

令和 3 年 5 月 14 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22757

研究課題名(和文)食餌性因子タウリンはがんを抑制できるか

研究課題名(英文)Can a dietary factor taurine suppress carcinogenesis?

研究代表者

村田 真理子(MURATA, Mariko)

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10171141

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：食餌性因子タウリン(2-アミノエタンスルホン酸)はヒトの生体内に最も豊富にある遊離アミノ酸様物質であり、種々の細胞保護作用がある。我々はタウリンの抗がん作用を潰瘍性大腸炎・大腸がんマウスモデルを作成し、タウリンを経口投与した。タウリン投与群で大腸癌の数は有意に低く、タウリンの炎症関連発がんの抑制作用をin vivoで明らかにした。

さらに、ヒト上咽頭癌細胞株を用いてin vitroでのタウリンの細胞増殖抑制およびアポトーシス誘導効果を確認し、同細胞株をヌードマウス皮下に移植した。タウリン摂取群において腫瘍重量が有意に低下した。上咽頭がんにおいてもタウリンはin vivoで抗がん作用を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タウリンは食餌性因子として、日常の食事からも摂取でき、また、栄養ドリンクにも配合され、細胞保護作用があり、昔から利用される安全な物質である。我々は、タウリンががん細胞にアポトーシスのみならず、オートファジーを誘導して、抗がん作用をもたらすことを明らかにした。これまでタウリンは種々の生体保護作用が知られ利用されているが、がん予防への応用の報告はほとんどなかった。我々が、タウリンが生体(動物実験)での抗がん作用があることとその機構を明らかにしたこと、また、経口投与での効果を示したことは、今後の化学予防への応用の可能性を示した研究成果であり、社会的意義は高い。

研究成果の概要(英文)：A dietary factor, taurine (2-aminoethanesulfonic acid) is the most abundant free amino acid-like substance in the human body and it has various cytoprotective effects. To examine an anticancer effect of taurine, we performed a mouse model of ulcerative colitis/colorectal cancer, with oral administration of taurine. The number of colorectal cancers was significantly lower in the taurine-treated group, showing the inhibitory effect of taurine on inflammation-related carcinogenesis, in vivo.

Furthermore, effects of taurine on cell growth-inhibition and apoptosis were confirmed using a human nasopharyngeal carcinoma (NPC) cell lines. Additionally, the NPC cells were transplanted subcutaneously into nude mice, and the tumor growth was significantly reduced in the taurine-drinking group. Taurine also exhibits anticancer activity in vivo in NPC progression.

研究分野：環境分子医学

キーワード：タウリン アポトーシス がん抑制遺伝子 オートファジー

1. 研究開始当初の背景

炎症関連発がんは、がんの約 25% を占めると推定されている。抗炎症性物質による化学予防として、アスピリンなどの非ステロイド性抗炎症薬や、緑茶やその成分であるカテキン類のがん抑制への有効性が期待されるが、効果は限定的であった。そのため、COX-2 抑制作用や抗酸化作用以外の抗がん機能物質の検討が必須である。タウリンは多くの生体調整機能を有し、正常細胞を守る作用は多数報告されている。また、我々はタウリンはがん細胞に細胞死を誘導するが、正常細胞には影響しないことを細胞レベル(*in vitro*)で見出している。タウリンのがん抑制作用が *in vivo* (動物実験) でも確認できるのか、その分子機構は何かを明らかにすることを旨として、本研究を開始した。

