

平成21年 3月21日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18790385

研究課題名 (和文) セレン化合物による乳がん細胞増殖抑制メカニズムの解明

研究課題名 (英文) Study on suppression mechanism of breast cancer proliferation by selenium compounds

研究代表者

奥野 智史 (TOMOFUMI OKUNO)

摂南大学・薬学部・助教

研究者番号：30288972

研究成果の概要：

近年、わが国では乳がん患者が著しく増加しており、そのなかでも乳管部位の癌がとくに多い。本研究は、乳癌の進行を未然に防止することを目的として、ヒト生理レベルの17 β -エストラジオール存在下におけるセレン化合物によるヒト乳管癌由来 T47D 細胞に対する増殖抑制効果ならびに細胞増殖抑制メカニズムを明らかにした。本研究の成果は、セレン化合物を用いた乳癌予防薬などの開発ならびにその安全かつ有効な利用のための重要な基礎資料となることが期待される。

交付額

	(金額単位：円)		
	直接経費	間接経費	合計
2006年度	900,000	0	900,000
2007年度	700,000	0	700,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,400,000	240,000	2,640,000

研究分野：公衆衛生学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：乳がん、エストロゲン受容体、17 β -エストラジオール、セレン化合物、セレンプロテイン、活性酸素、細胞増殖、細胞周期

1. 研究開始当初の背景

近年、わが国の女性の乳がん罹患数が増加している (*Jpn J Clin Oncol.*, 34, 352-356, 2004)。卵巣や副腎などから分泌される女性ホルモンのエストロゲンは、乳管の細胞分裂を促す作用があるとともに、乳癌の発生や増殖促進にも関与するといわれている。乳癌細胞の増殖にはエストラジオール受容体 (ER) の発現や ER を介したシグナル伝達が重要な役割を果たしている可

能性が示唆されている。たとえば、ER をもつエストロゲン依存性の乳癌由来 MCF7 細胞では、E2 曝露によってエストロゲン応答性フィンガータンパク質 (Efp) が過剰発現し、これが細胞周期の回転を抑制する因子である p21 および 14-3-3 σ タンパク質の発現が抑制されて細胞増殖が促進されるといわれている (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 11117-11121, 1993; *J. Biol. Chem.* 270, 2440 6-24413, 1995; *Proc. Natl.*

Acad. Sci. USA, **96**, 12027-12032, 1999)。

必須微量元素であるセレンは、乳がんに対して予防効果を有することが示唆されている。いくつかの疫学調査において、乳がん患者の血中セレン濃度は健常人に比べて有意に低いことが報告されている (*Tohoku J. Exp. Med.*, **196**, 99-109; *Clin. Biochem.*, **32**, 131-136)。セレンの生理作用の多くは、セレノプロテインによるものであると考えられており、とくにグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx1) やチオレドキシニンレダクターゼ (TR1) など酸化ストレス防御系として機能するセレノプロテインの発現や酵素活性の低下は細胞内で生成する種々の活性酸素種 (ROS) の増加をもたらし、細胞の癌化や増殖を引き起こす可能性が推定される。また、乳がん患者の乳腺組織において、セレンレベルと ER 発現量との間に密接な関連性があることが明らかになりつつある。さらに、ヒト乳癌細胞由来 MCF10AT1 細胞や MCF10AT3B 細胞にメチルセレン酸 ($\text{CH}_3\text{SeO}_2\text{H}$, MSA) やメチルセレンシステイン ($\text{CH}_3\text{SeCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$) を曝露した *in vitro* 実験では、細胞生存率の低下やアポトーシスの促進が確認されている (*Cancer Res.*, **62**, 708-714, 2002)。このように、セレンによるがん抑制効果が期待されるものの、その詳細な抑制メカニズムについては未だ明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究は、セレン化合物を乳がんの予防や治療などに適用するための基礎的知見とするため、乳癌細胞の増殖抑制に有効なセレン化合物の化学形の検索ならびにその増殖抑制メカニズムの解明を目的として実施した。既報の研究では、乳癌細胞の増殖が血中 E2 濃度によって影響を受ける可能性があるにもかかわらず、E2 濃度に注意を払った検討はなされていない。そこで、ヒトへの適用を最終目的とする本研究では、実際のヒトの血中エストラジオール濃度を加味して、実際に投与可能な濃度範囲で各種セレン化合物を曝露したときの細胞増殖抑制効果の評価に重点を置いた。また、エストロゲン依存性の癌細胞の増殖と密接に関わる ER の発現、ならびに癌細胞増殖抑制に寄与する遺伝子やタンパク質の発現に及ぼすセレンの影響に着目した。さらに、セレン曝露によって細胞増殖抑制が認められた乳癌細胞におけるセレン含有酵素活性や活性酸素生成量なども併せて追求した。

