

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16404

研究課題名（和文）大腸がん予防効果のある食品および食品成分の探索・同定およびメカニズムの解明

研究課題名（英文）Search / identification of foods and food components that have a preventive effect on colorectal cancer and elucidation of the mechanism

研究代表者

成田 匠 (Narita, Takumi)

京都府立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：30839189

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、アブラナ科植物10種の抽出液より大腸がん予防効果を示す可能性のあるものをスクリーニングし、その中の有効成分に関してさらにスクリーニングをすることにより、4成分を見出した。その内、大腸上皮正常様細胞と大腸がん細胞において、スルフォラフェンが大腸がん予防に最も有効である可能性が示めされたため、さらにメカニズム解析を行うとその効果はグルタチオン量を介する制御であることがわかった。腸ポリープが多発する家族性大腸腺腫症モデルマウスを用いると、スルフォラフェンは腸ポリープ数を減少させ、腸管粘膜上皮においてグルタチオン量も増加させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、食事による大腸がん予防方法の開発の一助になると考えている。我々は野菜そのものとして、また食用油としてアブラナ科植物の長い食経験をもち、その成分であるスルフォラフェンも大根などの成分として摂取している。日本人における多目的コホート研究においてもアブラナ科植物ががん予防効果に効果があることが報告されており、本研究の結果は作用機序を提示することにより、そのエビデンスレベルを高めた。我々の成果をもとに、農学園芸領域において、スルフォラフェンを増強した野菜の開発や選別を促し、公衆衛生においても大腸がんの罹患者および死亡者数が減少されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we found 4 components from 10 types of Brassicaceae that could prevent colon carcinogenesis. We analyzed the 4 components using colon epithelial normal-like cells and colorectal cancer. As a result, we suggested that sulforaphene was able to prevent colon carcinogenesis. We considered that the prevention effects of colon carcinogenesis in sulforaphene were caused by the induction of glutathione. In addition, we analyzed the effect of sulforaphene using familial adenomatous polyposis model mice (Min mice). In Min mice, treatment of sulforaphene decreased intestinal polyps compared with no treatment. Furthermore, treatment of sulforaphene increased glutathione levels in the intestinal mucosa compared with no treatment.

研究分野：予防医学

キーワード：大腸がん がん予防 抗酸化 酸化ストレス グルタチオン

1. 研究開始当初の背景

私はこれまでに食事制限が老化性疾患の予防に有効であり、白色脂肪組織において酸化ストレスの減少、炎症の低減、ミトコンドリアの活性化が重要であることを報告した (Fujii N, Narita T et al., Aging Cell, 2017)。現在、私の所属している研究室においては、抗炎症薬であるアスピリンが大腸がん抑制に非常に有効であることを示し、大型の臨床介入試験を行なっている。また抗炎症や抗酸化ストレス作用を持つアスピリンには寿命延伸作用もあることが報告され (Pietrocola F et al., Cell Reports, 2018)、このことは抗炎症や抗酸化ストレスそのものが老化性疾患の予防に重要なことを示している。がんは老化性疾患の一つであることを考えると、老化を抑制することにより、がんの発症を抑制する可能性があると考えられる。

がんを予防する方法に関する報告は数多くされており、中でも禁煙・飲酒・運動・食生活・適正体重 (内臓脂肪の増加抑制) の維持が重要であると言われている。食事制限は老化性疾患の予防に有効であるが、食事制限を常に続けることは現実的に困難である。一方でがん予防薬剤を飲み続けるのも問題がある。薬剤には副作用があるため、医師の管理下で服用する必要があるが、この場合、恩恵を得られる人数は限定される。一方、野菜や果物の摂取が少ない人はがんのリスクが高いことが報告されている。そこで、長期にわたり摂取することが可能で、多くの人が摂取できるものとして、食材を用いた老化性疾患、特に大腸がんの予防研究を立案した。