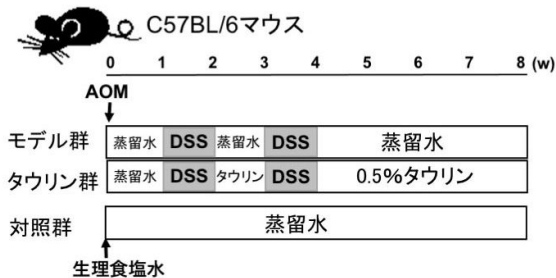
2. 研究の目的

タウリンによる抗酸化・抗炎症作用と細胞保護作用は炎症関連発がんのイニシエーションに抑制的に働くと期待される。がん細胞は「死を忘れた細胞」といわれるが、最近、我々はがん抑制遺伝子 p53 と PTEN を活性化し、タウリンががん細胞に細胞死(アポトーシス)を誘導することを見出した。さらに興味深いことに、このアポトーシス誘導作用は正常細胞には生じない(Amino Acids, 2018, doi: 10.1007/s00726-018-2651-2)。すなわち、がん細胞に細胞死を誘導して、がんの進展(プログレッション)を阻止する作用がタウリンにある可能性が示唆された。

以上より、本研究は、「食餌性因子タウリンはがん抑制できるか」を明らかにすることを目的とし、また、タウリンの作用機序を検討することで、がん予防における新しい可能性を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 潰瘍性大腸炎-大腸がんモデル(AOM-DSS) 実験



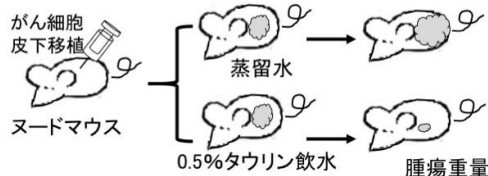
(1) 潰瘍性大腸炎-大腸がんマウスモデル実験

a) C57BL/6 マウスを用い、アゾキシメタン(AOM)を腹腔内1回投与後、7日目から1週間のデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)を飲水投与し、その後、1週間の休止期を挟んで再度1週間のDSS投与し、その後、4週間の観察期間中に腺腫および大腸がんが発生するAOM-DSSマウスモデルを作成した。対照群、モデル群と、0.5%タウリン飲水群(タウリン群)を比較し、発がんの抑制作用があるか、否かを検討した。

b) 体重測定および糞便性状(下痢、肉眼的出血、潜血など)を検討した。

c) 摘出した腫瘍について免疫組織化学法を用いて細胞増殖マーカーKi-67とがん抑制遺伝子(PTEN)、また、腫瘍よりタンパク質を抽出して、ウェスタンブロット法を用いて、アポトーシスマーカー(cleaved caspase-3)を調べた。

(2) 上咽頭癌細胞を用いたヌードマウス皮下移植実験



(2) ヒト上咽頭癌培養細胞を用いたヌードマウス皮下移植実験

a) ヌードマウス(免疫不全マウス)の皮下に、一定数の上咽頭癌細胞を移植、一定期間観察して、腫瘍の形成を確認した。2~3mmに腫瘍形成したところで2群に分け、タウリン0.5%水溶液と蒸留水の2群に分けた(day 1)。自由飲水にて観察し、腫瘍径を3日毎に計測して腫瘍容積を算出した。一定期間後(day 13)、屠殺し、腫瘍を摘出して重量を計測した。

b) 摘出した腫瘍について、がん抑制遺伝子(p53, PTEN)、アポトーシスマーカー(cleaved caspase-3)および関連分子(Bcl-xL)、オートファジーマーカー(LC3B)および関連分子(Beclin 1, TFEB)等について免疫染色法を用いて比較解析した。また、組織中のタウリン濃度およびタウリントランスポーター(TAUT)の発現量について検討した。

