといえる。これは、他に良く用いられる腫瘍マーカー群、CA19-9, CA72-4, CEA, αFP においても同様であり、健常者に潜む癌リスク検知には不十分である。内視鏡を用いた予防的治療に間に合う簡便なモニター検査の確立は国の急務である。進行癌発症例や治療後再発例に対しては、薬剤感受性と抗癌剤、放射線療法等の副作用の問題もあり、多くの困難を抱える治療法の補完療法は、特に膵癌や肺癌等難治性の癌においては必須である。槐耳は、既に、中国本土において毒性がないことがヒトにおいて証明されているが、申請者らは、ショウジョウバエやラット等生体モデルにより毒性がないことを検証し、遺伝子改変ショウジョウバエ (保有特許) を用いた予備実験により、槐耳においては、腫瘍細胞における癌抑制遺伝子内変異を修復し、癌細胞特異的細胞死を誘発する (**G1 arrest**) ことを示した (右図)。この癌抑制遺伝子機能の再活性化は、担癌ラットにおける腫瘍消失としても観察され、免疫賦活効果の遺伝子基盤とも合致している。

これらの予備実験の結果に基づき、臨床研究を用い、詳細な効果検討と関わる遺伝子群、遺伝子経路の解明を行う。また、抗癌効果が確かに投与量に比例することは予備実験でも示されているので、量、投与期間等の検討を行い、目的とする効果に必要な服用法の検討も行う。

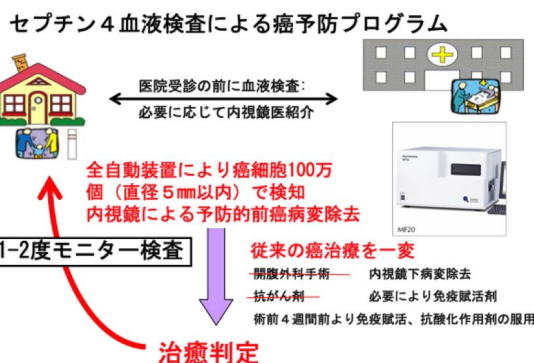
セブチン4のようなマーカーは他に例がなく、日本オリジナルとして世界で唯一申請者が提供できる。確立した測定技術は、生体機能測定に有効な他のマーカー (前立腺癌に対する PSA, 腎細胞癌や抗癌剤感受性判定に有効な TGFβ1 など) にも応用でき、癌のみならず個人個人の体質・家族歴に応じた生体機能マーカーのモニターを可能として既に多くの支持を得ている。

進行癌、治療後再発例に対する対策は、抗癌剤に加え、疼痛緩和および対症療法に終始せざるを得ないのが現状であるが、本研究に記載した補完療法は、伝統医療として古来より文献に記載されてきたものであり、作用機序解析と材料供給の不備から、未だ独立した臨床例の報告のみで、統一された機能解明に至っていないことが課題である。本研究では、申請者らを含む多数医療機関からの臨床有用性の報告に鑑み、実際の有効性を分子基盤で解明し、今後の臨床実地に活かせることに大きな意義がある。これまでの世界的連携体制をそのまま活用、安定した候補物質群の供給の下、それぞれのポテンシャルを機能的に最大活用し、その効果の遺伝子基盤を臨床研究において検証するものである。

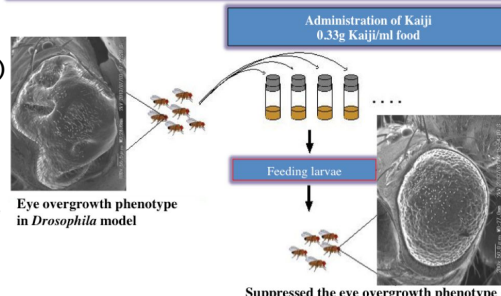
## 3. 研究の方法

本研究では、前述した目的を達成するために、

1. セブチン4血中検査の有用性検討
    - (1) セブチン4血中測定と他マーカー併用によるモニター機能の検討セブチン4および他マーカー計測による癌発症前診断の有用性検討
    - (2) 測定陽性者への消化器内科・内視鏡下治療
    - (3) 除去病変の病理学的解析、治癒判定
    - (4) 結果の統計学的検討と普及のための諸条件検討
  2. βグルカン含有槐耳の有用性検討
- を行う。