2. 研究の目的

我が国において、大腸がんの罹患数は最も多く、死亡者数は2位である。一方で食生活を含む生活習慣の改善によりがんの60%が抑制できるとする報告もある。

アブラナ科の植物は食用油や野菜として用いられ、近年、疫学研究によりそのがん予防効果が示唆されている。しかしその基礎研究の多くは、正常上皮細胞ではなくがん細胞株を用いており、個体レベルでの検討を行なっているのは少数であるという制限がある。

そこで本研究では、(1)大腸がんが抑制される有用なアブラナ科植物を見出し、(2)その中より有効成分を同定し、詳細なメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 大腸がん予防の候補植物および含有物質の選定

大腸がん予防の指標として、細胞増殖/分化に関連する Tcf/LEF、炎症に関連する NF- κ B の転写活性の減少、および抗酸化ストレスに関連する NRF2 の転写活性の増加を用い、レポーター遺伝子アッセイにて効果判定を行った。

さらに、大腸がん細胞株 HCT116 において細胞生存率を MTT アッセイにより確かめることで、大腸がんに効果があるとして、候補化合物を絞り込んだ。

(2) 大腸がん予防の検証 (*in vitro*)

F344 ラット由来大腸上皮正常細胞 (PriA/MUT02) および F344 ラット由来ジメチルヒドラジン誘導大腸がん細胞株 (RCN-9) を用いて、細胞生存率の差異を MTT アッセイおよびよう化プロピジウム染色により確かめた。

(3) 酸化ストレスの測定 (*in vitro*)

候補化合物に関して、F344 ラット由来大腸上皮正常細胞 (PriA/MUT02) および F344 ラット由来ジメチルヒドラジン誘導大腸がん細胞株 (RCN-9) を用いて、未投与・投与間の総グルタチオン量、酸化型グルタチオン量、活性酸素種量を比較することで、NRF2 下流の抗酸化ストレスにおける効果を確認した。さらに、抗酸化物質である N-アセチルシステイン (NAC)、リコピン、シスチンの共投与による影響も確かめた。

(4) 家族性大腸腺腫症モデルマウス (Min マウス) を用いた大腸がん予防の検証

候補化合物を 0 ppm、20 ppm、40 ppm 混ぜた餌を Min マウスに 5 週齢より 10 週間摂餌させ、腸ポリープ数、腸管粘膜上皮中の総グルタチオン量、酸化型グルタチオン量を測定した。

4. 研究成果

(1) 大腸がん予防の候補植物および含有物質の選定

長野県野菜花き試験場野菜部よりアブラナ科植物 10 種の抽出液を提供していただき、レポーター遺伝子アッセイにより、2 種のアブラナ科植物が大腸がん予防の候補植物として見出された。その 2 種の主要成分を再度レポーター遺伝子アッセイにより効果判定をしたところ、スルフォラフェンが候補化合物として見出された。HCT116 を用いた細胞生存率の解析においても、スルフォラフェンのみ細胞障害性を有しており、候補として最も適しているものであると判断した。

(2) 大腸がん予防の検証 (*in vitro*)

大腸がん細胞株である HCT116 で効果があることはわかったが、正常細胞における解析が必要であると考え、大腸上皮正常細胞である PriA/MUT02 と大腸がん細胞株である RCN-9 を用いて比較実験を行った。

PriA/MUT02 は RCN-9 に比べ細胞生存率が良く、よう化プロピジウム染色による細胞死の確認においても、スルフォラフェン 5 μ M までは PriA/MUT02 には細胞死無しに RCN-9 のみ細胞死を誘導した。すなわち、スルフォラフェンは正常細胞に対しては障害性が低く、がん細胞に対して障害性が高いことが示された。

(3) 酸化ストレスの測定 (*in vitro*)

PriA/MUT02 と RCN-9 を用いて酸化ストレスの測定を行なった。そうしたところ、PriA/MUT02 では活性酸素種量が減少したが、RCN-9 では減少しなかった。また、総グルタチオン量に関しては、PriA/MUT02 では増加したが、RCN-9 では増加しなかった。しかし、酸化型グルタチオン量は PriA/MUT02 と RCN-9 は同様に増加したが、増加率は PriA/MUT02 の方が高かった。