4. 研究成果

(1) 潰瘍性大腸炎-大腸がんマウスモデル実験

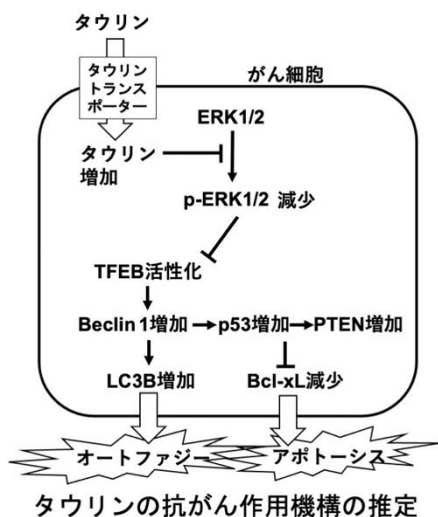
発がん物質AOMと炎症起因性物質DSSによる潰瘍性大腸炎-大腸がんマウスモデルにおいて、潰瘍性大腸炎様の症状を呈するモデル群では初回DSS投与後に体重減少が著しく対照群との間で有意差が認められたが、タウリン群では体重の減少はあるものの、有意差はなかった。また、糞便の血液反応もモデル群ではDSS投与終了後も潜血が有意に認められたが、タウリン群では潜血の程度が改善し、対照群との有意差がなくなった。すなわち、タウリンは大腸炎を抑制する可能性が示された。さらに、タウリン群では、肉眼的に観察した腫瘍数および病理組織的な検討による大腸癌数が有意に少なかった。免疫組織染色法にて細胞の増殖指標であるKi-67を、がん

部および腺腫(良性)部で検討したところ、いずれもモデル群に比べタウリン群で有意に低かった。がん抑制遺伝子 PTEN の発現は、がんおよび腺腫で、いずれもモデル群に比べ、タウリン群で有意に高かった。ウェスタンブロット法にて cleaved caspase-3 を定量化し、モデル群に比べ、タウリン群で有意に高く、タウリンによりアポトーシスが誘導されることが示された。すなわち、タウリンはがん抑制遺伝子を高発現させて、がん細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導して抗がん作用を示すことが示唆された(Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020)。

(2) ヒト上咽頭癌培養細胞を用いたヌードマウス皮下移植実験

ヌードマウス(5週齢)12匹に上咽頭癌細胞 HK1-EBV を $1 \times 10^6/100 \mu\text{L}$ を皮下注射し、5日後に腫瘍径が 2-3 mm となった。各 6 匹を対照群(水)と 0.5% タウリン飲水群に分け(day1)、その後、12 日間経過を観察した。腫瘍容積は、day 10 および day 13 においてタウリン群で有意に小さく、摘出した腫瘍重量(day 13)は有意に軽かった。また、Macrophage migration inhibitory factor (MIF) は、上咽頭癌のがん巣に一致して発現することが知られており、免疫組織化学法にて腫瘍部位を Image J を用いて定量化し、タウリン群で MIF の染色領域(がん細胞)が有意に減少していた。組織中のタウリンとそのトランスポーター (TAUT) はタウリン投与群で有意に高く、タウリンの腫瘍への取込みが確認できた。すなわち、タウリンは経口投与でがん細胞に取り込まれ、上咽頭癌の腫瘍増大を阻害し、がんを抑制する作用があることが *in vivo* で明らかになった。

タウリンの抗がん作用の機序として、オートファジーとアポトーシスについて検討した。オートファジーマーカーである LC3B および Beclin 1 がタウリン投与群で有意に高く、また、オートファジーの調節因子である Transcription factor EB (TFEB) が有意に上昇した。TFEB を活性化する機構として、ERK1/2 あるいは mTORC1 基質のリン酸化レベルの低下が想定されるが、リン酸化 ERK1/2 はタウリン投与群で有意に低下したが、リン酸化 4E-BP1 は両群間に差はなかった。すなわち、タウリンは MAPK/ERK 経路を抑制することで、オートファジーを誘導する可能性が示唆された。また、培養細胞レベルでの既報(Amino Acids, 2018; Adv Exp Med Biol. 2019)と同様に、タウリン投与群でアポトーシスマーカーである cleaved caspase-3 が有意に高く、Bcl-xL が有意に低い結果を得た。アポトーシスを誘導する機構として、がん抑制遺伝子 p53 および PTEN を検討し、タウリンによる有意な上昇が確認された。Liu ら(Cell 2011:147, 223-234)は、Beclin 1 が p53 のレベルを制御すると報告しており、タウリンがオートファジーとアポトーシスを誘導する機構を関連づける分子として Beclin 1 が機能している可能性が示唆された。タウリンの細胞死を誘導することによる抗がん作用機構は下図のように推定される。すなわち、タウリントランスポーターを発現するがん細胞がタウリンを細胞内に取込む。本来、リン酸化 ERK1/2 (p-ERK1/2) は TFEB をリン酸化して TFEB の核内移行(活性化)を阻害するが、タウリンの増加により、p-ERK が低下することで、TFEB の活性が高くなる。TFEB が Beclin 1 および LC3B を増加し、オートファジーが誘導される。一方、Beclin 1 は、p53 を安定化することが報告されており、p53 および PTEN の増加により、抗アポトーシスマーカーである Bcl-xL が減少し、アポトーシスに至ることが示唆された。以上より、タウリンがオートファジーとアポトーシスを誘導して抗がん作用を発揮することを明らかにした(論文投稿中)。