3. 研究の方法

(1) 試薬および細胞

試薬は、入手可能で最も純度が高いものを実験に供した。牛胎児血清 (FBS) は

Biowhittaker 社 (Lot. No. 016942) または Biowest 社 (Lot. No. S05691S1820) のものを用い、必要に応じて charcoal-dextran 処理で 17β -エストラジオール (E2) を取り除いた。ヒト乳管癌由来細胞株 T47D は神戸女学院大学の川合真一郎博士よりご供与いただき、5% FBS 含有 Dulbecco's modified Eagles medium (DMEM) を用い、 37°C 、5% CO_2 存在下で継代培養したものを実験に供した。

(2) 各種セレン化合物の曝露

T47D 細胞を 0.25% トリプシン-EDTA で剥がした後、5% charcoal-dextran treated FBS 含有 DMEM (フェノールレッド不含) に懸濁させた。この懸濁液を一定細胞数となるように 96 穴、6 穴マイクロプレートあるいは 90 mm ディッシュに播種した。 37°C 、5% CO_2 存在下で 1 日培養した後、E2 (終濃度: $0\sim 1\times 10^{-9}$ mol/L) および各種セレン化合物 (終濃度: $0\sim 1\times 10^{-6}$ mol/L) をそれぞれ曝露し、 37°C 、5% CO_2 存在下で 0~4 日間培養した。なお、T47D 細胞に存在する ER α のノックダウンは、Dharmacon siGENOME™ (ESR1) を用い、細胞播種直後に行った。また、ブチオニンシルホキシドや *N*-アセチルシステインの曝露は、細胞播種の 2 時間後に行った。

(3) 細胞増殖率の測定

細胞増殖率は、エチジウムブロマイド蛍光法で細胞数を測定し算出した。

(4) 標的遺伝子発現量の定量

T47D 細胞からの total RNA 抽出は RNeasy® Mini Kit (Qiagen, Cat.No. 74104) を用いて行った。逆転写反応による cDNA 合成には Super Script First Standard System (GIBCO BRL) あるいは High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Applied Biosystems) を用いた。得られた cDNA と標的遺伝子プライマーを用いて、PCR を行い、標的遺伝子の発現量を定量した。

(5) 標的タンパク質発現量の定量

T47D 細胞に lysis buffer (0.5% nonidet P-40, 10 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L phenylmethylsulfonyl fluoride, 0.11 unit/mL trypsin inhibitor) を加え、ホモジナイズした。18,500×*g* (4°C) で 30 分間遠心分離して得られた上清について、標的タンパク質の抗体を用いたウエスタンブロットティングを行った。

(6) 細胞内 ROS 産生の測定

T47D 細胞に carboxy-DCFH-DA を処置し、フローサイトメーターで測定した。

(7) 細胞内グルタチオン (GSH) 量の測定

Toyo' oka らの方法 (*J. Chromatogr.*, **282**, 495-500, 1983) もしくは Total Glutathione Detection Kit (Assay designs, Cat.No. 900-160) を用いて定量した。