### Administration of Kaiji suppressed the eye overgrowth phenotype in *Drosophila* model





#### 4. 研究成果

(1) オリンパス一分子蛍光測定器MF20を用いたセプチン4の血中計測による超早期発見の普及促進を目指し、2019年3月末日までにのべ1,170名の測定を実施した。うちセプチン4検査陽性者には大腸内視鏡検査を研究分担者らに依頼し、早期大腸癌や大腸ポリープ、腺腫、カルチノイドを発見し、内視鏡下手術にて摘出した。これはZauberら (New Eng. J. Med. 366, 687-696, 2012) による大腸内視鏡下ポリペクトミーが大腸癌死の長期的予防効果に基づき、将来大腸癌となる可能性を消滅することができたと考えられる。さらに、セプチン4陽性患者で早期大腸癌が発見された患者において、内視鏡下手術の施行前に槐耳を服用後、癌病変部の縮小が認められた。

(2) 槐耳を用いて、大腸癌や乳癌、肝癌、膵癌等に代替補完療法の臨床研究を行ってきた。方法として、分子標的医薬や抗癌剤、放射線療法、ホルモン療法を受けていない癌患者ボランティアの槐耳20g/日の投与前と投与後(場合によっては手術直前)1月、3月に採血を行い、その血中RNAの抽出を行い、RNAシーケンシングを行い、トランスクリプトームRNA, ノンコーディングRNA他の体系的解析を行った。

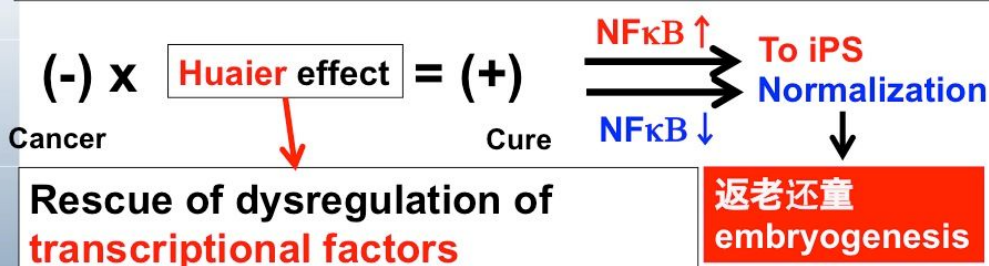
その結果、1サンプルあたり7ギガ塩基数を超えるRNA配列決定、転写遺伝子の約100%の分析、および6,000を超える新規遺伝子が見出された。また、癌患者における槐耳による1ヶ月治療後に、明らかに有意な遺伝的変化を示した。全発現遺伝子中、非常に多数の変異部位が認められた。最も一般的に見られる改変は、選択的スプライシングの予測パターンとは異なるスキップエクソンであった。発癌過程で単一の遺伝子の変化と突然変異が段階的に蓄積するのに対し、槐耳治療により何千もの突然変異が観察された。

さらに驚くべきことに、これらの変化したトランスクリプトームの発現レベルは劇的に上方制御(アップレギュレート)され、4週間の治療後に有意に増加した。全転写物の10~20%を超える発現レベルが変化し、最初にアップレギュレートされた。1ヶ月後ならびに研究期間終了の3ヶ月後まで、下方制御(ダウンレギュレート)と遺伝子サイレンシングが始まった。しかしながら、癌の起源に関係なく、遺伝子サイレンシング効果の発現は患者によって異なった。変化の典型的な時間経過は、脳腫瘍患者と肝細胞癌患者で検出された。明らかな高反応者と低反応者、そして初期段階での高反応者、そして後期段階での低反応者と、正常対照が存在した。

トランスクリプトームのパターンは槐耳の投与前後で変化し、研究期間の3ヶ月間で、全26,711の発現遺伝子のうちの20から50%に達した。これらの変化は、ゲノム全体の中で散在した転写物すべてに生じ、細胞増殖やシグナル伝達のような、癌対照だけでなく、全身システムを維持するための代謝システムおよび他の調整物質にも生じた。

槐耳効果の分子的基盤は、Hippoシグナル伝達経路だけでなく、他の多くの重要なシグナル伝達系における転写調節異常の救済である。同等の変化を喚起することが報告されている薬は他にはない。これらの変化は患者に自然に起こり、その効果は毒性も副作用ないことが証明された。

#### Molecular basis of cancer recovery by Huaier



1. Large-scale gene alterations (changes in quality and quantity)
2. Rescue of disruption in gene expression (whole genome-wide)
3. Ends up with silencing of those functions