本研究は、動物実験において、経口摂取したタウリンが大腸癌および上咽頭癌の発生や進展を抑制することを明らかにした。すなわち、「食餌性因子タウリンはがん抑制できるか」という学術的問いに対しタウリンの抗がん作用・がん予防作用を見出した。タウリンは Beclin 1、p53 および PTEN 等のがん抑制遺伝子を高発現させることで、オートファジーやアポトーシスを誘導することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 He F, Ma N, Midorikawa K, Hiraku Y, Oikawa S, Mo Y, Zhang Z, Takeuchi K, Murata M.	4. 巻 1155
2. 論文標題 Anti-Cancer Mechanisms of Taurine in Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol.	6. 最初と最後の頁 533 ~ 541.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-13-8023-5_49	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 村田真理子	4. 巻 46
2. 論文標題 上咽頭癌発癌機構研究の進歩	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 癌と化学療法	6. 最初と最後の頁 1120 ~ 1123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Guifeng, Ma Ning, He Feng, Kawanishi Shosuke, Kobayashi Hatasu, Oikawa Shinji, Murata Mariko	4. 巻 2020
2. 論文標題 Taurine Attenuates Carcinogenicity in Ulcerative Colitis-Colorectal Cancer Mouse Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oxidative Medicine and Cellular Longevity	6. 最初と最後の頁 1 ~ 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/7935917	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 該当する

1. 著者名 Wang G, Hiramoto K, Ma N, Yoshikawa N, Ohnishi S, Murata M, Kawanishi S.	4. 巻 22
2. 論文標題 Glycyrrhizin Attenuates Carcinogenesis by Inhibiting the Inflammatory Response in a Murine Model of Colorectal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Science	6. 最初と最後の頁 2609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22052609	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 -

1. 著者名 Armartmuntree N, Jusakul A, Sakonsinsiri C, Loilome W, Pinlaor S, Ungarreevittaya P, Yong CH, Techasen A, Imtawil K, Kraiklang R, Suwannakul N, Kaewlert W, Chaiprasert T, Thanan R, Murata M.	4. 巻 12
2. 論文標題 Promoter hypermethylation of early B cell factor 1 (EBF1) is associated with cholangiocarcinoma progression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2673-2686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.52378	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 該当する

〔学会発表〕 計34件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 王 桂鳳、有馬 寧、何 峰、川西 正祐、小林果、及川伸二、村田 真理子
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎-大腸がんモデルマウスに対するタウリンの抗がん作用
3. 学会等名 第90回日本衛生学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村田真理子
2. 発表標題 炎症関連発がんにおけるエピゲノム異常
3. 学会等名 日本酸化ストレス学会東海支部第9回学術集会 (招待講演)
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	翠川 薫 (Midorikawa Kaoru) (20393366)	鈴鹿大学・こども教育学部・教授 (34105)	

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	有馬 寧 (Arima Yasushi) (30263015)	鈴鹿医療科学大学・医療科学研究科・教授 (34104)	

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			
中国	広西医科大学			