(8) 各種酵素活性の測定

T47D 細胞に 0.2 % Triton-X-50 mmol/L リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) 1 mL を加えて細胞を溶解し、遠心して得られた上清を 50 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) で透析した後、各種酵素活性の測定を行った。GPx1 活性は Yamamoto と Takahashi の方法 (*Arch. Biochem. Biophys.*, **305**, 541-545, 1993)、TR1 活性は Hill らの方法 (*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **234**, 293-295, 1997) に従って測定した。なお、TR 活性の測定には、55°C で 10 分間加温した後、13,000 × g (4°C) で 30 分間遠心分離して得られた上清を用いた。タンパク質量は、BCA Protein Assay Reagent Kit (PIERCE) を用いて測定した。

(9) アポトーシスおよびネクローシス判定

アポトーシスおよびネクローシスは、Annexin-V fluorescein isothiocyanate isomer-I (FITC) Apoptosis Kit (Bio Source) を用いて、フローサイトメーターで測定した。

4. 研究成果

(1) T47D 細胞の増殖に及ぼす E2 および各種セレン化合物曝露の影響

E2 を 1×10^{-16} ~ 1×10^{-9} mol/L の濃度範囲で曝露したとき、T47D 細胞の増殖は E2 濃度に依存することが確認された。E2 を 1×10^{-9} mol/L の濃度で曝露したときに認められた細胞増殖促進は、亜セレン酸ナトリウム (Na_2SeO_3)、セレンメチオニン (SeMet) あるいは MSA をそれぞれ 1×10^{-6} mol/L の濃度で同時に曝露することによって有意に抑制された (Table 1)。これ以外のセレン化合物では有意な細胞増殖抑制効果は認められなかった。

Table 1 Effect of various selenium compounds on the growth of E2-induced T47D cells

Substrates (1×10^{-6} Se mol/L)	Number of proliferation cells ($\times 10^4$ cells/mL)	Cell growth rate (%)
Control	44.9 ± 0.4	100.0 ± 1.0
NaSeO ₃	37.1 ± 0.4*	82.7 ± 1.1*
NaSeO ₄	40.6 ± 5.0	90.3 ± 11.2
Na ₂ Se	44.6 ± 3.4	99.2 ± 7.5
SeO ₂	45.3 ± 5.1	100.8 ± 11.3
L-Selenomethionine (SeMet)	35.8 ± 2.0*	79.9 ± 4.5*
Se-Methylseleno-L-cysteine	44.5 ± 3.1	99.2 ± 6.8
Seleno-D,L-cystine	44.1 ± 4.0	98.2 ± 8.8
Selenocystamine	40.5 ± 3.6	90.1 ± 8.1
Methylseleninic acid (MSA)	27.5 ± 3.6*	61.2 ± 8.1*

Value are mean ± SD (n=6).

*Significantly different from the control ($p < 0.01$).

E2 was exposed at the concentration of 1×10^{-9} mol/L.

ヒトの血中 E2 濃度は、個人差や性周期によって範囲で変動することから、 Na_2SeO_3 、SeMet あるいは MSA による T47D 細胞増殖抑制に及ぼす E2 濃度の影響を検討した。その結果、E2 の濃度が 1×10^{-13} mol/L 以下のとき、 Na_2SeO_3 および MSA は T47D 細胞の増殖は、わずかに促進される傾向が認められた。一方、ヒト生理レベルである 1×10^{-12} ~ 1×10^{-9} mol/L の範囲で E2 が存在したときには、いずれのセレン化合物も T47D 細胞の増殖を有意に抑制することが判明した。これらのことから、 Na_2SeO_3 、SeMet および MSA は単独では T47D 細胞の増殖抑制効果はなく、ヒト生理レベルの E2 が存在することによって細胞増殖を有意に抑制することが明らかとなった。そこで、ヒト生理レベルの上限である 1×10^{-9} mol/L の E2 存在下における T47D 細胞の増殖促進を最も効果的に抑制するセレン濃度を検討したところ、3 種類のセレン化合物はいずれも 1×10^{-6} mol/L の濃度で細胞毒性に起因しない増殖抑制が観察された。この細胞増殖抑制は、E2 による細胞増殖促進機構と密接に関わっていることが示唆された。