これらの原因が酸化ストレスの減少であると考え、N-アセチルシステインを共処理したところ、PriA/MUT02 と RCN-9 いずれも高濃度のスルフォラフェンにおいても細胞生存率が改善した。一方で、抗酸化剤と知られているリコピンについても共処理を行ったが、細胞生存率は改善しなかった。この結果より、グルタチオン量が重要であると考え、グルタチオンの原料であるシステインの二量体であるシスチンを共投与したところ、PriA/MUT02 では細胞生存率が改善したが、RCN-9 では改善しなかった。すなわち、スルフォラフェンの効果にはグルタチオンの *de novo* 合成が重要であることが示唆された。

(4) 家族性大腸腺腫症モデルマウス (Min マウス) を用いた大腸がん予防の検証

最後に Min マウスを用いて、大腸がん予防効果の検証として腸ポリープ数を計測した。その結果、スルフォラフェンの投与によって腸ポリープ数が減少した。さらに腸管粘膜上皮における総グルタチオン量を測定したところ、スルフォラフェン投与によって増加した。

個体レベルにおいても、スルフォラフェンは大腸がんの予防に効果があることが示唆された。

まとめると、本研究ではスルフォラフェンはグルタチオン合成・代謝を介して大腸がん予防効果を示すことを見出した。現在、論文投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Takumi NARITA, Takahiro HAMOYA, Gen FUJII, Michihiro MUTOH
2. 発表標題 Prevention of geriatric diseases using Brassicaceae
3. 学会等名 第44回日本基礎老化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田匠、樋上賀一、武藤倫弘
2. 発表標題 抗酸化制御能を有する食品成分による老化制御（がん予防や脂質代謝異常改善）
3. 学会等名 第21回日本抗加齢医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田匠、曾和義広、渡邊元樹、飯泉陽介、増田光治、武藤倫弘
2. 発表標題 Sulforapheneによる抗酸化を介した大腸がん予防
3. 学会等名 第40回Cytoprotection研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成田匠、鱧屋隆博、藤井元、小宮雅美、武藤倫弘
2. 発表標題 Sulforapheneによる大腸がん予防効果の解析
3. 学会等名 がん予防学術大会2020米子
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takumi Narita, Takahiro Hamoya, Gen Fujii, Masami Komiya, Yoshihiro Sowa, Motoki Watanabe, Yosuke Iizumi, Mitsuharu Masuda, Michihiro Mutoh
2. 発表標題 Analysis of chemopreventive effects of Sulforaphene on colon carcinogenesis
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 成田匠、藤井元、小宮雅美、鱧屋隆博、松澤優衣、三木洸平、照屋貴宏、武藤倫弘
2. 発表標題 Sulforapheneによる大腸がん予防効果の検討およびメカニズム解析
3. 学会等名 第26回日本がん予防学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 成田匠、藤井元、小宮雅美、鱧屋隆博、松澤優衣、三木洸平、照屋貴宏、武藤倫弘
2. 発表標題 大腸正常上皮様細胞と大腸がん細胞におけるSulforaphene処理による異なる応答
3. 学会等名 令和元年度先端モデル動物支援 若手支援技術講習会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takumi Narita, Gen Fujii, Masami Komiya, Takahiro Hamoya, Yui Matsuzawa, Kouhei Miki, Takahiro Teruya, Michihiro Mutoh
2. 発表標題 Response difference between normal colon epithelium-like cells and colon cancer cells under sulforaphene treatment
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 NARITA Takumi, FUJII Gen, MASUDA Mitsuharu, SOWA Yoshihiro, MIYAMOTO Shingo, WATANABE Motoki, IIZUMI Yosuke, MUTOH Michihiro
2. 発表標題 Prevention of intestinal polyps by Brassicaceae plants
3. 学会等名 第45回日本基礎老化学会大会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------