**Effect = dose-dependent**

**Toxicity (-) = Spontaneous action**

なお、最終年度までの研究成果は、令和元年5月15～17日大阪で開催されたBIT's 12<sup>th</sup> Annual World Cancer Congress-2019で、大会主催者による招待講演「Molecular Basis of Anti-Cancer Effect of Huaier and Specific Influence to the Natural Selection of iPS Cells and Stable Growth *in vivo* (槐耳の抗癌効果の分子基盤とiPS細胞の自然選択および*in vivo*での安定的成長への特異的効果)」を行い、発表会場を超過員にした。なお残念なことに、研究代表者は本研究助成最終年度で東海大学医学部を定年退職し、アカデミックでの研究持続は不可能になったが、大学発ベンチャーを立ち上げ、槐耳供給元の中国製薬会社による資金提供の下、本研究の継続が可能になったことを報告する。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

**Tomoo Tanaka, Takayoshi Suzuki, Jun Nakamura, Yoshiaki Kawamura, Sotaro Sadahiro, Hiroshi Kijima, Itaru Yamamoto, Nicole Vo, Masamitsu Yamaguchi, Yasuhiro Irino, Masakazu Shinohara, Ding Wei, & Manami Tanaka. Huaier Regulates Cell Fate by the Rescue of Disrupted Transcription Control in the Hippo Signaling Pathway. Arch. Clin. Biomed. Res., Vol. 1, 179-199, 2017, 査読無**

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成30年10月27日「**Prevention and Treatment of Cancer (癌の予防と治療): 総合的癌対策と槐耳機能分子基盤解明**」広東省深圳市「海峡兩岸医薬衛生交流協会主催の第七回海峡兩岸腫瘍予防交流大会、2018年海峡行間医薬衛生交流協会腫瘍予防医と治療委員会学術会議兼肝胆腫瘍国際フォーラム」で招待講演
2. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成29年11月4日「**Prevention and Treatment of Cancer: 総合的癌対策と槐耳機能の分子基盤**」遼寧省瀋陽市「海峡兩岸医療保健交流協会 第6回総会の腫瘍予防・管理委員会 2017盛京肝胆外科最高フォーラム国際肝胆膵外科学会中国分科会フォーラム(遼寧省)」で招待講演
3. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成29年9月23日「**Prevention and Treatment of Cancer: Early diagnosis by Sept4/Bradeion beta serum test, Molecular mechanism of Huaier on the Hippo signaling pathway**」(癌の予防と治療: セプト4/ブラディオオン・ベータ血清検査。ヒポ伝達経路における槐耳(カイジ)の分子機序)遼寧省大連市「東北介入フォーラム 中国医師協会内臓動脈疾病特別委員会第二回学術会議」で招待講演
4. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成29年9月17日「**Prevention and Treatment of Cancer: 総合的癌対策と槐耳機能の分子基盤解明**」上海市「原発性肝癌診療ガイドラインおよび槐耳顆粒研究成果報告会」で招待講演
5. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成29年9月16日「**Prevention and Treatment of Cancer: 総合的癌対策と槐耳機能の分子基盤解明**」北京市「中国医療保健国際交流 中国肝腫瘍最高会議 肝腫瘍分科会及び結直腸癌肝転移分科会学術年会」で招待講演
6. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成29年8月20日「槐耳顆粒在乳腺疾病中的应用」湖南省長沙市「乳癌国際会議(湖南省)」で招待講演
7. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成29年8月19日「**Prevention and Treatment of Cancer: Early diagnosis by Septin 4 blood test and the molecular basis of anti-cancer effect of Huaier(槐耳)**」広東省広州市「広東省医学会 第七次肝胆膵外科学会学術会議」で招待講演
8. 田中真奈実, 田中朝雄. 平成29年4月8日「**Prevention and Treatment of Cancer: Early diagnosis by Sept4/Bradeion beta serum test, Molecular mechanism of Huaier on the Hippo signaling pathway**」(癌の予防および治療。セプト4/ブラディオオン・ベータ血清検査による早期診断。ヒポ伝達経路における槐耳(カイジ)の分子機序)中華人民共和国・山東省・済南市「乳がんのフォローアップ治療シンポジウム」で招待講演

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：鬼島 宏  
ローマ字氏名：**KIJIMA, Hiroshi**  
所属研究機関名：弘前大学  
部局名：医学（系）研究科（研究院）  
職名：教授  
研究者番号（**8**桁）：90204859

研究分担者氏名：鈴木 孝良  
ローマ字氏名：**SUZUKI, Takayoshi**  
所属研究機関名：東海大学  
部局名：医学部  
職名：教授  
研究者番号（**8**桁）：40287066

研究分担者氏名：山口 政光  
ローマ字氏名：**YAMAGUCHI, Masamitsu**  
所属研究機関名：京都工芸繊維大学  
部局名：応用生物学系  
職名：教授  
研究者番号（**8**桁）：00182460

(2)研究協力者

研究協力者氏名：田中 真奈実  
ローマ字氏名：**TANAKA, Manami**

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。