(2) セレン化合物の T47D 細胞の増殖抑制作用に対する ER の寄与

エストロゲン依存性の乳癌細胞増殖には、ER α の関与が指摘されている。E2 非存在下で T47D 細胞に Na_2SeO_3 、SeMet あるいは MSA を単独曝露したとき、細胞内 ER α mRNA 発現量は減少傾向を示した (Fig. 1)。一方、E2 を 1×10^{-6} mol/L の濃度で単独曝露したとき、T47D 細胞の ER α mRNA 発現量は約 50 % 増加した (Fig. 1)。この E2 による増加は、 Na_2SeO_3 、SeMet あるいは MSA の同時曝露によっていずれも抑制された (Fig. 1)。これら 3 種類のセレン化合物による ER α mRNA 発現量の抑制は、E2 非共存下に比べて E2 共存下で顕著であった。

E2 非共存下あるいは 1×10^{-9} mol/L の濃度の E2 共存下で、 Na_2SeO_3 、SeMet および MSA をそれぞれ 1×10^{-6} mol/L の濃度で同時に曝露したときの T47D 細胞の ER α タンパク質発現量は、ER α mRNA 発現量と同様の傾向を示した (Fig. 2)。E2 存在下の T47D 細胞で認められた MSA による ER α タンパク質発現量の有意な減少は、MSA の濃度に依存することが判明した。

RNA interference (RNAi) を用いて ER α mRNA 発現量を対照群の約 50 % までノックダウンした T47D 細胞に E2 を 1×10^{-9} mol/L の濃度で曝露したところ、細胞増殖はノックダウンしないものに比べて有意に抑制された ($P < 0.01$)。これらのことから、E2 による T47D 細胞の増殖には ER α 発現量の増加が関与しており、 Na_2SeO_3 、SeMet および MSA による ER α 発現量の抑制が細胞増殖抑制と関連していることが強く示唆された。

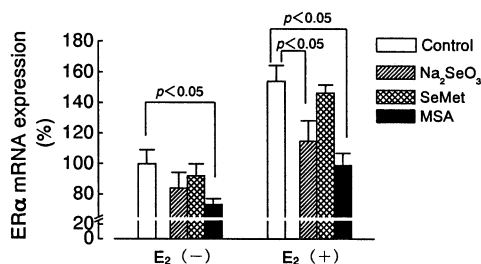


Fig. 1 Effect of E₂ and selenium compound on ERα mRNA levels in T47D cells

E₂ and selenium compounds were exposed at the concentration of 1 × 10⁻⁹ and 1 × 10⁻⁶ mol/L, respectively. ERα mRNA amount were normalized by β-actin. Value are mean ± SD (n=3~4).

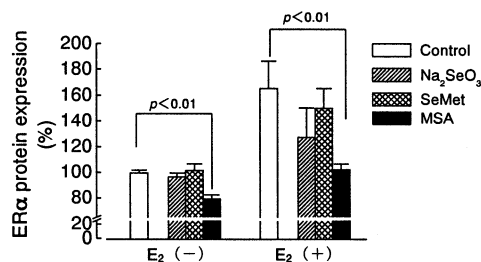


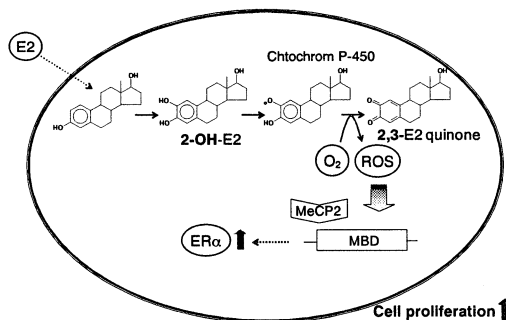
Fig. 2 Effect of E₂ and selenium compound on ERα protein levels in T47D cells

E₂ and selenium compounds were exposed at the concentration of 1 × 10⁻⁹ and 1 × 10⁻⁶ mol/L, respectively. ERα protein amount were normalized by β-actin. Value are mean ± SD (n=3~4).

(3) セレン化合物による ERα 発現抑制に対する酸化ストレス防御系の役割

① E₂ による細胞内 ROS 産生に対するセレン化合物の影響

E₂ は、Scheme 1 に示すように、CYP (cytochrom P450) によってキノン体へと代謝されるときに ROS を産生し、この ROS が methyl-CpG binding domain (MBD) と methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2) の結合を阻害することによって ERα の発現を促進すると推定されている (*Nucleic Acids Res.*, 32, 4100-4108, 2004)。



Scheme 1 Presumed mechanism of ERα expression in T47D cells by E₂

E₂: 17β-estradiol, ERα: estrogen receptor α, ROS: reactive oxygen species, MBD: methyl-CpG binding domain, MeCP2: methyl-CpG binding protein 2

T47D 細胞に、1 × 10⁻⁶ mol/L の濃度で Na₂SeO₃、SeMet および MSA を単独で曝露したとき、細胞内 ROS 産生量は曝露 12 時間後に若干減少したが、曝露 24 時間後まで有意な増減は認

められなかった。一方、1 × 10⁻⁹ mol/L の濃度で E₂ を単独で曝露したとき、曝露 12 時間後および 24 時間後の細胞内 ROS 産生量は対照群に比べて有意に増加した。この E₂ による細胞内 ROS 産生量の増加は、セレン化合物の同時曝露で抑制される傾向を示した。とくに E₂ と MSA を同時に曝露した T47D 細胞内 ROS 産生量は、E₂ を単独で曝露したものに比べて約 30 % 抑制されることが判明した (Fig. 3)。

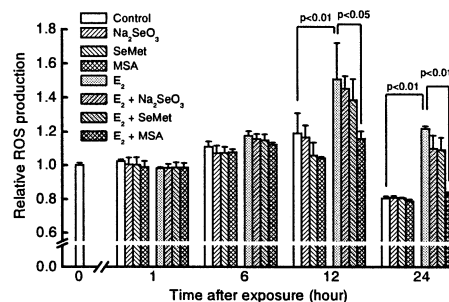


Fig. 3 Effect of selenium compounds on intracellular ROS production in T47D cells exposed E₂

E₂ and selenium compound were exposed at the concentration of 1 × 10⁻⁹ mol/L and 1 × 10⁻⁶ mol/L, respectively. Relative ROS production of control was taken as 1.0.

そこで、セレンが関与する酸化ストレス防御系である GSH/GPx1 系および Trx/TR 系に着目した。T47D 細胞における GPx1 発現量とその酵素活性は、E₂ やセレン化合物の曝露に関係なく、ほとんど検出されなかった。このことから、GSH/GPx1 系は、T47D 細胞における酸化ストレス防御系としてほとんど機能していないことが示唆された。一方、T47D 細胞における TR1 タンパク質発現量とその活性は、E₂ の単独曝露でほとんど変化しなかったが、Na₂SeO₃、SeMet もしくは MSA の単独曝露あるいは E₂ とこれらセレン化合物の同時曝露によって増加した (Fig. 4 & Fig. 5)。さらに、T47D 細胞内 Trx1 タンパク質発現量は、1 × 10⁻⁹ mol/L の E₂ を曝露することによって有意に増大した (Fig. 6)。以上の結果から、E₂ は T47D 細胞内の ROS 産生を促進する一方で、細胞内 ROS の消去に関わる Trx1 の発現量を増加させることが明らかとなった。生理レベルの E₂ を曝露した T47D 細胞では、細胞内 ROS 消去作用よりも ROS 産生が優っているために、ERα の発現が惹起され、細胞増殖が促進されることが推定された。このとき、Na₂SeO₃、SeMet もしくは MSA を同時に曝露することによって、TR1 発現量が増大して Trx1/TR1 系がより機能的に働き、還元型 Trx1 量が相対的に増大することが考えられる。この作用によって細胞内 ROS 産生量が減少し、その結果として、ERα の発現が抑制されて T47D 細胞の増殖抑制につながることを示唆された。

(4) セレン化合物による ERα を介した細胞増殖抑制とアポトーシスおよび細胞周期との関連性

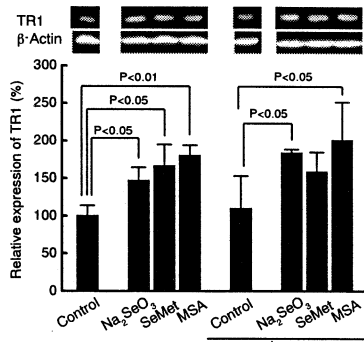


Fig.4 Effect of E2 and selenium compounds on TR1 protein level in T47D cells

E2 and selenium compounds were exposed at the concentration of 1×10^{-6} mol/L and 1×10^{-6} mol/L, respectively. Protein amount was normalized by β -actin. Relative expression of TR1 of control was taken as 100%.

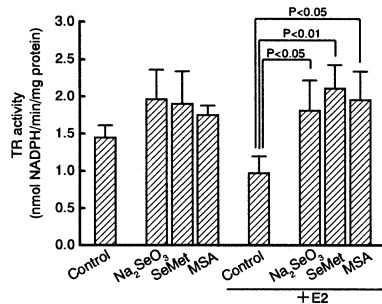


Fig.5 Effect of E2 and selenium compounds on TR activity in T47D cells

E2 and selenium compounds were exposed at the concentration of 1×10^{-6} mol/L and 1×10^{-6} mol/L, respectively. Protein amount was normalized by β -actin. Relative expression of TR1 of control was taken as 100%.

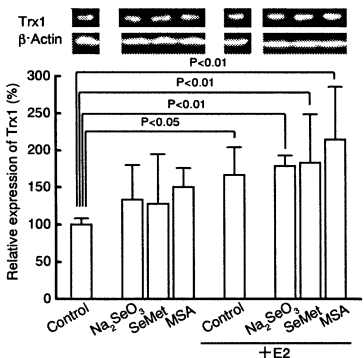


Fig.6 Effect of E2 and selenium compounds on Trx1 protein level in T47D cells

E2 and selenium compounds were exposed at the concentration of 1×10^{-6} mol/L and 1×10^{-6} mol/L, respectively. Protein amount was normalized by β -actin. Relative expression of Trx1 of control was taken as 100%.

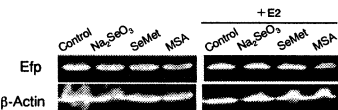
① T47D 細胞のアポトーシスに及ぼすセレン化合物の影響

E2 共存下の T47D 細胞に、Na₂SeO₃、SeMet あるいは MSA を曝露し、1~24 時間培養後のアポトーシスを起こした細胞の割合は全細胞数のわずか 0.6 %程度であり、ほぼ一定であった。一方、ネクローシスを引き起こした細胞の割合は培養時間の経過に伴って増加する傾向が認められたが、E2 ならびに Na₂SeO₃、SeMet および MSA の曝露による影響がほとんど認められなかった。以上のことから、これらセレン化合物による T47D 細胞増殖抑制には、アポトーシスやネクローシスの誘導が関係していないことが確認された。

② T47D 細胞の細胞周期に及ぼすセレン化合物の影響

E2 存在下、MSA を曝露した T47D 細胞に 5-ブromo-2-デオキシウリジン (BrdU) を取り込ませ、FITC 標識抗 BrdU 抗体を用いてフローサイトメーターで細胞内の DNA 量を測定したが、その量から細胞周期の移行阻害を確認することができなかった。この原因として、同調培養した細胞を用いなかったことが考えられた。

T47D 細胞内の細胞周期亢進に関わる estrogen receptor finger protein (Efp) タンパク質の発現量は、Na₂SeO₃、SeMet あるいは MSA を単独で曝露してもほとんど変動しなかった。一方、E2 を単独で曝露したとき、Efp 遺伝子の発現量は対照群の約 1.5 倍に増加した。この E2 によって増加した Efp 遺伝子の発現は、Na₂SeO₃、SeMet あるいは MSA の同時曝露によって抑制される傾向を示し、抑制作用は MSA で最も顕著であった (Fig. 7)。このことから、MSA をはじめとするセレン化合物は、T47D 細胞における Efp タンパク質の発現を抑制し、細胞周期の G2/M 期の移行を阻害していることが示唆された。



Relative expression of Efp 1.00 1.00 1.13 0.99 1.58 1.51 1.35 1.07

Fig.7 Effect of Se compounds and E₂ on Efp expression in T47D cells

E2 and selenium compounds were exposed at the concentration of 1×10^{-6} mol/L and 1×10^{-6} mol/L, respectively. Protein amount was normalized by β -actin. Relative expression of Efp of control was taken as 1.00.

(5) T47D 細胞における MSA の代謝

これまでの検討で、E2 存在下で認められた Na₂SeO₃、SeMet あるいは MSA による T47D 細胞の増殖抑制には、セレノプロテインである TR1 の関与が示唆されている。そこで、E2 存在下で T47D 細胞の増殖を顕著に抑制した MSA に着目し、細胞内における MSA の代謝ならびにセレンの存在形態を検討した。しかしながら、T47D 細胞内のセレン量が少なく、代謝中間物を同定できなかった。MSA からセレノプロテインへの代謝に関与するといわれている還元型 GSH 量は 2.6 ± 0.2 nmol/mg protein だったことから、細胞に取り込まれた MSA はセレノプロテインに代謝される可能性が十分に考えられた。そこで、GSH 枯渇剤である BSO を処理した BSO 処理 T47D 細胞に E2 存在下、MSA を曝露したときの細胞増殖抑制効果はやや減弱した。このときの T47D 細胞内 GSH 量は、BSO 未処理細胞の約 1/2 に減少していた。一方、NAC を前処理した T47D 細胞に E2 存在下、MSA を曝露したときの細胞増殖抑制効果は増強される傾向が認められた。このときの T47D 細胞内 GSH 量は、NAC に未処理群に比べて約 1.6 倍高いことが認められた。これ

らのことから、T47D 細胞内では GSH が関与した MSA から TR1 への代謝が進行していることが示唆された。

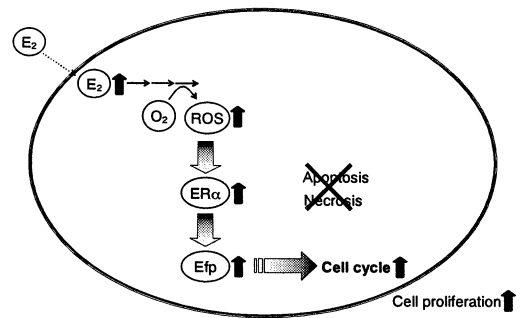
(6) セレン化合物による T47D 細胞増殖メカニズム

本研究の成果ならびに既報の結果から、ヒト生理レベルの E2 存在下におけるセレン化合物による ER α を介した T47D 細胞増殖抑制メカニズムが明らかとなった。

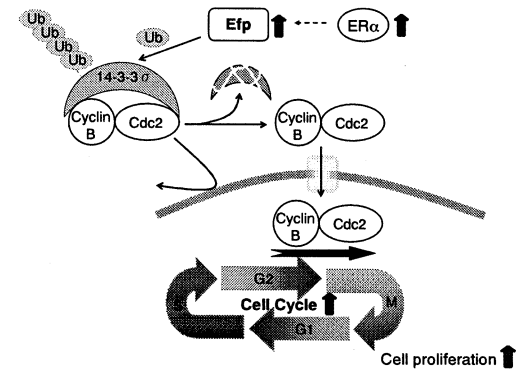
E2 を生理レベルで曝露した T47D 細胞では、ROS 産生の増加、ER α 発現量の増大あるいは Efp 発現の増加が認められたことから、Scheme 2 に示すようなシグナル伝達系を介して細胞増殖が促進されることが考えられた。すなわち、E2 は CYP によって代謝される過程で産生された ROS が、ER α 発現遺伝子のプロモーター部位に存在する methyl-CpG binding domain (MBD) のグアニン (G) と 5-メチルシトシン (5mC) をそれぞれ 8-オキソグアニン (8-oxoG) と 5-ヒドロキシメチルシトシン (HmC) に酸化し、これによって転写調節因子の methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2) と MBD との結合が阻害される。MeCP2 は通常 MBD に結合することによって ER α の発現を抑制していることから、ER α の発現が惹起される。ER α は E2 と結合して二量体を形成し、これが Efp 発現遺伝子の上流にある estrogen receptor element (ERE) 配列に結合することによって、Efp 発現を促進する (Scheme 1)。さらに、Efp は 14-3-3 σ のユビキチンリガーゼとして働き、cyclin B と Cdc2 複合体の核内移行を促進し、G2/M 期の移行を促進すると推定される (Scheme 3)。なお、ヒト生理レベルの E2 による T47D 細胞の増殖促進は、アポトーシスやネクロシスの抑制に起因しないことが考えられた。

一方、生理レベルの E2 存在下、セレン化合物を曝露した T47D 細胞では、Scheme 4 に示すようなメカニズムで細胞増殖が抑制されることが考えられた。まず、E2 は ER α と結合し、これが AP-1 配列上の c-Jun/c-Fos 複合体に結合することによって Trx1 を発現を増強する。さらに、MSA をはじめとするセレン化合物は細胞内の TR1 活性を増大し、Trx を還元的に維持することによって細胞内 ROS 産生量を減少させ、ER α 発現量の減少、さらには Efp の発現抑制を引き起こす。その結果、細胞周期の G2/M 期の移行が遅延し、T47D 細胞の増殖を抑制していることが考えられた。

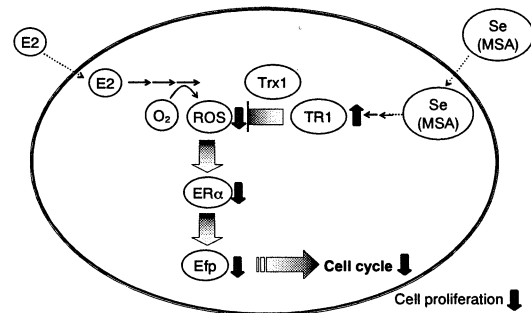
本研究の成果は、Se 化合物を利用した健康補助食品あるいは乳癌予防薬の開発、ならびにその安全かつ有効な利用のための重要な基礎資料となることが期待される。



Scheme 2 Proposed suppression mechanism for E₂ induced-T47D cell proliferation by MSA
E₂: 17 β -estradiol, ER α : estrogen receptor α , Efp: estrogen receptor finger protein, ROS: reactive oxygen species, MSA: methylseleninic acid, TR: thioredoxin reductase, Trx: thioredoxin



Scheme 3 Promotion mechanism of cell cycle by Efp
ER α : estrogen receptor α , Efp: estrogen receptor finger protein



Scheme 4 Proposed suppression mechanism for E₂ induced-T47D cell proliferation by MSA
E₂: 17 β -estradiol, ER α : estrogen receptor α , Efp: estrogen receptor finger protein, ROS: reactive oxygen species, MSA: methylseleninic acid, TR1: thioredoxin reductase 1, Trx1: thioredoxin 1

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計2件)

1. 奥野智史、上野 仁、中室克彦、セレン化合物によるヒト乳癌由来 T47D 細胞増殖抑制メカニズム、日本微量元素学会 第 18 回学術集会、2007 年 7 月 6 日、福井。
2. 奥野智史、三浦清志、廣畑秀記、山口あさみ、上野 仁、中室克彦、メチルセレン酸によるヒト乳癌由来 T47D 細胞の増殖抑制機構の解明、日本薬学会第 127 年会、2007 年 3 月 28 日、富山。

6. 研究組織

奥野 智史 (OKUNO TOMOFUMI)

摂南大学・薬学部・助教

研究者番号：30288972